



## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2018.01.31(22) Дата подачи заявки  
2016.03.10(51) Int. Cl. *A61K 38/16* (2006.01)  
*A61K 48/00* (2006.01)  
*A61P 25/00* (2006.01)  
*A61P 25/28* (2006.01)

## (54) РЕКОМБИНАНТНЫЕ КОНСТРУКЦИИ GLUT1 АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА И СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ GLUT1 НА ИХ ОСНОВЕ

(31) 62/130,899

(32) 2015.03.10

(33) US

(86) PCT/US2016/021810

(87) WO 2016/145217 2016.09.15

(71) Заявитель:

ЗЕ ТРАСТИС ОФ КОЛАМБИЯ  
ЮНИВЕРСИТИ ИН ЗЕ СИТИ ОФ  
НЬЮ-ЙОРК; ЮНИВЕРСИТИ ОФ  
МАССАЧУСЕТС МЕДИКАЛ СЕНТР  
(US)

(72) Изобретатель:

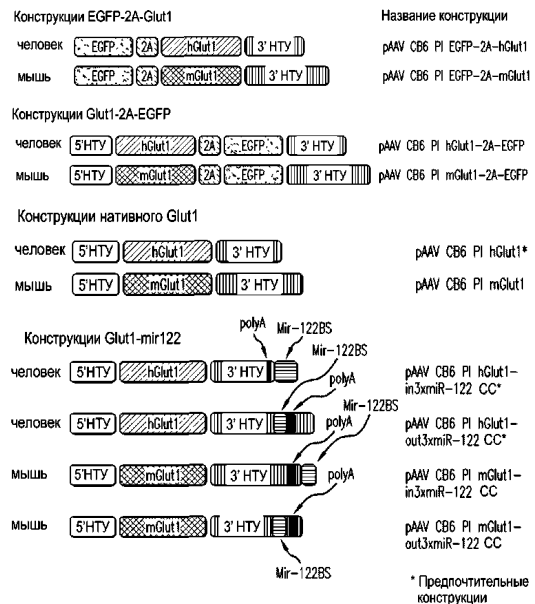
Де Виво Дэррил, Монани Умрао, Гао  
Гуанпин, Энгельстад Кристин (US)

(74) Представитель:

Харин А.В., Котов И.О., Буре Н.Н.,  
Стойко Г.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к рекомбинантным конструкциям Glut1 аденоассоциированного вирусного вектора (AAV) и способам восстановления экспрессии Glut1 на их основе у млекопитающих с дефицитом Glut1. В некоторых вариантах реализации изобретения rAAV дополнительно содержит  $\beta$ -актиновый промотор курицы, причем rAAV способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к композиции, содержащий любой из рекомбинантных AAV, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах реализации настоящее изобрете-

ние относится к набору, содержащему емкость, которая содержит композицию, описанную в настоящем описании. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способам восстановления транспорта Glut1 в ГЭБ субъекта, включающим введение субъекту эффективно-го количества любого из рекомбинантных векторов AAV, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения синдрома дефицита Glut1 у субъекта, нуждающегося в этом.



**РЕКОМБИНАНТНЫЕ КОНСТРУКЦИИ GLUT1  
АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА И СПОСОБЫ  
ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ GLUT1 НА ИХ ОСНОВЕ**

**ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

Настоящая заявка испрашивает приоритет Предварительной заявки на выдачу патента США серийный номер 62/130899, поданной 10 марта 2015 года, которая включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

**ЗАЯВЛЕНИЕ О ПРАВИТЕЛЬСТВЕННОЙ ПОДДЕРЖКЕ**

Настоящее изобретение было сделано при государственной поддержке в соответствии с грантом номер R01NS057482 Национальных Институтов Здоровья. Правительство может обладать определенными правами на это изобретение.

**ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

Настоящая заявка содержит список последовательностей, который был подан электронным способом в формате ASCII и включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Указанная копия ASCII, созданная 4 марта 2016 года, носит название 01001-003887-WO0\_SL.txt, и ее размер составляет 189953 байта.

**ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

Настоящее изобретение относится к рекомбинантному Glut1 аденоассоциированному вирусному вектору (AAV) и связанным с ними способам восстановления экспрессии Glut1 у млекопитающих с дефицитом Glut1.

**УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Глюкоза является основным источником энергии для мозга млекопитающих. Переносчик глюкозы 1 (Glut1), также известный как семейство растворимых носителей 2, является доминирующим переносчиком глюкозы, экспрессирующимся в гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ), который ответствен за проникновение глюкозы в мозг и является первым идентифицированным членом семейства облегченного переносчика глюкозы (SLC2A). Ген человека *SLC2A1*,

кодирующий белок Glut1, локализуется в коротком плече хромосомы 1 (1p34.2), имеет размер 35 тыс. пар оснований и содержит 10 экзонов, кодирующих белок размером 492 аминокислоты (SEQ ID NO 79). Белок в высокой степени консервативен у разных видов, включая человека, крысу, мышь и свинью. Ген *Slc2a1* мыши, кодирующий белок mGlut1, локализуется в хромосоме 4 и имеет сходную структуру гена со структурой *SLC2A1* человека (Mouse Genome Informatics) (последовательность mGlut1 размером 492 аминокислот представлена в SEQ ID NO 78). кДНК *Slc2a1* мыши (NM 011400) на > 97 % идентична кДНК *SLC2A1* человека. (См.: Mueckler M et al, 1985; Veggiotti, P et al, 2013; Seidner et al, 1998).

Синдром дефицита Glut1 (Glut1 DS, OMIM 606777) — редкое, но инвалидизирующее детское неврологическое расстройство, вызванное гаплонедостаточностью гена *SLC2A1*. Синдром дефицита Glut1 является аутосомно-доминантным расстройством. Наиболее известный фенотип пациента включает инфантильные судороги, приобретенную микроцефалию, задержку развития и гипогликорахию (De Vivo D.C. et al. 1991).

Современные методы лечения заболевания включают применение кетогенных диет, поскольку кетоновые тела образуют альтернативный источник энергии для нейронов головного мозга. Однако диета включает в себя потребление большого количества масел и, как сообщается, оказывает лишь незначительное влияние на нейроповеденческие симптомы. Существует постоянная потребность в улучшенных методах лечения, особенно в генной терапии для восстановления экспрессии Glut1 у пациентов.

## КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к рекомбинантному аденоассоциированному вектору (rAAV), содержащему последовательность нуклеиновой кислоты, которая содержит трансген, кодирующий Glut1. В некоторых вариантах реализации изобретения Glut1 содержит SEQ ID NO 78 или 79. В некоторых вариантах реализации изобретения rAAV дополнительно содержит бета-актиновый промотор курицы, причем rAAV способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). В некоторых

вариантах реализации изобретения трансген способен экспрессироваться в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга. В некоторых вариантах реализации изобретения бета-актиновый промотор курицы выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO 31, 38, 45, 54, 62 и 70. В некоторых вариантах реализации изобретения гAAV представляет собой AAV8 или AAV9. В некоторых вариантах реализации изобретения гAAV дополнительно содержит элементы микроРНК, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO 48, 56, 59, 64 и 73. В некоторых вариантах реализации изобретения гAAV дополнительно содержит инвертированные концевые повторы (ИКП), фланкирующие элементы микроРНК.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к композиции, содержащей любой из рекомбинантных AAV, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации изобретения композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к набору, включающему емкость, которая содержит композицию, описанную в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации изобретения емкость представляет собой шприц.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу восстановления транспорта Glut1 в гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ) субъекта, включающему введение субъекту эффективного количества любого из рекомбинантных векторов AAV, описанных в настоящем документе, который способен проникать сквозь ГЭБ, а также способен к экспрессии в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения синдрома дефицита Glut1 у субъекта, нуждающегося в этом, который включает введение субъекту эффективного количества любого из рекомбинантных векторов AAV, описанных в настоящем документе, который способен проникать сквозь ГЭБ, а также способен к экспрессии в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу облегчения у субъекта по меньшей мере одного из симптомов, связанных с синдромом дефицита Glut1, выбранного из группы, состоящей из гипогликокорхии,

приобретенной микроцефалии, атаксической и дистонической двигательной дисфункции, причем способ включает введение субъекту эффективного количества любого из рекомбинантных векторов AAV, описанных в настоящем документе, который способен пересекать ГЭБ, а также способен к экспрессии в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга.

В некоторых аспектах варианты реализации изобретения относятся к способу лечения у субъекта Glut1 DS, характеризующегося дефектом или гаплонедостаточностью гена *SLC2A1*. Способ может включать введение субъекту эффективного количества рекомбинантного аденоассоциированного вируса, несущего последовательность нуклеиновой кислоты (т.е., трансген), кодирующую белок Glut1 нормального/дикого типа, под контролем промоторной последовательности, которая экспрессирует продукт Glut1 в желаемых клетках. В некоторых вариантах реализации изобретения промоторная последовательность обеспечивает экспрессию продукта Glut1 в клетках ГЭБ. В некоторых вариантах реализации изобретения экспрессия осуществляется в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга. В некоторых вариантах реализации изобретения экспрессия трансгенного гена обеспечивает клетки продуктом, необходимым для восстановления или поддержания желаемых уровней Glut1 у субъекта. В еще одном варианте реализации изобретение относится к композиции для лечения Glut1 DS. Такие композиции могут быть составлены с носителем и дополнительными компонентами, подходящими для инъекций.

Другие аспекты и преимущества настоящего изобретения дополнительно описаны в следующем подробном описании предпочтительных вариантов его реализации.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **Фиг. 1A-D** представлены карты плазмид (десяти) конструкций, кодирующих Glut1. На Фиг. 1A проиллюстрированы две конструкции EGFP-2A-Glut1, несущие репортерные гены Glut1 и EGFP вместе с кодирующей последовательностью 2A. На Фиг. 1B проиллюстрированы две конструкции Glut1-2A-EGFP. На Фиг. 1C проиллюстрированы две нативные конструкции Glut1. На Фиг. 1D проиллюстрированы четыре конструкции, несущие сайт связывания с

микроРНК-122 (Mir-122CC), который служит для выборочного отключения экспрессии Glut1 в ткани печени.

На **Фиг. 2А-С** представлены блоты и графики, иллюстрирующие экспрессию конструкции AAV9-hGlut1-eGFP (SEQ ID NO 80) и функцию Glut1 в анализе на клетках CHO *in vitro*. На Фиг. 2А проиллюстрирован Вестерн-блоттинг, демонстрирующий экспрессию конструкции AAV9-hGlut1-eGFP. Фиг. 2В представляет собой график, демонстрирующий усиленное поглощение глюкозы клетками CHO, трансфицированными конструкцией AAV9-hGlut1-eGFP; что демонстрирует их способность функционировать в функциональном анализе. На Фиг. 2С проиллюстрирована флуоресценция конструкции зеленого флуоресцентного белка (GFP) после трансфекции в клетки CHO.

На **Фиг. 3А-В** представлены графики, демонстрирующие улучшение моторной функции после повторного введения гена *slc2a1* мышам с Glut1 DS. Фиг. 3А представляет собой график, иллюстрирующий улучшение показателей теста с вращающимся барабаном у леченных AAV9-mGlut1 (SEQ ID NO 35) мутантных мышей. Фиг. 3В представляет собой график, иллюстрирующий улучшение показателей лазания по вертикальному шесту после восстановления mGlut1 у леченных мутантных мышей.

На **Фиг. 4А-В** представлены графики, демонстрирующие усиленную тканеспецифичную экспрессию Glut1 у леченных AAV9-mGlut1 мышей (SEQ ID NO 35). Фиг. 4А представляет собой график, иллюстрирующий относительную экспрессию гена *slc2a1* у леченных мутантов и соответствующих контрольных животных. Фиг. 4В представляет собой график, иллюстрирующий экспрессию Glut1 в виде процента экспрессии у мышей Glut1<sup>+/+</sup> дикого типа.

На **Фиг. 5А-Д** представлены блоты и графики, демонстрирующие повышенный уровень Glut1 и уровень глюкозы в СМЖ леченных AAV9-mGlut1 мышей; продемонстрировано, что восстановление Glut1 смягчает гипогликорахию у мышей на модели Glut1 DS. Фиг. 5А представляет собой Вестерн-блот белка Glut1 в ткани мозга леченных мутантных мышей Glut1 DS и соответствующих контрольных животных. Фиг. 5В представляет собой график, иллюстрирующий количественное определение уровней белка у леченных мутантных мышей Glut1 DS и контрольных животных. Фиг. 5С представляет собой график,

иллюстрирующий концентрации глюкозы в крови и СМЖ леченных AAV9-mGlut1 (SEQ ID NO 35) мышей и контрольных животных. Фиг. 5D представляет собой диаграмму размаха, иллюстрирующую соотношение концентрации глюкозы в крови:СМЖ у разных мышей. Примечание: n/z — незначимый, \*,  $P < 0,05$ , \*\*,  $P < 0,01$ , \*\*\*,  $P < 0,001$ , односторонний дисперсионный анализ,  $N \geq 8$ .

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Мутации в гене *SLC2A1* (также носит название *Glut1*) приводят к синдрому дефицита Glut1 (Glut1 DS), редкому, но инвалидизирующему нарушению нервно-психического развития (De Vivo D.C. *et al.* 1991). Белок Glut1 дикого типа широко экспрессируется. Однако его основным местом действия в клетках, по-видимому, являются эндотелиальные клетки микрососудов головного мозга, где его функция состоит в содействии переносу глюкозы через гематоэнцефалический барьер. Снижение уровня или утрата белка приводит к сложному фенотипу, характерные признаки которого включают гипогликорахию, задержку развития и приобретенную микроцефалию. Пациенты также проявляют моторный фенотип, который является как атаксическим, так и дистоническим. Мыши с гаплонедостаточностью гена *slc2al* проявляют многие признаки заболевания человека. Гомозиготный нокаут мышинового гена *slc2al* является летальным для эмбриона. Модели животных с гаплонедостаточностью демонстрируют многие аспекты заболевания человека. Настоящее изобретение относится к применению конструкций AAV9-Glut1 для восстановления экспрессии белка Glut1 в головном мозге. Ожидается, что такие способы и конструкции AAV9-Glut1 могут быть эффективными средствами лечения заболеваний человека. Для удобства ссылок, описанные в настоящем документе векторные конструкции упоминаются как различные конструкции AAV9-Glut1, которые указывают на конструкции AAV9, содержащие последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют белок Glut1 мыши или человека, среди других элементов. В настоящем документе *SLC2A1* относится к гену человека, а *slc2al* относится к гену мыши, кодирующим соответствующий белок Glut1.

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Для лучшего понимания изобретения, некоторые технические и научные термины конкретно определены ниже. Если специально не определено в другом месте настоящего документа, все другие технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют значение, обычно придаваемое им специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

В настоящем документе, включая прилагаемую формулу изобретения, формы единственного числа слов включают их соответствующие формы множественного числа, если контекст явно не диктует иного.

«Активация», «стимуляция» и «лечение», применительно к клеткам или рецепторам, могут иметь одинаковое значение, например, активации, стимуляции или лечения клетки или рецептора лигандом, если иное не указано явно или не диктуется контекстом. «Лиганд» включает природные и синтетические лиганды, например цитокины, варианты цитокинов, аналоги, мутеины и связывающие соединения, полученные из антител. «Лиганд» дополнительно включает молекулы небольшого размера, например, пептидные миметики цитокинов и пептидные миметики антител. «Активация» может относиться к активации клеток, которая регулируется внутренними механизмами, а также внешними или экологическими факторами. «Реакция», например, клетки, ткани, органа или организма, включает изменение биохимического или физиологического поведения, например концентрации, плотности, адгезии или миграции в биологическом купе, скорость экспрессии генов или состояние дифференцировки, где изменение коррелирует с активацией, стимуляцией или лечением или с внутренними механизмами, такими как генетическое программирование.

«Активность» молекулы может описывать или ссылаться на связывание молекулы с лигандом или с рецептором, с каталитической активностью; на способность стимулировать экспрессию генов или клеточную сигнализацию, дифференцировку или созревание; на антигенную активность, на модуляцию активности других молекул и т.п. Кроме того, «активность» молекулы также может относиться к активности при модулировании или поддержании взаимодействия между клетками, например, адгезии или активности в поддержании структуры клетки, например клеточных мембран или цитоскелета. Дополнительно,



«активность» может означать специфическую активность, например [каталитическую активность] / [мг белка] или [иммунологическую активность] / [мг белка], концентрацию в биологическом купе и т.п. «Активность» может относиться к модуляции компонентов врожденной или адаптивной иммунной системы.

«Введение» и «лечение», применительно к животному, человеку, экспериментальному субъекту, клетке, ткани, органу или биологической жидкости, относится к приведению экзогенного фармацевтического, терапевтического, диагностического агента или композиции в контакт с организмом животного, человек, субъекта, клеткой, тканью, органом или биологической жидкостью. «Введение» и «лечение» могут относиться, например, к терапевтическим, фармакокинетическим, диагностическим, исследовательским и экспериментальным способам. Лечение клетки включает приведение реагента в контакт с клеткой, а также приведение реагента в контакт с жидкостью, когда жидкость находится в контакте с клеткой. Кроме того, «введение» и «лечение» означают обработку *in vitro* и *ex vivo*, например, клетки, реагентом, диагностическим, связывающим соединением или другой клеткой. Термин «субъект» включает любой организм, предпочтительно животное, более предпочтительно млекопитающее (например, крысу, мышь, собаку, кошку, кролика) и наиболее предпочтительно человека, включая пациента-человека.

«Лечить» или «обрабатывать» означает введение терапевтического агента, такого как композиция, содержащая любую из конструкций rAAV по настоящему изобретению, внутрь или наружное применение у субъекта или пациента с одним или более симптомами заболевания или подозреваемым заболеванием или подверженного повышенному риску развития заболевания, при котором агент проявляет терапевтическую активность. Как правило, агент вводят в количестве, эффективном для облегчения одного или более симптомов заболевания у подлежащего лечению субъекта или популяции, путем индукции регресса или подавления прогрессирования такого(их) симптома(ов) в любой клинически измеримой степени. Количество терапевтического агента, эффективного для облегчения какого-либо конкретного симптома заболевания (также называемое «терапевтически эффективным количеством»), может варьироваться в зависимости

от таких факторов, как патологическое состояние, возраст и масса тела пациента, а также способность лекарственного средства вызывать желаемый ответ у субъекта. Облегчение симптомов заболевания можно оценить с помощью любого клинического теста, обычно применяемого врачами или другими медицинскими работниками для оценки степени тяжести или прогрессирования указанного симптома. Хотя вариант реализации настоящего изобретения (например, способ лечения или продукт) может быть неэффективным для облегчения целевого(ых) симптома(ов) у каждого субъекта, он должен облегчать целевой(ые) симптом(ы) у статистически значимого количества субъектов по данным любого статистического теста, известного в данной области техники, такого как t-тест Стьюдента, тест хи квадрат, U-тест Манна-Уитни, тест Крускала-Уоллиса (H-тест), тест Джонкхиера-Трепстра и тест Уилкоксона.

«Лечение» со ссылкой на человека, ветеринарный или исследуемый субъект, относится к терапевтическому лечению, профилактическим или превентивным мерам, к исследованиям и диагностическому применению. «Лечение» со ссылкой на человека, ветеринарный или исследуемый субъект или клетку, ткань или орган, включает трансфекцию любой из конструкций гAAV или применением соответствующих способов по настоящему изобретению к организму человека или животного, клетке, ткани, физиологическому купе или физиологической жидкости.

«Выделенная молекула нуклеиновой кислоты» означает ДНК или РНК геномного, мРНК, кДНК или синтетического происхождения или их комбинацию, которые не связаны с полноразмерным или частью полинуклеотида, в котором выделенный полинуклеотид обнаружен в природе или связаны с полинуклеотидом, с которым они не связаны в природе. Для целей настоящего описания следует понимать, что «молекула нуклеиновой кислоты, содержащая» конкретную нуклеотидную последовательность, не включает интактные хромосомы. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, «содержащие» указанные последовательности нуклеиновых кислот, могут содержать, в дополнение к указанным последовательностям, кодирующие последовательности до десяти или даже до двадцати или более других белков или их частей или фрагментов или могут содержать функционально связанные регуляторные последовательности, которые контролируют экспрессию кодирующего участка повторяющихся

последовательностей нуклеиновой кислоты и/или могут содержать векторные последовательности.

Фраза «контрольные последовательности» относится к последовательностям ДНК, необходимым для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Контрольные последовательности, которые подходят для прокариот, например, включают промотор, необязательную операторную последовательность и сайт связывания рибосом. Известно, что эукариотические клетки используют промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры.

Нуклеиновая кислота является «функционально связанной», если она находится в функциональной связи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК предпоследовательности или секреторного лидера функционально связана с ДНК полипептида, если она экспрессируется как белок-прекурсор, который принимает участие в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или сайт связывания рибосом функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, чтобы облегчить трансляцию. Как правило, «функционально связанный» означает, что связанные с ним последовательности ДНК являются смежными, а в случае секреторного лидера — непрерывными и находятся в фазе считывания. Однако энхансеры не обязательно должны быть смежными. Образование связи осуществляют путем лигирования на подходящих рестрикционных сайтах. Если такие сайты отсутствуют, применяются синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры, в соответствии с обычной практикой.

В настоящем документе выражения «клетка», «клеточная линия» и «культура клеток» используются взаимозаменяемо, и все такие обозначения включают потомство. Таким образом, слова «трансформанты» и «трансформированные клетки» включают в себя первичную клетку-субъект и культуры, полученные из нее, без учета количества пассажей. Кроме того, необходимо понимать, что вследствие преднамеренных или непреднамеренных мутаций не все потомство будет нести в точности идентичную ДНК. В число

включенных потомков входят мутантные потомки, которые обладают той же функцией или биологической активностью, что и первоначально трансформированная клетка. Если предусмотрены разные обозначения, это будет ясно из контекста.

### **Рекомбинантные AAV**

В некоторых аспектах изобретения предлагаются изолированные AAV. В отношении AAV в настоящем документе термин «выделенный» относится к AAV, который был выделен из природной среды (например, из клетки-хозяина, ткани или субъекта) или получен искусственно. Выделенные AAV могут быть получены с применением рекомбинантных методов. Такие AAV в настоящем документе называются «рекомбинантными AAV». Рекомбинантные AAV (rAAV) предпочтительно обладают возможностями тканеспецифичного направленного действия, поэтому трансгенный rAAV будет направленно доставлен в одну или несколько предварительно определенных тканей. Капсид AAV является важным элементом в определении таких возможностей тканеспецифичного нацеливания. Таким образом, может быть выбран rAAV с капсидом, подходящим для целевой ткани. В некоторых вариантах реализации изобретения rAAV содержит последовательности (такие как SEQ ID NO 96), кодирующие капсид AAV9, аминокислотная последовательность которого представлена в SEQ ID NO 97, или белок, в значительной степени гомологичный ему.

Для направленного действия на желаемую ткань в контексте лечения Glut1 DS предпочтительный rAAV представляет собой комбинацию капсида AAV9 и скелета AAV2, дающую различные описанные в настоящем документе rAAV (см. Табл. 1 и список последовательностей).

Способы получения рекомбинантных AAV, содержащих желаемый капсидный белок, описаны (см., например, US 2003/0138772, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме). Описано несколько различных капсидных белков AAV, например, описанные в G. Gao, et al., J. Virol, 78(12):6381-6388 (June 2004); G. Gao, et al, Proc Natl Acad Sci USA, 100(10):6081-6086 (May 13, 2003); US 2003-0138772, US 2007/0036760, US 2009/0197338, содержание которых относится к капсидным белкам AAV и

связанным с ними нуклеотидным и аминокислотным последовательностям и которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Для желаемой упаковки описанных в настоящем документе конструкций и способов предпочтительным является вектор AAV9 и капсид. Однако следует отметить, что другие подходящие AAV, такие как rAAVrh.8 и rAAVrh.10, или другие аналогичные векторы могут быть адаптированы для применения в настоящем изобретении. Обычно способы включают культивирование клетки-хозяина, которая содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую капсидный белок AAV или его фрагмент; функциональный ген гер; рекомбинантный вектор AAV, состоящий из инвертированных концевых повторов AAV (ИКП) и трансгена; и достаточные вспомогательные функции, позволяющие упаковывать рекомбинантный вектор AAV в капсидные белки AAV.

Компоненты для культивирования в клетке-хозяине для упаковки вектора rAAV в капсид AAV, могут быть предоставлены клетке-хозяину в транс форме. В качестве альтернативы, стабильная клетка-хозяин может быть снабжена любым одним или более требуемыми компонентами (например, рекомбинантный вектор AAV, повторяющиеся внегенные палиндромные последовательности (гер), последовательности кэпа и/или вспомогательные функции), причем клетка модифицирована таким образом, чтобы содержать один или несколько требуемых компонентов, с применением способом, известные специалистам из уровня техники. В большинстве случаев такая стабильная клетка-хозяин будет содержать требуемый(е) компонент(ы) под контролем индуцибельного промотора. Однако требуемый(е) компонент(ы) может находиться и под контролем конститутивного промотора. В еще одном альтернативном варианте реализации изобретения выбранная стабильная клетка-хозяин может содержать выбранный(е) компонент(ы) под контролем конститутивного промотора и другого(их) выбранного(ых) компонента(ов) под контролем одного или более индуцибельных промоторов. Например, может быть создана стабильная клетка-хозяин, которая получена из клеток 293 (в которых присутствуют функции E1 хелпера под контролем конститутивного промотора), но которые содержат белки гер и/или кэпа под контролем индуцибельных промоторов.

Рекомбинантный вектор AAV, последовательности гер, последовательности кэпа и вспомогательные функции для получения rAAV могут быть введены в клетку-хозяина, которая осуществляет упаковку, с применением любого подходящего генетического элемента (вектора). Выбранный генетический элемент может быть доставлен любым подходящим способом, в том числе описанным в настоящем документе. См., например, K. Fisher et al, J. Virol., 70:520-532 (1993) и патент США № 5478745.

В некоторых вариантах реализации изобретения рекомбинантные AAV могут быть получены с применением метода тройной трансфекции (например, как подробно описано в патенте США № 6001650, содержание которого относящееся к способу тройной трансфекции, включено в настоящий документ посредством ссылки). Как правило, рекомбинантные AAV получают путем трансфекции клетки-хозяина рекомбинантным вектором AAV (содержащим трансген), который должен быть упакован в частицы AAV, вектором вспомогательной функции AAV и вектором добавочной функции. Вектор вспомогательной функции AAV кодирует последовательности «вспомогательной функции AAV» (т.е., гер и кэп), которые функционируют в режиме транс для продуктивной репликации и капсидирования AAV. Предпочтительно, вектор вспомогательной функции AAV поддерживает эффективную выработку AAV-вектора без генерирования каких-либо обнаружимых вирионов AAV дикого типа (т.е., вирионов AAV, содержащих функциональные гены гер и кэпа). Неограничивающие примеры векторов, подходящих для применения в настоящем изобретении, включают pHLP19, описанный в патенте США № 6001650, и вектор pRepбсар6, описанный в патенте США № 6156303, причем все они включены в настоящее описание посредством ссылки. Вектор вспомогательной функции кодирует нуклеотидные последовательности для не связанных с AAV вирусных и/или клеточных функций, от которых зависит репликация AAV (т.е., «вспомогательные функции»). Вспомогательные функции включают те функции, которые необходимы для репликации AAV, включая, но не ограничиваясь этим, те фрагменты, которые участвуют в активации гена транскрипции AAV, стадийспецифического сплайсинга AAV мРНК, репликации ДНК AAV, синтеза продуктов экспрессии кэпа и сборки капсида AAV. Вспомогательные функции вирусного происхождения

могут быть получены из любого из известных вспомогательных вирусов, таких как аденовирус, герпесвирус (кроме вируса простого герпеса типа 1) и вирус осповакцины.

Что касается трансфицированных клеток-хозяев, термин «трансфекция» используется для обозначения поглощения клеткой чужеродной ДНК, причем клетка была «трансфицирована», если экзогенная ДНК была введена внутрь клеточной мембраны. Ряд способов трансфекции широко известен из уровня техники. См., например, Graham et al. (1973) *Virology*, 52:456, Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning, a laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Davis et al. (1986) *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier, and Chu et al. (1981) *Gene* 13: 197. Такие методы могут быть применены для введения одной или более экзогенных нуклеиновых кислот, таких как вектор интеграции нуклеотидов и другие молекулы нуклеиновой кислоты, в подходящие клетки-хозяева.

«Клетка-хозяин» относится к любой клетке, которая несет или может нести целевое вещество. Часто клетка-хозяин является клеткой млекопитающего. Клетку-хозяина можно использовать в качестве реципиента вспомогательной конструкции AAV, минигенной плазмиды AAV, вектора добавочной функции или другой передающей ДНК, связанной с образованием рекомбинантных AAV. Термин включает потомство исходной клетки, которая была трансфицирована. Таким образом, «клетка-хозяин» в настоящем документе может относиться к клетке, которая была трансфицирована экзогенной последовательностью ДНК. Понятно, что потомство одной родительской клетки не обязательно должно быть полностью идентичным по морфологии или геномному или полному комплексу ДНК в качестве исходного родителя из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации.

Что касается клеток, термин «выделенная» относится к клетке, которая была выделена из ее естественной среды (например, из ткани или организма субъекта). Термин «клеточная линия» относится к популяции клеток, способных к непрерывному или продолжительному росту и делению *in vitro*. Часто клеточные линии представляют собой клональные популяции, полученные из одной клетки-предшественника. Кроме того, известно, что спонтанные или индуцированные изменения могут возникать в кариотипе при хранении или переносе таких

клональных популяций. Следовательно, клетки, полученные из указанной клеточной линии, могут быть не точно идентичны клеткам или культурам предков, и упомянутая клеточная линия включает такие варианты. В настоящем документе термин «рекомбинантная клетка» относится к клетке, в которую был введен сегмент экзогенной ДНК, такой как сегмент ДНК, который приводит к транскрипции биологически активного полипептида или выработке биологически активной нуклеиновой кислоты, такой как РНК.

Термин «вектор» включает в себя любой генетический элемент, такой как плазида, фаг, транспозон, космида, хромосома, искусственная хромосома, вирус, вирион и т.д., который способен к репликации, если он связан с надлежащими элементами управления, и который может переносить генные последовательности между клетками. Таким образом, этот термин включает в себя основы для клонирования и экспрессии, а также вирусные векторы. В некоторых вариантах реализации изобретения подходящими векторами считаются те векторы, в которых сегмент нуклеиновой кислоты, подлежащий транскрибированию, размещен под транскрипционным контролем промотора. «Промотор» относится к последовательности ДНК, распознаваемой синтетическим аппаратом клетки, или вводит синтетический аппарат, необходимый для инициирования специфической транскрипции гена. Фразы «функционально размещенный», «функционально связанный», «под контролем» или «под транскрипционным контролем» означают, что промотор находится в надлежащем месте и ориентации по отношению к нуклеиновой кислоте для контроля инициации РНК-полимеразы и экспрессии гена. Термин «экспрессионный вектор или конструкция» означает любой тип генетической конструкции, содержащей нуклеиновую кислоту, в которой часть или вся кодирующая последовательность нуклеиновой кислоты способна транскрибироваться. В некоторых вариантах реализации изобретения экспрессия включает транскрипцию нуклеиновой кислоты, например, для получения биологически активного полипептидного продукта или ингибиторной РНК (например, кшРНК, микроРНК) из транскрибируемого гена.



## Рекомбинантные векторы AAV

«Рекомбинантные векторы AAV (rAAV)», описанные в настоящем документе, обычно состоят по меньшей мере из трансгена (например, кодирующего *Glut1*) и его регуляторных последовательностей, а также 5' и 3' инвертированных концевых повторов (ИКП) AAV. Именно этот рекомбинантный вектор AAV упаковывается в капсидный белок и доставляется в выбранную клетку-мишень. В некоторых вариантах реализации изобретения трансген представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, гетерологичную к векторным последовательностям, которые кодируют полипептид, белок, молекулу функциональной РНК (например, микроРНК, ингибитор микроРНК) или другой целевой генный продукт (например, *Glut1*). Кодирующая последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана с регуляторными компонентами таким способом, который позволяет транскрипцию, трансляцию и/или экспрессию трансгена в клетке ткани-мишени.

Последовательности вектора AAV могут содержать *цис-действующие* последовательности 5' и 3' инвертированных концевых повторов (см., например, В. J. Carter в "Handbook of Parvoviruses", ed., P. Tijsser, CRC Press, pp. 155 168 (1990)). Длина последовательностей ИКП обычно составляет 145 п.о. Предпочтительно, по существу все последовательности, кодирующие ИКП, применяются в молекуле, хотя допустима некоторая степень незначительной модификации этих последовательностей. (См., например, такие тексты, как Sambrook et al, "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 2d ed., Cold Spring harbor Laboratory, New York (1989); и K. Fisher et al., J. Virol., 70:520 532 (1996)). Примером такой молекулы является «*цис-действующая*» плазида, содержащая трансген, в которой выбранная трансгенная последовательность и связанные с ней регуляторные элементы фланкированы последовательностями 5' и 3' ИКП AAV. Последовательности ИКП AAV могут быть получены из любого известного AAV, включая известные в настоящее время типы AAV млекопитающих.

В дополнение к элементам, указанным выше для рекомбинантных векторов AAV, вектор может дополнительно содержать обычные контрольные элементы, функционально связанные с трансгеном таким способом, который позволяет транскрибировать, трансформировать и/или экспрессировать в клетке,

трансфицированной вектором плазмиды или инфицированной вирусом, полученной согласно изобретению. В настоящем документе «функционально связанные» последовательности включают в себя последовательности для контроля экспрессии, смежные с целевым геном, и последовательности для контроля экспрессии, которые действуют в режиме транс или на расстоянии, контролируя целевой ген. Последовательности для контроля экспрессии включают соответствующие последовательности инициации транскрипции, терминации, промоторные и энхансерные последовательности; эффективные сигналы процессинга РНК, такие как сигналы сплайсинга и полиаденилирования (polyA); последовательности, которые стабилизируют цитоплазматическую мРНК; последовательности, которые повышают эффективность трансляции (т.е., консенсусная последовательность Козака); последовательности, которые повышают стабильность белка; и, при желании, последовательности, которые увеличивают секрецию кодируемого продукта. Из уровня техники известно большое количество последовательностей для контроля экспрессии, включая промоторы, которые являются нативными, конститутивными, индуцибельными и/или тканеспецифичными и могут применяться.

В настоящем документе последовательность нуклеиновой кислоты (например, кодирующая последовательность) и регуляторные последовательности называются функционально связанными, если они ковалентно связаны таким образом, что экспрессия или транскрипция последовательности нуклеиновой кислоты находится под влиянием или контролем регуляторных последовательностей. Если желательно, чтобы последовательности нуклеиновых кислот были переведены в функциональный белок, две последовательности ДНК называют функционально связанными, если индукция промотора в 5'-регуляторных последовательностях приводит к транскрипции кодирующей последовательности, и если природа связи между двумя последовательностями ДНК (1) не приводит к введению мутации со сдвигом рамки генетического кода, (2) не препятствует способности участка промотора направлять транскрипцию кодирующих последовательностей или (3) не мешает способности соответствующего транскрипта РНК транслироваться в белок. Таким образом, участок промотора был бы функционально связан с последовательностью

нуклеиновой кислоты, если бы участок промотора мог бы осуществлять транскрипцию указанной последовательности ДНК таким образом, что полученный транскрипт мог бы быть транслирован в желаемый белок или полипептид. Аналогично, два или более кодирующих участков функционально связаны, если они связаны таким образом, что их транскрипция из общего промотора приводит к экспрессии двух или более белков, которые были транслированы в рамке. В некоторых вариантах реализации изобретения функционально связанные кодирующие последовательности дают химерный белок. В некоторых вариантах реализации изобретения функционально связанные кодирующие последовательности дают функциональную РНК (например, кшРНК, микроРНК).

В случае нуклеиновых кислот, кодирующих белки, последовательность полиаденилирования обычно вводится после трансгенных последовательностей и перед последовательностью 3'-ИКП AAV. Конструкция гAAV, пригодная в соответствии с настоящим изобретением, может дополнительно содержать интрон, желательно расположенный между последовательностью промотора/энхансера и трансгеном. Одна из возможных интронных последовательностей получена из SV-40 и упоминается как интронная последовательность SV-40 T. Другим векторным элементом, который может применяться, является участок внутренней посадки рибосомы (УВПР). Последовательность УВПР применяется для получения более чем одного полипептида из одного генного транскрипта. Последовательность УВПР могла бы применяться для получения белка, который содержит более одной полипептидной цепи. Выбор этих и других общих векторных элементов является общепринятым, и доступно множество таких последовательностей (см., например, Sambrook et al. и процитированные в ней ссылки, например, на стр. 3.18-3.26 и 16.17-16.27, и Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 1989). В некоторых случаях в полибелок может быть введена последовательность 2А вируса ящура; это пептид небольшого размера (длиной приблизительно 18 аминокислот), который, как было показано, опосредует расщепление полибелков (Ryan, M D et al., *EMBO*, 1994; 4: 928-933; Mattion, N M et al., *J Virology*, November 1996; p. 8124-8127; Furler, S et al., *Gene Therapy*, 2001; 8: 864-873; и Halpin, C et al., *The Plant Journal*, 1999; 4: 453-459). Способность

расщеплять 2А-последовательности ранее была продемонстрирована в искусственных системах, включая плазмиды и векторы генной терапии (AAV и ретровирусы) (Ryan, M D et al., EMBO, 1994; 4: 928-933; Mattion, N M et al., J Virology, November 1996; p. 8124-8127; Furler, S et al., Gene Therapy, 2001; 8: 864-873; и Halpin, C et al., The Plant Journal, 1999; 4: 453-459; de Felipe, P et al., Gene Therapy, 1999; 6: 198-208; de Felipe, P et al., Human Gene Therapy, 2000; 11: 1921-1931; и Klump, H et al., Gene Therapy, 2001; 8: 811-817).

Точный характер регуляторных последовательностей, необходимых для экспрессии генов в клетках-хозяевах, может варьироваться между видами, тканями или типами клеток, но в общем случае должен включать, по мере необходимости, 5' нетранскрибируемые и 5' нетранслируемые последовательности, связанные с инициацией транскрипции и трансляции, соответственно, такие как блок ТАТА, кэспирующая последовательность, последовательность СААТ, энхансерные элементы и т.п. В частности, такие 5' нетранскрибируемые регуляторные последовательности будут включать участок промотора, который содержит промоторную последовательность для транскрипционного контроля функционально связанного гена. Регуляторные последовательности дополнительно могут включать энхансерные последовательности или вышележащие активаторные последовательности, при необходимости. Векторы могут необязательно содержать 5' лидерные или сигнальные последовательности.

Примеры конститутивных промоторов включают, но не ограничиваясь этим, ретровирусный промотор LTR вируса саркомы Рауса (BCP) (необязательно с энхансером BCP), промотор цитомегаловируса (ЦМВ) (необязательно с энхансером ЦМВ) [см., например, Boshart et al, Cell, 41:521-530 (1985)], промотор SV40, промотор дигидрофолатредуктазы, промотор 13-актина, промотор фосфоглицеринкиназы (ФГК) и промотор EFla [Invitrogen].

Индукцибельные промоторы позволяют регулировать экспрессию генов и могут регулироваться экзогенно введенными соединениями, такими факторами окружающей среды, как температура, или наличием определенного физиологического состояния, например, острая фаза, конкретное состояние дифференцировки клетки или только в реплицирующих клетках. Индукцибельные промоторы и индукцибельные системы доступны из различных коммерческих

источников, в том числе, но не ограничиваясь этим, Invitrogen, Clontech и Ariad. Примеры индуцибельных промоторов, регулируемых экзогенно введенными промоторами, включают индуцибельный цинком промотор овечьего металлотиона (MT), индуцибельный дексаметазоном (Декс) промотор вируса опухоли молочной железы мыши (BOMM), промоторную систему T7 полимеразы (WO 98/10088); промотор экдизонов насекомых (No et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93:3346-3351 (1996)), подавляемую тетрациклином систему (Gossen et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992)), индуцибельную тетрациклином систему (Gossen et al, Science, 268:1766-1769 (1995), см. также Harvey et al, Curr. Opin. Chem. Biol., 2:512-518 (1998)), индуцибельную RU486 систему (Wang et al, Nat. Biotech., 15:239-243 (1997) и Wang et al, Gene Ther., 4:432-441 (1997)) и индуцибельную рапамицином систему (Magari et al, J. Clin. Invest., 100:2865-2872 (1997)). Другими типами индуцибельных промоторов, которые могут быть полезны в этом контексте, являются те, которые регулируются определенным физиологическим состоянием, например, температурой, острой фазой, конкретным состоянием дифференцировки клетки или только в реплицирующих клетках.

В другом варианте реализации изобретения для трансгена будет применяться нативный промотор или его фрагмент. Нативный промотор может быть предпочтительным, если желательно, чтобы экспрессия трансгена имитировала нативную экспрессию. Нативный промотор можно применять в случае необходимости регулировать экспрессию трансгена во времени или в ходе развития или тканеспецифичным образом или в ответ на специфические транскрипционные стимулы. Кроме того, в другом варианте реализации изобретения другие нативные элементы управления экспрессией, такие как энхансерные элементы, сайты полиаденилирования или консенсусные последовательности Козака, могут применяться для имитации нативной экспрессии.

В некоторых вариантах реализации изобретения регуляторные последовательности обеспечивают возможность тканеспецифичной экспрессии генов. В некоторых случаях тканеспецифичные регуляторные последовательности связываются с тканеспецифичными транскрипционными факторами, которые индуцируют транскрипцию тканеспецифичным образом. Такие тканеспецифичные

регуляторные последовательности (например, промоторы, энхансеры и т.д.) хорошо известны из уровня техники. Типичные тканеспецифичные регуляторные последовательности включают, но не ограничиваясь этим, следующие тканеспецифичные промоторы: нейронный, такой как нейронспецифичный промотор енолазы (HCE) (Andersen et al., *Cell. Mol. Neurobiol.*, 13: 503-15 (1993)), нейрофиламентный промотор гена легкой цепи (Piccioli et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. IDSA*, 88:5611-5 (1991)) и нейроспецифичный промотор гена *vgf* (Piccioli et al., *Neuron*, 15:373-84 (1995)). В некоторых вариантах реализации изобретения тканеспецифичный промотор представляет собой промотор гена, выбранного из: нейронных ядер (NeuN), глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ), аденоматозного полипоза толстой кишки (АПТ) и молекулы ионизированного кальцийсвязывающего адаптера 1 (Iba-1). В некоторых вариантах реализации изобретения промотор представляет собой куриный промотор бета-актина.

В некоторых вариантах реализации изобретения один или несколько сайтов связывания для одной или более микроРНК вводят в трансген вектора гAAV, чтобы ингибировать экспрессию трансгена в одной или более тканях субъекта, несущего трансгены, например, в ткани за пределами ЦНС. Специалисту в данной области техники будет понятно, что сайты связывания могут быть выбраны для контроля экспрессии трансгена тканеспецифичным образом. Например, экспрессию трансгена в печени можно ингибировать путем введения сайта связывания для miR-122, таким образом, что мРНК, экспрессируемая из трансгена, связывается с и ингибируется miR-122 в печени. Экспрессия трансгена в сердце может быть ингибирована путем введения сайта связывания для miR-133a или miR-1, таким образом, что мРНК, экспрессируемая из трансгена, связывается и ингибируется miR-133a или miR-1 в сердце. Целевые сайты микроРНК в мРНК могут находиться в 5' НТУ, 3' НТУ или в кодирующем участке. Как правило, целевой сайт находится в 3' НТУ мРНК. Кроме того, трансген может быть модифицирован таким образом, что множественные микроРНК регулируют мРНК путем распознавания одного или более сайтов. Наличие множественных сайтов связывания с микроРНК может привести к совместному действию множества индуцированных РНК комплексов сайленсинга (ИРКС) и обеспечить высокоэффективное ингибирование экспрессии. Последовательность сайта-мишени может содержать в общей сложности 5-100, 10-

60 или более нуклеотидов. Последовательность сайта-мишени может содержать по меньшей мере 5 нуклеотидов последовательности сайта связывания с геном-мишенью.

### **Трансгенные кодирующие последовательности**

Состав трансгенной последовательности вектора гAAV будет зависеть от целевого применения полученного вектора. Например, один тип трансгенной последовательности включает репортерную последовательность, которая после экспрессии создает обнаруживаемый сигнал. В другом примере трансген кодирует терапевтический белок Glut1 или терапевтическую функциональную РНК. В другом примере трансген кодирует белок или функциональную РНК, которые предназначены для применения в исследовательских целях, например, для создания соматической трансгенной модели на животных, несущих трансген, например, для изучения функции трансгенного продукта. В другом примере трансген кодирует белок или функциональную РНК, целевое применение которой состоит в создании животной модели заболевания. Соответствующие трансгенные кодирующие последовательности будут очевидны для специалистов в данной области техники.

В некоторых аспектах изобретения предлагаются векторы гAAV для применения в способах предотвращения или лечения дефекта гена *SLC2A1* (например, наследственных дефектов гена, изменений соматических генов) у млекопитающего, например, такого как дефект гена, который приводит к дефициту полипептида Glut1 у субъекта и, в частности, для лечения или снижения степени тяжести или степени выраженности дефицита у субъекта, у которого проявляется дефицит Glut1. В некоторых вариантах реализации изобретения способы включают введение вектора гAAV, который кодирует один или более терапевтических пептидов, полипептидов, кшРНК, микроРНК, антисмысловых нуклеотидов и т.д. в фармацевтически приемлемом для субъекта носителе, в количестве и в течение периода времени, достаточного для лечения нарушения Glut1 у субъекта, у которого присутствует или подозревается такое расстройство.

### **Введение рекомбинантного AAV**

гAAV вводят в достаточных количествах для трансфекции клеток желаемой ткани и обеспечения достаточных уровней передачи и экспрессии гена без чрезмерных побочных эффектов. Обычные и фармацевтически приемлемые способы введения включают, но не ограничиваясь этим, непосредственную доставку в выбранную ткань (например, внутримозговое введение, интратекальное введение), внутривенное, пероральное, ингаляционное (включая интраназальное и интратрахеальное введение), внутриглазное, внутривенное, внутримышечное, подкожное, внутрикожное, внутриутробное и другие парентеральные пути введения. Способы введения можно комбинировать, если это необходимо.

Введение определенных гAAV субъекту может осуществляться, например, путем введения в кровоток субъекта. Введение в кровоток может осуществляться путем инъекции в вену, артерию или любое другое сосудистое русло. Более того, в некоторых случаях может быть желательно доставить гAAV в ткань головного мозга, мозговые оболочки, нейронные клетки, глиальные клетки, астроциты, олигодендроциты, спинномозговую жидкость (СМЖ), внеклеточное пространство и т.п. В некоторых вариантах реализации изобретения рекомбинантные AAV могут быть доставлены непосредственно в спинной мозг или головной мозг путем инъекции в область желудочка, а также в полосатое тело (например, хвостатое ядро или путамен полосатого тела) и нервно-мышечное соединение или мозжечковую долю, с помощью иглы, катетера или сопутствующего устройства, с применением нейрохирургических методов, известных в данной области техники, таких как стереотаксическая инъекция (см., например, Stein et al., J Virol 73:3424-3429, 1999; Davidson et al., PNAS 97:3428-3432, 2000; Davidson et al., Nat. Genet. 3:219-223, 1993; и Alisky and Davidson, Hum. Gene Ther. 11:2315-2329, 2000). В определенных обстоятельствах будет желательным вводить терапевтические конструкции на основе гAAV в подходящих фармацевтических композициях, описанных в настоящем документе, подкожно, в поджелудочную железу, интраназально, парентерально, внутривенно, внутримышечно, интрацеребрально, интратекально, интрацеребрально, перорально, внутрибрюшинно или путем ингаляции. В некоторых вариантах реализации изобретения для доставки гAAV можно применять способы введения, описанные в патентах США №№ 5543158; 5641515 и



5399363 (каждый из которых конкретно включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме).

### **Композиции рекомбинантных AAV**

гAAV могут быть доставлены субъекту в композициях в соответствии с любыми подходящими способами, известными в данной области техники. гAAV, предпочтительно суспендированный в физиологически совместимом носителе (например, в композиции), может вводиться субъекту, например, человеку, мыши, крысе, кошке, собаке, овце, кролику, лошади, корове, козе, свинье, морской свинке, хомяку, курице, индейке или примату, отличному от человека (например, макаку). В некоторых вариантах реализации изобретения композиции могут содержать гAAV отдельно или в сочетании с одним или несколькими другими вирусами (например, второй гAAV, кодирующий один или более отличных трансгенов).

Подходящие носители могут быть легко выбраны специалистом в данной области техники, с учетом показания, для которого предназначен гAAV. Например, один из подходящих носителей включает физиологический раствор, который может быть приготовлен с применением целого ряда буферных растворов (например, буферизованного фосфатом физиологического раствора). Другие примеры носителей включают стерильный физиологический раствор, лактозу, сахарозу, фосфат кальция, желатин, декстран, агар, пектин, арахисовое масло, кунжутное масло и воду. Выбор носителя не является ограничивающим для настоящего изобретения.

Необязательно, композиции по изобретению могут содержать, помимо гAAV и носителя(ей), другие обычные фармацевтические ингредиенты, такие как консерванты или химические стабилизаторы. Подходящие примеры консервантов включают хлорбутанол, сорбат калия, сорбиновую кислоту, диоксид серы, пропилгаллат, парабены, этилванилин, глицерин, фенол и параклорфенол. Подходящие химические стабилизаторы включают желатин и альбумин.

Доза вирионов гAAV, необходимых для достижения желаемого эффекта или «терапевтического эффекта», например, единицы дозы в векторных геномах на килограмм массы тела (вг/кг), будут варьироваться в зависимости от нескольких факторов, в том числе, но не ограничиваясь этим, способа введения гAAV, уровня

экспрессии гена или РНК, необходимого для достижения терапевтического эффекта, конкретного заболевания или расстройства, подлежащего лечению, и стабильности гена или продукта РНК. Специалист в данной области техники может легко определить диапазон дозы вирионов гAAV для лечения субъекта с конкретным заболеванием или расстройством, на основе вышеупомянутых факторов, а также других факторов, которые хорошо известны из уровня техники. Эффективное количество гAAV обычно находится в диапазоне от примерно 10 мкл до примерно 100 мл раствора, содержащего от  $10^9$  до  $10^{16}$  копий генома на одного субъекта. Могут применяться другие объемы раствора. Применяемый объем обычно зависит, помимо прочего, от размеров субъекта, дозы гAAV и способа введения. Например, для интратекального или внутримозгового введения можно применять объем в диапазоне от 1 мкл до 10 мкл или от 10 мкл до 100 мкл. Для внутривенного введения можно применять объем в диапазоне от 10 мкл до 100 мкл, от 100 мкл до 1 мл, от 1 до 10 мл и более. В некоторых случаях целесообразно вводить дозу от  $10^{10}$  до  $10^{12}$  копий генома гAAV на одного субъекта. В некоторых вариантах реализации изобретения  $10^{12}$  копий генома гAAV на одного субъекта будут эффективными для направленного действия на ткани ЦНС. В некоторых вариантах реализации изобретения гAAV вводят в дозе  $10^{10}$ ,  $10^{11}$ ,  $10^{12}$ ,  $10^{13}$ ,  $10^{14}$  или  $10^{15}$  копий генома на одного пациента. В некоторых вариантах реализации изобретения гAAV вводят в дозе  $10^{10}$ ,  $10^{11}$ ,  $10^{12}$ ,  $10^{13}$  или  $10^{14}$  копий генома на кг.

В некоторых вариантах реализации изобретения композиции гAAV составлены для уменьшения агрегации частиц AAV в композиции, особенно в случаях, когда присутствуют высокие концентрации гAAV (например, около  $10^{13}$  копий генома (КГ)/мл или более). Способы уменьшения агрегации гAAV хорошо известны из уровня техники и включают, например, добавление поверхностно-активных веществ, коррекцию pH, коррекцию концентрации соли и т.д. (См., например, Wright F R, et al., *Molecular Therapy* (2005) 12, 171-178, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки).

Составление рецептуры фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и растворов носителей хорошо известно специалистам из уровня техники, как и разработка подходящих схем введения и лечения с применением конкретных композиций, описанных в настоящем документе, в различных схемах лечения. Как

правило, такие препараты могут содержать по меньшей мере около 0,1 % активного ингредиента или более, хотя процентное содержание активного ингредиента (ингредиентов) может, разумеется, варьироваться и может составлять от около 1 до 2 % и около 70 % или 80 % или более от общей массы или объема композиции. Естественно, количество активного ингредиента в каждой пригодной с терапевтической точки зрения композиции может быть определено таким образом, что подходящая доза будет получена в любой конкретной единичной дозе соединения. Специалисты в данной области техники могут рассматривать такие факторы, как растворимость, биодоступность, биологический период полураспада, способ введения, срок годности продукта, а также может быть желательной оценка других фармакологических факторов, таких как различные дозы и схемы лечения.

Фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для экстенпорального приготовления стерильных растворов или дисперсий. Кроме того, дисперсии могут быть получены в глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях и в маслах. В обычных условиях хранения и применения эти препараты содержат консервант для предотвращения роста микроорганизмов. Во многих случаях форма является стерильной и жидкой в такой степени, чтобы ее можно было свободно вводить с помощью шприца. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена против загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может быть растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т.п.), подходящие их смеси и/или растительные масла. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, с помощью покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и с применением поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может быть обеспечено с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. Во многих случаях предпочтительно введение в рецептуру осмотических агентов, например, сахаров или хлорида натрия. Пролонгированная абсорбция инъекционных композиций может быть

достигнута за счет применения в композициях агентов, замедляющих абсорбцию, например моностеарата алюминия и желатина.

Например, для введения инъекционного водного раствора такой раствор может быть соответствующим образом буферизован, и, если необходимо, жидкий разбавитель сначала делают изотоническим с помощью достаточного количества соли или глюкозы. Указанные водные растворы особенно подходят для внутривенного, внутримышечного, подкожного и внутривнутрибрюшинного введения. В связи с этим, стерильная водная среда, которую можно применять, будет известна специалистам из уровня техники. Например, одна доза может быть растворена в 1 мл изотонического раствора NaCl и добавлена к 1000 мл жидкости для гиподермоклизиса или введена в предложенное место инфузии (см., например, 15-е издание «Remington's Pharmaceutical Sciences», стр. 1035-1038 и 1570-1580). Некоторая вариация доз обязательно будет возникать в зависимости от состояния хозяина. Лицо, ответственное за введение, в любом случае определяет подходящую дозу для конкретного хозяина.

Стерильные растворы для инъекций получают путем введения в рецептуру активного rAAV в необходимом количестве в подходящем растворителе с различными другими ингредиентами, перечисленными в настоящем документе, при необходимости, с последующей стерилизующей фильтрацией. Как правило, дисперсии получают путем введения различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильную основу, которая содержит базовую дисперсионную среду и другие требуемые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций предпочтительными способами получения являются способы вакуумной сушки и сушки вымораживанием, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из ранее обработанного стерилизующей фильтрацией раствора.

Раскрытые в настоящем документе rAAV-композиции также могут быть составлены в нейтральной или солевой форме. Фармацевтически приемлемые соли включают кислотно-аддитивные соли (образованные свободными аминокетильными группами белка) и образованные с неорганическими кислотами, такими как, например, соляная или фосфорная кислоты, или такими органическими кислотами, как

уксусная, щавелевая, винная, манделовая и т.п. Соли, образованные с помощью свободных карбоксильных групп, также могут быть получены с неорганическими основаниями, такими как, например, гидроксиды натрия, калия, аммония, кальция или трехвалентного железа, и такими органическими основаниями, как изопропиламин, триметиламин, гистидин, прокаин и т.п. После приготовления растворы вводят способом, совместимым с лекарственным средством, и в таком количестве, которое является терапевтически эффективным. Композиции легко вводятся в различных лекарственных формах, таких как инъекционные растворы, капсулы с высвобождением лекарственного средства и т.п.

В настоящем документе термин «носитель» включает любые и все растворители, дисперсионные среды, носители, покрытия, разбавители, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и абсорбирующие агенты, буферы, растворы носителей, суспензии, коллоиды и т.п. Применение таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно из уровня техники. В композиции также могут быть введены дополнительные активные ингредиенты. Фраза «фармацевтически приемлемый» относится к молекулярным объектам и композициям, которые не вызывают аллергической или подобной неблагоприятной реакции при введении хозяину.

Для введения композиций по настоящему изобретению в подходящие клетки-хозяева можно применять основы для доставки, такие как липосомы, нанокапсулы, микрочастицы, микросферы, липидные частицы, везикулы и т.п. В частности, доставляющие вектор гAAV трансгены могут быть введены в препараты для доставки либо инкапсулированы в липидную частицу, липосому, везикулу, наносферу или наночастицу и т.п.

Такие препараты могут быть предпочтительными для введения фармацевтически приемлемых композиций нуклеиновых кислот или конструкций гAAV, описанных в настоящем документе. Получение и применение липосом обычно известно специалистам из уровня техники. В последнее время были разработаны липосомы с повышенной стабильностью в сыворотке и периодом полувыведения из кровотока (патент США № 5741516). Кроме того, описаны различные способы получения липосомальных и липосомоподобных препаратов в

качестве потенциальных носителей лекарственного средства (патенты США №№ 5567434, 5552157, 5565213, 5738868 и 5795587).

Липосомы успешно применялись с целым рядом типов клеток, которые обычно устойчивы к трансфекции другими методами. Кроме того, липосомы свободны от ограничений длины ДНК, которые типичны для систем доставки на основе вирусов. Липосомы эффективно применялись для введения генов, лекарств, радиотерапевтических агентов, вирусов, транскрипционных факторов и аллостерических эффекторов в различные культивируемые клеточные линии и организм животных. Кроме того, было завершено несколько успешных клинических испытаний, посвященных оценке эффективности опосредованной липосомами доставки лекарственных средств.

Липосомы образуются из фосфолипидов, которые диспергируются в водной среде и спонтанно образуют многослойные концентрические двухслойные везикулы (также называемые многослойными везикулами (МСВ)). Диаметр МСВ обычно составляет от 25 нм до 4 мкм. Обработка МСВ ультразвуком приводит к образованию маленьких однослойных везикул (МОВ) с диаметром в диапазоне от 200 до 500 Å, содержащие в ядре водный раствор.

В качестве альтернативы, можно применять нанокапсульные композиции гAAV. Нанокапсулы могут обычно захватывать вещества стабильным и воспроизводимым образом. Чтобы избежать побочных эффектов из-за чрезмерного количества полимеров внутри клетки, такие сверхмелкозернистые частицы (размером около 0,1 мкм) следует модифицировать с применением полимеров, способных разлагаться *in vivo*. Для применения рассматриваются биоразлагаемые наночастицы полиалкилцианоакрилата, которые отвечают этим требованиям.

В дополнение к способам доставки, описанным выше, следующие способы рассматриваются в качестве альтернативных способов доставки композиций гAAV в организм хозяина. Сонофорез (т.е., ультразвук) был применен и описан в патенте США № 5656016 в качестве устройства для повышения скорости и эффективности проникновения лекарственного средства в систему кровообращения и с ее помощью. Другие альтернативы доставки лекарственных средств представляют собой внутрикостную инъекцию (патент США № 5779708), устройства для микрочипов (патент США № 5797898), офтальмологические препараты (Bourlais et

al., 1998), трансдермальные матрицы (патенты США №№ 5770219 и 5783208) и управляемую обратной связью доставку (патент США № 5697899).

### **Общие методы, касающиеся доставки rAAV-композиций**

Настоящее изобретение относится к стабильным фармацевтическим композициям, содержащим вирионы rAAV. Композиции остаются стабильными и активными, даже если они подвергаются воздействию циклов замораживания/оттаивания и хранятся в емкостях из различных материалов, включая стекло.

Рекомбинантные вирионы AAV, содержащие целевую гетерологичную последовательность нуклеотидов, можно применять для доставки генов, например, при генной терапии, для получения трансгенных животных, вакцинации нуклеиновой кислотой, рибозимной и антисмысловой терапии, а также для доставки генов *in vitro* в различные типы клеток.

Как правило, вирионы rAAV вводят в клетки субъекта с применением методов трансдукции *in vivo* или *in vitro*. При трансфекции *in vitro*, желаемая клетка-реципиент будет извлечена из организма субъекта, трансфицирована вирионами rAAV и повторно введена субъекту. В качестве альтернативы, можно применять сингенные или ксеногенные клетки, если эти клетки не будут вызывать неуместный иммунный ответ у субъекта.

Были описаны подходящие способы доставки и введения трансфицированных клеток в организм субъекта. Например, клетки могут быть трансфицированы *in vitro* путем комбинирования рекомбинантных вирионов AAV с клетками, например, в соответствующих средах, и скрининга на клетки, несущие целевую ДНК, с применением обычных методов, таких как Саузерн-блоттинг и/или ПЦР, или с применением селективных маркеров. Далее трансфицированные клетки могут быть введены в фармацевтические композиции, более подробно описанные ниже, а композиция введена в организм субъекта различными способами, такими как внутримышечная, внутривенная, внутриартериальная, подкожная и внутрибрюшинная инъекция или способ инъекции в гладкие мышцы, с применением, например, катетера, или непосредственно в орган.

Для доставки *in vivo* вирионы гAAV будут введены в фармацевтическую композицию и обычно будут вводиться парентерально, например, путем внутримышечной инъекции непосредственно в скелетную мышцу, внутрисуставно, внутривенно или непосредственно в орган.

Соответствующие дозы будут зависеть от подлежащего лечению субъекта (например, человека или примата, не относящегося к человеку, или другого млекопитающего), возраста и общего состояния подлежащего лечению субъекта, тяжести состояния, подлежащего лечению, способа введения вирионов гAAV, среди прочих факторов. Специалист в данной области техники может легко определить подходящее эффективное количество.

Таким образом, «терапевтически эффективное количество» будет варьировать в относительно широком диапазоне, который может быть определен посредством клинических испытаний. Например, для инъекции *in vivo*, т.е. инъекции непосредственно субъекту, терапевтически эффективная доза будет составлять примерно от  $10^5$  до  $10^{16}$  вирионов гAAV, более предпочтительно от  $10^8$  до  $10^{14}$  вирионов гAAV. Для трансфекции в пробирке, эффективное количество вирионов гAAV, которое должно быть доставлено в клетки, будет составлять порядка от  $10^5$  до  $10^{13}$ , предпочтительно от  $10^8$  до  $10^{13}$  вирионов гAAV. Если композиция содержит трансфицированные клетки для доставки обратно в организм субъекта, то количество трансфицированных клеток в фармацевтических композициях будет составлять от примерно  $10^4$  до  $10^{10}$  клеток, более предпочтительно от  $10^5$  до  $10^8$  клеток. Доза, конечно, зависит от эффективности трансфекции, силы промотора, стабильности единицы генетического кода и кодируемого ею белка и т.д. Эффективные дозы могут быть легко установлены специалистом в данной области техники посредством шаблонных испытаний для определения кривых зависимости «доза-ответ».

Схема введения может представлять собой расписание с однократным введением или расписание с многократным введением доз, чтобы в конечном итоге доставить указанное выше количество. Кроме того, субъекту можно вводить как можно больше доз. Таким образом, субъекту может быть введено, например, от  $10^5$  до  $10^{16}$  вирионов гAAV в виде однократной дозы или двух, четырех, пяти, шести или более доз, которые в совокупности обеспечивают доставку, например, от  $10^5$  до



$10^{16}$  вирионов гAAV. Специалист в данной области техники может с легкостью определить подходящее количество доз для введения.

Таким образом, фармацевтические композиции будут содержать достаточно генетического материала для получения терапевтически эффективного количества целевого белка, т.е., количества, достаточного для уменьшения или улучшения симптомов подлежащего лечению патологического состояния или количества, достаточного для получения желаемого эффекта. Таким образом, вирионы гAAV будут присутствовать в композициях по изобретению в количестве, достаточном для обеспечения терапевтического эффекта при назначении в одной или более дозах. Вирионы гAAV могут быть представлены в виде лиофилизированных препаратов и разведены в стабилизирующих вирион композициях для немедленного или будущего применения. В качестве альтернативы, вирион гAAV может быть поставляться сразу после производства и храниться для будущего применения.

Фармацевтические композиции также будут содержать фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Такие вспомогательные вещества включают любой фармацевтический агент, который сам по себе не вызывает образования антител, вредных для индивидуума, получающего композицию, и который можно вводить без чрезмерной токсичности. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества включают, но не ограничиваясь этим, такие жидкости, как вода, физиологический раствор, глицерин и этанол. В их число могут быть включены фармацевтически приемлемые соли, например, соли минеральных кислот, такие как гидрохлориды, гидробромиды, фосфаты, сульфаты и т.п.; и соли органических кислот, такие как ацетаты, пропионаты, малонаты, бензоаты и т.п. Кроме того, в таких основах могут присутствовать вспомогательные вещества, такие как увлажняющие или эмульгирующие агенты, буферные вещества для коррекции pH и т.п. Подробное обсуждение фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ доступно в REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

В настоящем документе термин «полимеразная цепная реакция» или «ПЦР» относится к процедуре или методике, в ходе которой амплифицируются конкретные последовательности нуклеиновых кислот, РНК и/или ДНК, как

описано, например, в патенте США № 4683195. Как правило, информация о последовательности с концов интересующей области или за ее пределами используется для конструирования олигонуклеотидных праймеров. Последовательность этих праймеров будет идентичной или подобной противоположным цепям шаблона, который подлежит амплификации. 5'-концевые нуклеотиды двух праймеров могут совпадать с концами амплифицированного материала. ПЦР можно применять для амплификации специфичных последовательностей РНК, специфичных последовательностей ДНК из общей геномной ДНК, а также кДНК, транскрибируемой из последовательностей общей клеточной РНК, бактериофагов или плазмид и т.д. *В общем, см. Mullis et al. (1987) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263; Erlich, ed., (1989) PCR Technology (Stockton Press, N.Y.).* В настоящем документе ПЦР считается одним из, но не единственным примером способа амплификации тестового образца нуклеиновой кислоты с помощью реакции полимеразы нуклеиновой кислоты, включающего применение известной нуклеиновой кислоты в качестве праймера и полимеразы нуклеиновой кислоты для амплификации или генерации определенного фрагмента нуклеиновой кислоты.

### **Нуклеиновые кислоты**

Изобретение дополнительно включает определенные конструкции и нуклеиновые кислоты, кодирующие описанный в настоящем документе Glut1 белок. Некоторые конструкции и последовательности, включая выбранные последовательности, перечисленные в Табл. 1, в том числе, SEQ ID NO 28-75 и 80-97, и в некоторых аспектах одна или несколько из SEQ ID NO 2-5, 7-9, 11-14, 16-18, 20-23, 25-27 и 80-95, могут быть подходящими для вариантов реализации настоящего изобретения. Как описано в настоящем документе, неожиданно было обнаружено, что включение последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих 2A-пептид, не дает желаемых уровней экспрессии Glut1. Таким образом, предпочтительные конструкции rAAV не будут содержать нуклеиновых кислот SEQ ID NO 6, 15 и/или 24, все из которых соответствуют кодирующим последовательностям 2A.

Предпочтительно, нуклеиновые кислоты гибридизуются в условиях низкой, умеренной или высокой строгости и кодируют белок Glut1, который поддерживает биологическую функцию. Первая молекула нуклеиновой кислоты «способна гибридизоваться» со второй молекулой нуклеиновой кислоты, если одноцепочечная форма первой молекулы нуклеиновой кислоты может отжигать вторую молекулу нуклеиновой кислоты при соответствующих условиях температуры и ионной силы раствора (см. Sambrook *et al.*, выше). Условия температуры и ионной силы определяют «строгость» гибридизации. Типичные условия гибридизации с низкой строгостью включают 55° С, 5X натрия хлорида и натрия цитрата (НХЦ), 0,1 % НДС и отсутствие формамида; или 30 % формамида, 5X НХЦ, 0,5 % НДС при 42°С. Типичными условиями гибридизации умеренной строгости являются 40 % формамида, 5X или 6X НХЦ и 0,1 % НДС при 42°С. Условия высокой строгости гибридизации: 50 % формамид, 5X или 6X НХЦ при 42°С или, необязательно, при более высокой температуре (например, 57°С, 59°С, 60°С, 62°С, 63°С, 65°С или 68°С). В общем, НХЦ составляет 0,15 М NaCl и 0,015 М Na цитрата. Гибридизация требует присутствия комплементарных последовательностей двух нуклеиновых кислот, хотя возможны несоответствия между основаниями, в зависимости от строгости гибридизации. Соответствующая степень строгости гибридизации нуклеиновых кислот зависит от длины нуклеиновых кислот и степени комплементарности, т.е. параметров, хорошо известных в данной области техники. Чем больше степень сходства или гомологии между двумя нуклеотидными последовательностями, тем выше степень строгости, при которой могут гибридизоваться нуклеиновые кислоты. Для гибридов длиной более 100 нуклеотидов были получены уравнения для расчета температуры плавления (см. Sambrook, *et al.*, выше, 9.50-9.51). Для гибридизации с более короткими нуклеиновыми кислотами, *например*, олигонуклеотидами, положение несоответствий становится более значимым, а длина олигонуклеотида определяет его специфичность (см. Sambrook, *et al.*, выше, 11.7-11.8).

Полипептиды Glut1, содержащие аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 70 % идентичны, предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 80 % идентичны, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 90 % идентичны и наиболее предпочтительно по меньшей мере

приблизительно на 95 % идентичны (например, на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 %) аминокислотным последовательностям mGlut1 или hGlut1, предложенным в настоящем документе (например, SEQ ID NO 78 и SEQ ID NO 79), рассматриваются для восстановления функции Glut1 при сравнении с помощью алгоритма BLAST, в котором параметры алгоритма выбираются таким образом, чтобы давать наибольшее совпадение между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих референтных последовательностей. Полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере приблизительно на 70 % подобны, предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 80 % подобны, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 90 % подобны и наиболее предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 95 % подобны (например, на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 %) любой из референтных аминокислотных последовательностей Glut1 при сравнении с помощью алгоритма BLAST, в котором параметры алгоритма выбраны таким образом, чтобы обеспечить наибольшее совпадение между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих референтных последовательностей, также включены в конструкции и способы по настоящему изобретению.

Идентичность последовательностей относится к степени, в которой аминокислоты двух полипептидов одинаковы в эквивалентных положениях при оптимальном выравнивании двух последовательностей. Сходство последовательностей включает идентичные остатки и неидентичные биохимически родственные аминокислоты. Биохимически родственные аминокислоты, которые обладают сходными свойствами и могут быть взаимозаменяемыми, обсуждаются выше.

«Гомология» относится к сходству последовательностей между двумя полинуклеотидными последовательностями или между двумя полипептидными последовательностями при оптимальном выравнивании. Если положение в обеих из двух сравниваемых последовательностей занято одним и тем же основанием или мономерной аминокислотной субъединицей, например, если положение в каждой из двух молекул ДНК занято аденином, то молекулы являются гомологичными в этом положении. Процент гомологии представляет собой количество

гомологичных позиций, разделяемых двумя последовательностями, деленное на общее количество позиций по сравнению с  $x100$ . Например, если 6 из 10 позиций в двух последовательностях совпадают или гомологичны при оптимальном выравнивании последовательностей, то две последовательности гомологичны на 60%. Как правило, сравнение производится при выравнивании последовательностей, чтобы обеспечить максимальный процент гомологии.

Следующие ссылки относятся к алгоритмам BLAST, которые часто применяются для анализа последовательностей: Altschul, S.F., *et al.*, (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Gish, W., *et al.*, (1993) *Nature Genet.* 3:266-272; Madden, T.L., *et al.*, (1996) *Meth. Enzymol.* 266:131-141; Altschul, S.F., *et al.*, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; Zhang, J., *et al.*, (1997) *Genome Res.* 7:649-656; Wootton, J.C., *et al.*, (1993) *Comput. Chem.* 17:149-163; Hancock, J.M. *et al.*, (1994) *Comput. Appl. Biosci.* 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., *et al.*, "A model of evolutionary change in proteins." в *Atlas of Protein Sequence and Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., *et al.*, "Matrices for detecting distant relationships" в *Atlas of Protein Sequence and Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) *J. Mol. Biol.* 219:555-565; States, D.J., *et al.*, (1991) *Methods* 3:66-70; Henikoff, S., *et al.*, (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915-10919; Altschul, S.F., *et al.*, (1993) *J. Mol. Evol.* 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., *et al.*, (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268; Karlin, S., *et al.*, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877; Dembo, A., *et al.*, (1994) *Ann. Prob.* 22:2022-2039; и Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." в *Theoretical and Computational Methods in Genome Research* (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York.

В настоящем изобретении также предлагаются векторы экспрессии, содержащие различные нуклеиновые кислоты, в которых нуклеиновая кислота функционально связана с контрольными последовательностями, распознаваемыми клеткой-хозяином при трансфекции клетки-хозяина вектором. Кроме того, предлагаются вирионы, содержащие рекомбинантные AAV9 и некоторые последовательности AAV2, а также последовательности нуклеиновых кислот для

экспрессии Glut-1 под управлением промотора куриного  $\beta$ -актина и энхансера ЦМВ. В пределах этих конструкций последовательности гAAV2 соответствуют последовательностям 5'- и 3'-ИКП, например, SEQ ID NO 2, 9, 29, 34, 36, 41 и др., как описано в Табл. 1). Эти последовательности были упакованы с капсидом AAV9 с образованием вирионов, которые являются терапевтическими при дефиците Glut-1 по настоящему изобретению.

### **Фармацевтические композиции и введение**

Для приготовления фармацевтических или стерильных композиций для композиций по настоящему изобретению векторы AAV9 или родственные композиции могут быть смешаны с фармацевтически приемлемым носителем или вспомогательным веществом. См., например, *Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary*, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984).

Препараты терапевтических и диагностических агентов могут быть получены путем смешивания с приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами в форме, например, лиофилизированных порошков, суспензий, водных растворов или суспензий (см., например, Hardman, *et al.* (2001) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, *et al.* (eds.) (1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) *Excipient Toxicity and Safety*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).

Токсичность и терапевтическая эффективность терапевтических композиций, вводимых по отдельности или в сочетании с другим агентом, могут быть определены стандартными фармацевтическими методиками в культурах клеток или организме экспериментальных животных, например, для определения LD<sub>50</sub> (доза, летальная для 50 % популяции) и ED<sub>50</sub> (доза, терапевтически эффективная у 50 % популяции). Соотношение доз, оказывающих токсическое и

терапевтическое воздействие, представляет собой терапевтический индекс ( $LD_{50}/ED_{50}$ ). В частности, желаемыми являются терапевтические композиции с высоким терапевтическим индексом. Данные, полученные в результате этих анализов клеточной культуры и исследований на животных, могут быть использованы при определении диапазона доз для применения у человека. Дозы таких соединений предпочтительно находятся в пределах диапазона концентраций в кровотоке, которые включают  $ED_{50}$  с небольшой токсичностью или без нее. Доза может варьироваться в пределах этого диапазона в зависимости от применяемой лекарственной формы и способа введения.

В одном из вариантов реализации изобретения композицию по изобретению вводят субъекту в соответствии с Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57th edition (November 1, 2002)).

Способ введения может варьироваться. Подходящие способы введения включают пероральный, ректальный, трансмукозальный, кишечный, парентеральный; внутримышечный, подкожный, внутрикожный, интрамедуллярный, интратекальный, прямой внутрижелудочковый, внутривенный, внутрибрюшинный, интраназальный, внутриглазной, ингаляционный, инсуффляционный, местное применение, кожный, трансдермальный или внутриартериальный.

В конкретных вариантах реализации изобретения композицию или терапевтический препарат можно вводить инвазивным путем, таким как инъекция (см. выше). В других вариантах реализации изобретения терапевтическую композицию или фармацевтическую композицию вводят внутривенно, подкожно, внутримышечно, внутриартериально, внутрисуставно (например, в пораженные артритом суставы), в опухоль или путем ингаляции, аэрозольного введения. Введение с помощью неинвазивных способов (например, перорально, например, в виде пилюли, капсулы или таблетки) также включено в настоящее изобретение.

Композиции можно вводить с помощью медицинских устройств, известных из уровня техники. Например, фармацевтическую композицию по изобретению можно вводить инъекцией с помощью иглы для подкожных инъекций, включая, например, предварительно заполненный шприц или аутоинжектор.

Кроме того, фармацевтические композиции по изобретению можно вводить с помощью безыгольных устройств для подкожных инъекций; таких как устройства, описанные в патентах США №№ 6620135; 6096002; 5399163; 5383851; 5312335; 5064413; 4941880; 4790824 или 4596556.

В качестве альтернативы, можно применять вектор AAV9 или родственное соединение скорее местно, чем системно, например, путем инъекции непосредственно в желаемый целевой сайт, часто в виде препарата депо или с пролонгированным высвобождением. Кроме того, можно вводить композицию в систему доставки лекарственного средства с направленным действием, например, в липосоме, покрытой тканеспецифичным антителом, направленно действующим, например, на мозг. Липосомы будут направленно действовать выбранный отдел желаемой ткани.

Схема введения зависит от нескольких факторов, включая скорость метаболизма терапевтической композиции в сыворотке или ткани, степень тяжести симптомов и доступность клеток-мишеней в биологической матрице. Предпочтительно, схема введения обеспечивает достаточное количество терапевтической композиции для улучшения целевого патологического состояния, одновременно минимизируя нежелательные побочные эффекты. Соответственно, количество для биологической доставки частично зависит от конкретной терапевтической композиции и тяжести состояния, подлежащего лечению.

Определение соответствующей дозы проводится клиницистом, *например*, с применением параметров или факторов, влияние которых на лечение известно или подозревается в данной области техники. Обычно введение начинают с количества, несколько меньшего, чем оптимальная доза, и затем увеличиваются с небольшими приращениями до тех пор, пока не будет достигнут желаемый или оптимальный эффект по сравнению с любыми отрицательными побочными эффектами. Важными диагностическими показателями являются симптомы, например, воспаления или уровня вырабатываемых воспалительных цитокинов. В общем, желательно, чтобы биологическое средство, которое будет применяться, было получено из тех же видов, что и животное, подлежащее лечению, что будет минимизировать любой иммунный ответ на реагент.



В настоящем документе термин «подавлять» или «лечить» или «лечение» включает отодвигание во времени развития симптомов, связанных с расстройством, и/или уменьшение тяжести симптомов такого расстройства. Термины дополнительно включают улучшение существующих неконтролируемых или нежелательных симптомов, предотвращение развития дополнительных симптомов и улучшение или предотвращение появления основных причин таких симптомов. Таким образом, эти термины означают, что положительный результат был достигнут у позвоночного пациента с расстройством, заболеванием или симптомом или с потенциалом развития такого расстройства, заболевания или симптома.

В настоящем документе термины «терапевтически эффективное количество», «терапевтически эффективная доза» и «эффективное количество» относятся к количеству соединения на основе rAAV9-Glut1 по изобретению, которое при монотерапии или в сочетании с дополнительным терапевтическим агентом для клетки, ткани или субъекта является эффективным для достижения измеримого улучшения одного или более симптомов заболевания или состояния или прогрессировании такого заболевания или состояния. Терапевтически эффективная доза дополнительно относится к такому количеству соединения, которое является достаточным по меньшей мере для частичного улучшения симптомов, например лечения, заживления, профилактики или улучшения соответствующего состояния здоровья или сокращения периода лечения, заживления, профилактики или улучшения таких состояний. При применении к отдельному активному ингредиенту, вводимому в качестве монотерапии, терапевтически эффективная доза относится только к одному ингредиенту. При применении к комбинации терапевтически эффективная доза относится к комбинированным количествам активных ингредиентов, которые приводят к терапевтическому эффекту, независимо от того, вводились ли они в комбинации, последовательно или одновременно. Эффективное количество терапевтического средства приведет к улучшению диагностического показателя или параметра по меньшей мере на 10 %; обычно по меньшей мере на 20 %; предпочтительно, по меньшей мере, около 30 %; более предпочтительно по меньшей мере 40 % и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 50 %. Кроме того, эффективное

количество также может привести к улучшению субъективного показателя в тех случаях, когда для оценки степени тяжести заболевания применяются субъективные показатели.

## **Наборы**

В настоящем изобретении также предлагаются наборы, содержащие компоненты комбинаций по изобретению в форме набора. Набор по настоящему изобретению включает один или несколько компонентов, в том числе, но не ограничиваясь этим, соединение на основе rAAV9-Glut1, как обсуждается в настоящем документе, в сочетании с одним или несколькими дополнительными компонентами, в том числе, но не ограничиваясь этим, фармацевтически приемлемым носителем и/или химиотерапевтическим агентом, как обсуждалось в настоящем документе. Соединение или композиция на основе rAAV9-Glut1 и/или терапевтический агент могут быть введены в композицию без дополнительных компонентов или в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, в фармацевтической композиции.

В одном варианте реализации изобретения набор включает соединение/композицию на основе rAAV9-Glut1 по изобретению или его фармацевтическую композицию в одной емкости (например, в стерильном стеклянном или пластиковом флаконе) и его фармацевтическую композицию и/или химиотерапевтическое средство в другом контейнер (например, в стерильном стеклянном или пластиковом флаконе).

В другом варианте реализации настоящего изобретения набор включает комбинацию по изобретению, включая соединение на основе rAAV9-Glut1, вместе с фармацевтически приемлемым носителем, необязательно в сочетании с одним или несколькими компонентами химиотерапевтического агента, которые совместно введены, необязательно в фармацевтическую композицию в одной общей емкости.

Если набор включает фармацевтическую композицию для парентерального введения субъекту, то набор может включать в себя устройство для такого введения. Например, набор может включать одну или несколько игл для подкожных инъекций или других инъекционных устройств, как описано выше.

Набор может включать в себя листок-вкладыш в упаковку, содержащий информацию, касающуюся фармацевтических композиций и лекарственных форм в наборе. Как правило, такая информация помогает пациентам и врачам эффективно и безопасно применять прилагаемые фармацевтические композиции и лекарственные формы. Например, следующая информация, касающаяся комбинации по изобретению, может предоставляться на листке-вкладыше: фармакокинетика, фармакодинамика, клинические исследования, параметры эффективности, показания и применение, противопоказания, предупреждения, меры предосторожности, побочные реакции, передозировка, надлежащие дозы и способ введения, упаковка, надлежащие условия хранения, ссылки, информация о производителе/дистрибьюторе и патентная информация.

## ОБЩИЕ МЕТОДЫ

Стандартные методы в молекулярной биологии описаны Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2<sup>nd</sup> Edition, 2001 3<sup>rd</sup> Edition) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning, 3<sup>rd</sup> ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Стандартные методы также приведены в Ausbel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vols.1-4*, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, где описано клонирование в бактериальных клетках и мутагенез ДНК (том 1), клонирование в клетках млекопитающих и дрожжах (том 2), гликоконъюгаты и экспрессия белка (том 3) и биоинформатика (том 4).

Описаны способы очистки белков, включая иммунопреципитацию, хроматографию, электрофорез, центрифугирование и кристаллизацию (Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 1*, John Wiley and Sons, Inc., New York). Описаны химический анализ, химическая модификация, посттрансляционная модификация, получение химерных белков, гликозилирование белков (см., *например*, Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 2*, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3*, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-

89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391).  
 Описаны получение, очистка и фрагментация поликлональных и моноклональных антител (Coligan, *et al.* (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, *выше*). Доступны стандартные методы для характеристики взаимодействия лиганд/рецептор (см., например, Coligan, *et al.* (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York).

### Сокращения

AAV: аденоассоциированный вирус

rAAV: рекомбинантный аденоассоциированный вирус или вирусный вектор

ГЭБ: гематоэнцефалический барьер

ВЯ: вирус ящура

GFP: зеленый флуоресцентный белок

Glut1: переносчик глюкозы 1, также известный как семейство 2 растворимых носителей, облегченный переносчик глюкозы 1 (SLC2A1), является юнипортерным белком, который у человека кодируется геном *SLC2A1*. Glut1 облегчает перенос глюкозы через плазматические мембраны клеток млекопитающих. Glut1 был первым переносчиком глюкозы, который был охарактеризован. Glut1 1 обладает высокой степенью консервативности для белка Glut1 человека (hGlut1) (учетный номер: NP\_006507.2; SEQ ID NO 79) и белка Glut1 мыши (mGlut1) (учетный номер: NP\_035530.2; SEQ ID NO 78), которые облают 98 % гомологией. Glut1 демонстрирует 40 % гомологию с другими Glut.

*SLC2A1*: ген, кодирующий переносчик глюкозы человека 1 (hGlut1). *SLC2A1* человека (учетный номер: NG\_008232.1; идентификатор гена - 6513).

*Slc2a1*: ген, кодирующий Glut1 мыши (mGlut1) учетный номер: идентификатор гена NC\_000070.6; ген ID - 20525).

GLUT1 DS: синдром дефицита Glut1

ПРД: послеродовой день

ПРД3: послеродовой день 3

### ПРИМЕРЫ

Таблица 1 — Рекомбинантные Glut1-плазмиды

<b>EGFP-2A-Glut1</b>		
<b>Конструкции</b>		
Человек	<p>рAAV CB6 PI EGFP-2A-hGlut1 (SEQ ID NO 1)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 2)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 3)</p> <p>промотор СВ (SEQ ID NO 4)</p> <p>eGFP (SEQ ID NO 5)</p> <p>2A-линкер (SEQ ID NO 6)</p> <p>кДНК hGlut1 и 3'НТУ (SEQ ID NO 7)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 8)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 9)</p>	Не экспрессирует hGlut1
Мышь	<p>рAAV CB6 PI EGFP-2A-mGlut1 (SEQ ID NO 10)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 11)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 12)</p> <p>промотор СВ (SEQ ID NO 13)</p> <p>eGFP (SEQ ID NO 14)</p> <p>2A-линкер (SEQ ID NO 15)</p>	Не экспрессирует mGlut1

	<p>кДНК и 3' НТУ mGlut1 (SEQ ID NO 16)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 17)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 18)</p>	
<p><b>Glut1-2A-EGFP</b></p> <p><b>Конструкции</b></p>		
Человек	<p>pAAV CB6 PI hGlut1-2A-EGFP (SEQ ID NO 19)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5' НКП (SEQ ID NO 20)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 21)</p> <p>промотор CB (SEQ ID NO 22)</p> <p>кДНК hGlut1 (SEQ ID NO 23)</p> <p>2A-линкер (SEQ ID NO 24)</p> <p>eGFP (SEQ ID NO 25)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 26)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 27)</p>	Не экспрессирует hGlut1
Мышь	<p><i>pAAV CB6 PI mGlut1-2A-EGFP SEQ ID NO:88</i></p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5' НКП (SEQ ID NO 89)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO:90 )</p>	Не экспрессирует mGlut1

	<p>промотор CB (SEQ ID NO:91)</p> <p>eGFP (SEQ ID NO:92)</p> <p>кДНК и 3' НТУ mGlut1 (SEQ ID NO 93)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 94)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 95)</p>	
<b>Конструкции нативного Glut1</b>		
Человек	<p>pAAV9-CB6 PI hGlut1</p> <p>pAAV CB6 PI hGlut1 (SEQ ID NO 28)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 29)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 30)</p> <p>промотор CB (SEQ ID NO 31)</p> <p>кДНК hGlut1 (SEQ ID NO 32)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 33)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 34)</p>	<b>Экспрессирует hGlut1</b>
Мышь	<p>pAAV9-CB6 PI mGlut1</p> <p>pAAV CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p>	<b>Экспрессирует mGlut1</b>

	<p>5' НКП (SEQ ID NO 36)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 37)</p> <p>промотор СВ (SEQ ID NO 38)</p> <p>mGlut1 кДНК (SEQ ID NO 39)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 40)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 41)</p>	
<p><b>Конструкции</b></p> <p><b>Glut1-mir122</b></p>		
Человек	<p>pAAV CB6 PI hGlut1-out3xmiR-122 CC (SEQ ID NO 42)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5' НКП (SEQ ID NO 43)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 44)</p> <p>промотор СВ (SEQ ID NO 45)</p> <p>кДНК hGlut1 (SEQ ID NO 46)</p> <p>3' НТУ (SEQ ID NO 47)</p> <p>3xmiR-122 CC (SEQ ID NO 48)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 49)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 50)</p>	hGlut1 экспрессия ПДР



<p>Человек</p>	<p>рAAV CB6 PI hGlut1-in3xmiR-122 CC (SEQ ID NO 51)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 52)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 53)</p> <p>промотор CB (SEQ ID NO 54)</p> <p>кДНК hGlut1 (SEQ ID NO 55)</p> <p>3' НТУ и 3xmiR-122 (SEQ ID NO 56)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 57)</p> <p>3' НКП (SEQ ID NO 58)</p>	<p>hGlut1 экспрессия ПДР</p>
<p>Мышь</p>	<p>рAAV CB6 PI mGlut1-in3xmiR-122 CC (SEQ ID NO 59)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 60)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 61)</p> <p>промотор CB (SEQ ID NO 62)</p> <p>mGlut1 кДНК (SEQ ID NO 63)</p> <p>3'НТУ и 3x-miR122CC (SEQ ID NO 64)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO</p>	<p>mGlut1 экспрессия ПДР</p>

	65) 3'НКП (SEQ ID NO 66)	
Мышь	<p>pAAV CB6 PI mGlut1-out3xmiR-122 CC (SEQ ID NO 67)</p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 68)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 69)</p> <p>промотор СВ (SEQ ID NO 70)</p> <p>mGlut1 кДНК (SEQ ID NO 71)</p> <p>3'НТУ (SEQ ID NO 72)</p> <p>3xmiR-122CC (SEQ ID NO 73)</p> <p>сигнал Poly A (SEQ ID NO 74)</p> <p>3'НКП (SEQ ID NO 75)</p>	mGlut1 экспрессия ПДР
<b>Конструкция EGFP человека</b>		
	<p><i>pAAV CB6 PI hGlut1-EGFP SEQ ID NO:80</i></p> <p>Ключевые признаки конструкции</p> <p>5'НКП (SEQ ID NO 81)</p> <p>энхансер ЦМВ IE (SEQ ID NO 82)</p> <p>промотор СВ (SEQ ID NO 83)</p>	Экспрессирует hGlut1

	eGFP (SEQ ID NO 84) mGlut1 κДНК (SEQ ID NO 85) сигнал Poly A (SEQ ID NO 86) 3' НКП (SEQ ID NO 87)	
--	--	--

### Разработка рекомбинантной конструкции AAV

Были созданы четыре конструкции ДНК, несущие ген *SLC2A1* мыши или человека, связанный с нуклеотидной кассетой, кодирующей репортер в форме зеленого флуоресцентного белка (GFP), как проиллюстрировано на Фиг. 1А-В. Указанные четыре конструкции дополнительно содержат последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую 16 аминокислотный длинный 2А-пептид вируса ящура (ВЯ), который введен между открытыми рамками считывания Glut1 и GFP. Пептид 2А введен в конструкцию, чтобы избежать возможности того, что химерные белки Glut1-GFP могут изменять структуру или активность белка Glut1. Пептид 2А опосредует первичное цис-«расщепление» полипротеина ВЯ в каскаде процессов обработки, которые в конечном счете генерируют зрелые белки ВЯ (Donnelly, M.L. *et al.* (2001)). Предполагалось, что эта стратегия позволит получить конструкции, в которых белок Glut1 образуется в своем нативном состоянии. Однако, как описано ниже, ни одна из этих конструкций не экспрессирует Glut1 на удовлетворительных уровнях.

Дополнительно были разработаны еще шесть ДНК-конструкций без нуклеиновой кислоты, кодирующей 2А-пептид (Фиг. 1С-Д), причем некоторые из них содержат элементы, которые обеспечивают избирательное отключение экспрессии гена *SLC2A1* в печени (Фиг. 1Д). Указанные конструкции были разработаны с целью изучения возможности того, что системное повышение экспрессии гена *SLC2A1* в будущих экспериментах по генной терапии может привести к высокому уровню экспрессии белка в печени, который может усилить процесс гликогенеза и, таким образом, вызвать гипогликемическое состояние. Наконец, конструкции, содержащие исключительно нативный мышинный или

человеческий ген *SLC2A1*, также были сгенерированы для целей контроля (Фиг. 1С). pAAV9 CB6 PI hGlut1, pAAV9 CB6 PI hGlut1 out3xmiR122CC и pAAV9 CB6 PI hGlut1 in3xmiR122CC будут применяться в валидационных экспериментах. Последовательности и ключевые признаки этих конструкций перечислены в Табл. 1 и в соответствующем перечне последовательностей SEQ ID NO 1-97.

### **Начальный анализ экспрессии плазмид rAAV, трансфицированных в клетки CHO**

Две клеточные линии применяли для оценки различных рекомбинантных плазмид в культуре клеток. Одна клеточная линия представляет собой линию клеток яичника китайского хомячка (CHO), другая — линию фибробластов, полученную от пациента Glut1 (Yang et al., 2011). Эксперименты с клеточной культурой и последующий Вестерн-блоттинг показали, что плазмидные конструкции, содержащие 2А-пептид, не экспрессируют ни Glut1, ни GFP на удовлетворительных уровнях. Хотя это было неожиданно, возможно, что в контексте гена *SLC2A1/slc2A1* пептид 2А отрицательно влияет на экспрессию белка. Напротив, было обнаружено, что контрольные конструкции, содержащие только мышинные или человеческие гены *SLC2A1*, экспрессируют устойчивые уровни белка. Ни одна из 2А-содержащих конструкций Glut1 (Фиг. 1А-В) не изучалась в дальнейшем для восстановления экспрессии Glut1 в мутантных модельных системах.

Чтобы обойти трудности экспрессии, возникающие в присутствии 2А-пептида в первых четырех конструкциях (Фиг. 1А-В), тестировали химерный белок hGlut1-eGFP (называемый phGlut1::eGFP). Эксперименты в клеточной культуре показали, что химерный белок не только экспрессируется, но и функционирует в анализе захвата глюкозы. Указанная конструкция (phGlut1::eGFP), а также конструкции, содержащие только мышинный *slc2a1* или человеческий *SLC2A1* гены, предназначены для применения в экспериментах *in vivo* с применением генной терапии на мышинной модели Glut1.

### **Клонирование плазмиды AAV9 и последующая упаковка вирусных векторов**

Конструкцию химерного белка hGlut1-eGFP (phGlut1::eGFP) повторно клонировали в AAV9 для последующей упаковки в вирусный вектор. Чтобы гарантировать продолжение экспрессии белка повторно клонированной конструкцией, её временно трансфицировали клетки яичника китайского хомячка (СНО), и уровни белка исследовали методом Вестерн-блоттинга (Фиг. 2А). Анализ экспрессии белка в клетках СНО показал, что по сравнению с конструкциями, экспрессирующими только кодирующую кДНК hGlut1 или слияние hGlut-eGFP под управлением другого промоторного элемента, плазмиды AAV9-hGlut1-eGFP экспрессирует более низкие уровни Glut1 (Фиг. 2А). Однако модифицированная (AAV9-hGlut1-eGFP) гибридная конструкция продолжала экспрессировать белок Glut1 в эффективном и удовлетворительном количестве. Более того, химерный белок имел значительно больший размер, чем нативный белок hGlut1, как и ожидалось из-за метки GFP на 3'-конце кДНК Glut1 (Фиг. 2А). Указанные результаты согласуются с анализом захвата глюкозы, в котором было обнаружено, что белок hGlut-eGFP увеличивает захват глюкозы клетками СНО (Фиг. 2В). На Фиг. 2С показана GFP-флуоресценция этой конструкции после трансфекции в клетки СНО. Параллельно, гены человека *SLC2A1* и мыши *slc2a1* дополнительно клонировали в плазмиду AAV9 и после трансфекции в фибробласты пациентов обнаружили, что они приводят к экспрессии Glut1 и увеличивают захват глюкозы. Соответственно, каждый был упакован в капсид AAV9 и  $\sim 10^{13}$  копий генома, подготовленных для введения мышам модели Glut1 DS. (Согласно способам, описанным в патенте США № 8734809, а также в Grieger and Samulski 2005 и Grieger and Samulski 2012).

### **Условия упаковки / Распределение**

С целью оптимизации условий для введения конструкций, экспрессирующих Glut1, упакованные в векторы AAV9, было проанализировано распределение вектора AAV9-GFP (Foust, K.D. et al., 2009) у мышей дикого типа. (Согласно способам, описанным в Gao, G.P. и Sena-Esteves, M. (2012), в *Molecular Cloning, Vol 2: A Laboratory Manual* (M.R. Green and J. Sambrook eds.)).

Распределение конструкции AAV9-GFP оценивали в разных тканях мышей дикого типа или новорожденных мышей. Ярко-зеленая флуоресценция была

обнаружена в исследуемых тканях мышей, которым был инъекционно введен AAV9-GFP, но не у мышей, получавших ФСБ/контроль. По существу,  $\sim 4 \times 10^{12}$  геномных копий вектора вводили мышам системно в объеме  $\sim 40$  мкл через ретро-орбитальный синус и височную вену. Результаты этих экспериментов показывают, что вирус AAV9 распространяется в различных нервных и других тканях. В частности, было обнаружено, что высокие уровни направленно действуют на скелетную мышцу, сердце и печень. Тем не менее, значительная флуоресценция GFP наблюдалась в ткани головного мозга, в том числе в Clut1-положительных эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга. Важно отметить, что эти клетки являются предполагаемыми сайтами терапии направленного действия при Glut1 DS.

### Контрольные конструкции AAV9-mGlut1

**Таблица 2**

mGlut1 = pAAV9 CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35-41).

**Таблица 2 - Краткое описание мышей, которым инъекционно вводили Glut1 или основу**

<b>Кол-во животных</b>	<b>Пол</b>	<b>Дата инъекции</b>	<b>Инъекционно вводили</b>
4	Самки	5/19	mGlut1
1	Самцы	5/15	mGlut1
2	Самцы	5/25	mGlut1
2	Самки	5/25	mGlut1
1	Самки	5/25	ФСБ
1	Самцы	5/31	ФСБ
3	Самцы	6/1	ФСБ
2	Самцы	6/6	ФСБ

Одну из конструкций, которые экспрессировали желаемые количества белка mGlut1, упаковывали в вирусный вектор AAV9. Несмотря на то, что эта

конструкция не содержит метки (например, GFP), экспрессия Glut1 из этой конструкции у модельных мышей может сопровождаться оценкой общего белка mGlut1 с помощью анализа методами Вестерн-блоттинга и иммуногистохимии.

Конструкция рAAV9 CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35) была введена в послеродовой день (ПРД) 2 детенышам мыши с мутантным Glut1 через ретро-орбитальную пазуху. Мыши, которым эта конструкция была введена инъекционно, служили контролем для мутантов, инъекционно получавших AAV9-hGlut1-eGFP (SEQ ID NO 80; см. SEQ ID NO 81-87). Девять мутантных мышей инъекционно получали конструкцию AAV9-mGlut1 рAAV9 CB6 PI mGlut1 (Табл. 2). В качестве дополнительного контроля, семи мутантам вводили только основу (ФСБ). Эти мыши будут изучены на предмет функционального улучшения фенотипа заболевания. Это будет осуществляться путем определения уровней захвата глюкозы в ткани головного мозга с помощью ПЭТ-сканирования и путем измерения моторных функций в тестах способности удерживаться на вращающемся барабане и лазать по вертикальному стержню в соответствии со стандартными методиками (см. Kariya et al, 2012).

Одной из конструкций, примененных в экспериментах с заменой генов на модели мышей Glut1 DS, является конструкция AAV9-hGlut1-eGFP (SEQ ID NO 80). Меченый белок Glut1, полученный из этой конструкции, позволит отслеживать распределение белка в различных системах органов, включая Glut1-экспрессирующие эндотелиальные клетки мозга экспериментальных мышей. Это позволит оптимизировать условия обнаружения mGlut1 в мозге мыши. Надежная экспрессия белка mGlut1 в мозге обнаруживается с применением специфичного антитела.

**Восстановление Glut1 у Glut1 DS мутантных мышей избавляет от фенотипа заболевания, как показано на примере избавления от нарушений походки**

Способность рекомбинантного аденоассоциированного вируса 9 (rAAV9) инфицировать несколько типов клеток применялась в качестве признака для повторного введения мышинового гена *Slc2a1* на мышинной модели заболевания у человека. В отсутствие одной аллели *Slc2a1* дикого типа, мыши Glut1 DS

демонстрируют сниженную способность удерживаться на вращающемся барабане, показатель, который, как считается, моделирует моторные поведенческие дефекты, т.е., моторные фенотипы, наблюдаемые у пациентов-людей. Мутантным мышам вводили инъекционно  $\sim 4 \times 10^{11}$  геномных копий AAV9-Glut1, поставляемых конструкцией pAAV9 CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35), или основу (ФСБ) на ПРДЗ. Значения Р вычисляли с применением одностороннего дисперсионного анализа. Восстановление гена *Slc2a1* у мутантных мышей на ПРДЗ приводило к значительному улучшению способности удерживаться на вращающемся барабане (тест, проводимый в стандартных условиях — см. Wang et al., 2006) уже в возрасте 6 недель (Фиг. 3А). Улучшенная способность сохранялась до 20-недельного возраста, после чего эксперимент был прекращен.

В дополнение к улучшенным характеристикам на анализе с вращающимся барабаном (Фиг. 3А) получавшие лечение мыши более проворно обращаются с вертикальным шестом, чем их двойники, получавшие основу (Фиг. 3В). Показатели получавших лечение мутантом были неотличимыми от контрольных однопометных животных дикого типа при тестировании когорт в возрасте от 6 до 12 недель. Полученные результаты дают убедительные доказательства того, что восстановление *Glut1* у мышей *Glut1 DS* ослабляет характеристики моторного фенотипа заболевания у человека, указывая на то, что восстановление гена *Slc2a1* у мутантных модельных мышей свидетельствует о терапевтической ценности.

### **Восстановление *Glut1* у мутантных мышей *Glut1 DS* приводит к повышенной экспрессии гена в нескольких тканях**

Для изучения молекулярной основы улучшения показателей у животных, получавших лечение AAV9-Glut1, оценивали экспрессию мышечного гена *Slc2a1* в ткани мозга и печени животных. Мутантные животные, получавшие лечение pAAV9 CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35), демонстрировали более высокий уровень гена *Slc2a1* в ткани мозга и печени (Фиг. 4А-В). Экстрагировали ткань мозга и печени получавших лечение и контрольных мышей, получали РНК, а затем обрабатывали обратной транскриптазой перед амплификацией транскрипта *Slc2a1* в анализе К-ПЦР.  $\beta$ -актин применяли для нормализации экспрессии гена *Slc2a1*. На Фиг. 4А проиллюстрирована относительная экспрессия гена *Slc2a1* у получавших



лечение мутантов и соответствующих контрольных животных. На Фиг. 4В проиллюстрирована экспрессия *Slc2a1* как процент от экспрессии у мышей  $Glut1^{+/+}$  дикого типа. Праймеры, перекрывающие интрон 1, применяли для амплификации кодирующего *Glut1* транскрипта с помощью количественной ПЦР у получавших лечение мутантов ( $Glut1^{+/-}$ ) и соответствующих контрольных животных (мутанты  $Glut1^{+/+}$  и ФСБ  $Glut1^{+/-}$ ). Мышей подвергали эвтаназии и ткани экстрагировали после транскардиальной перфузии с применением ФСБ. РНК получали с применением набора Qiagen RNeasy в соответствии с инструкциями производителя (Qiagen, Валенсия, Калифорния). РНК обрабатывали обратной транскриптазой в соответствии со стандартными методиками и следующими праймерами, применяемыми для амплификации транскрипта, кодирующего *Glut1*: *Glut1*QPCR F1: 5' CTT GCT TGT AGA GTG ACG ATC 3' (SEQ ID NO 76) и *Glut1*QPCR R1: 5' CAG TGA TCC GAG CAC TGC TC 3' (SEQ ID NO 77). Ожидаемую полосу 212 п.о. определяли количественно в Eppendorf Realplex Cyclex (Eppendorf, Германия).

Неожиданно, экспрессия гена в обработанной мутантной печени превышала уровни в такой же ткани контрольных животных  $Glut1^{+/+}$ , что соответствовало более ранним сообщениям (Foust et al, 2010) о том, что вирус AAV9-*Glut1* обладает определенной степенью тропности в отношении печени. В небольшой когорте мышей ДТ, которым вводили вирус, это также приводило к гипогликемии, что, вероятно, было следствием активизации *Slc2a1* в этой ткани и, следовательно, удаления глюкозы из крови. Соответственно, рассматривается подавление экспрессии *Slc2a1* с применением конструкций, содержащих сайты связывания микроРНК-122 (как показано на Фиг. 1D и охватывается SEQ ID NO 42-75). МикроРНК-122 специфически экспрессируется в печени и подавляет экспрессию генов, с транскриптами которых она связывается (Xie et al., 2011). Физиологические последствия этого открытия будут предметом дополнительных исследований.

**Повышение уровня белка *Glut1* в мозге и глюкозы СМЖ у мутантных мышей, получавших AAV9-*Glut1*: восстановление *Glut1* смягчает гипогликемию у модельных мышей *Glut1* DS**

Определяющим признаком Glut1 DS является гипогликорахия (низкий уровень глюкозы в спинномозговой жидкости). Этот фенотип демонстрируют мыши модели Glut1 DS. Чтобы определить, будет ли восстановление Glut1 у модельных мышей устранять или смягчать гипогликорахию, извлекали кровь и спинномозговую жидкость (СМЖ) животных и измеряли уровни глюкозы. Перед проведением измерений все мыши голодали на протяжении ночи. СМЖ извлекали из мозжечково-мозговой цистерны, в основном следуя описанной ранее методике (Wang *et al.*, 2006; Fleming *et al.*, 1983). Вкратце, был сделан разрез от верхушки черепа до дорсального отдела грудной клетки, мышцы от основания черепа до первых позвонков удаляли, чтобы обнажить мозговые оболочки над мозжечково-мозговой цистерной. Ткань над мозжечково-мозговой цистерной иссекали, чтобы не проколоть полупрозрачные мозговые оболочки. После того как окружающая область была очищена от остаточной крови/интерстициальной жидкости, использовали микропипетку, соединенную с иглой 30G, для прокола арахноидальной мембраны, покрывающей мозжечково-мозговую цистерну, и извлекали 5-15 мкл СМЖ. Вся методика занимала 5 минут, а уровень глюкозы СМЖ, измеренный с помощью глюкометра Ascensia Elite XL (Bayer Corp.), аналогичным образом определяли до извлечения СМЖ, отбирая ~10 мкл крови из надреза на хвосте. Оценивали два показателя для каждой из концентраций глюкозы в крови и СМЖ для каждой мыши. Приводится среднее значение.

Что касается значений глюкозы СМЖ и стадий заболевания, то типичны являются следующие диапазоны: у более чем 90 % пациентов с Glut1 значения глюкозы СМЖ составляют < 40 мг/дл (2,2 мМ), у остальных пациентов значения находятся в диапазоне 41-52 мг/дл. Таким образом, нормальный диапазон для уровней глюкозы СМЖ составляет  $\geq$  около 53 мг/дл. Для модельных мышей Glut1 DS типичный уровень глюкозы СМЖ составляет около  $23,3 \pm 7,17$  мг/дл (в пределах диапазона  $< 25,0 \pm 8,00$  мг/дл); тогда как для мышей дикого типа указанный уровень составляет около  $74,6 \pm 14,1$  мг/дл (в пределах  $\geq$  около  $70,0 \pm 15,0$  мг/дл).

Кроме того, количественная оценка функции захвата глюкозы эритроцитами часто применяется в качестве суррогатной для гаплонедостаточности Glut1. В этом анализе образцы пациентов с проявлениями Glut1 DS демонстрируют захват около

50 % поглощения, с диапазоном 36-73 %. По оценкам, активность  $\geq 75$  % соответствует нормальному диапазону. Отмечается, что  $< 25$  % свидетельствует от тяжелом нарушении, а при 0 % состояния приближается к эмбриолетальности.

Восстановление гена *slc2a1* у мутантных мышей Glut1 DS путем трансфекции конструкцией pAAV9 CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35) приводит к повышению экспрессии Glut1 (Фиг. 5A). Кроме того, получавшие лечение мутантные мыши Glut1 DS экспрессируют повышенные уровни белка Glut1 в ткани головного мозга (Фиг. 5B). На Фиг. 5C концентрации глюкозы в СМЖ получавших лечение мутантов были значительно выше, чем концентрации у нелеченных мутантов, но не достигали уровней, наблюдаемых у контрольных животных дикого типа. Мыши-мутанты с восстановленным *slc2a1* демонстрировали повышенный уровень глюкозы в СМЖ/крови (Фиг. 5D). Размеры выборки составляют  $n = 8$  для нелеченных мутантных мышей и  $n = 9$  для получавших лечение мутантных мышей. Кроме того, в когорте дикого типа  $n = 18$ . Эти данные показывают, что восстановление Glut1 у мутантов Glut1 DS повышает уровни глюкозы в СМЖ и уменьшает гипогликорахию у пораженных животных. В совокупности эти результаты являются очевидным свидетельством терапевтических преимуществ восстановления Glut1 у субъекта с дефицитом Glut1. Предварительные результаты проведенных экспериментов показывают, что восстановление Glut1 у указанных взрослых мышей с симптомами не позволяет устранить фенотип заболевания, указывая на ограниченное терапевтическое окно возможностей у мышей и, вероятно, у человека.

### **Восстановление Glut1 у мышей с симптомами — расписание введения Glut1**

Восстановление экспрессии Glut1 у модельных мышей в раннем возрасте в ходе заболевания (примером чего является инъекция ПРДЗ конструкции AAV9-mGlut1) у мышей Glut1 DS имеет явную терапевтическую ценность. Чтобы определить временные рамки восстановления Glut1 у мышей с симптомами, были начаты эксперименты, предусматривающие инъекцию конструкций pAAV CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35) мутантным мышам в возрасте 8 недель. Мыши Glut1 DS в этом возрасте демонстрируют явные симптомы, с более низкими показателями на вращающемся барабане, чем у контрольных однопометных животных дикого типа.

Соответственно, когорте мышей Glut1 DS системно вводили основу или  $1 \times 10^{12}$  геномных копий AAV9-mGlut1. Все мыши хорошо переносили процедуру, что указывает на безопасность инъекция вируса взрослым грызунам. Молекулярные, клеточные и поведенческие анализы, подобные описанным выше, проводили для определения временных рамок, которые позволяют лечить/облегчать симптомы дефицита Glut1, а также любые временные рамки для обращения протекания фенотипа заболевания.

### **Уточнение терапевтического окна возможностей на модели Glut1 DS**

Представленные данные демонстрируют, что опосредованное AAV9 восполнение белка Glut1 (мышь) у *новорожденных* (ПРД3) мышей Glut1 DS повышает экспрессию Glut1, смягчает гипогликорахию, типично наблюдаемую при заболевании, восстанавливает размеры мозга и приводит к заметному улучшению моторных показателей. Напротив, *восполнение Glut1 в возрасте 8 недель не устраняет* фенотип заболевания. Полученные результаты свидетельствуют о том, что существует ограниченное терапевтическое окно возможностей у модельных мышей Glut1 DS, что, вероятно, будет отражать состояние человека. Кроме того, предварительные данные указывают на значительно пониженные уровни глюкозы СМЖ у мутантных мышей уже в возрасте 2 недель (мутанты:  $23,25 \pm 3,77$  мг/дл, контроль:  $53,33 \pm 5,20$  мг/дл,  $P < 0,01$ ,  $t$  тест). Тем не менее, неясно, будет ли восстановление Glut1 на этом этапе, до очевидного проявления фенотипа, давать терапевтический эффект.

Чтобы определить исход восполнения Glut1 на этой ранней стадии заболевания — *сродни лечению пациентов, которым был поставлен диагноз в детском возрасте, но у которых тем не менее болезнетворные эффекты дефицита Glut1 не проявлялись во время младенчества*, мутантным мышам будет систематически вводиться вектор pAAV9 CB6 PI mGlut1 (SEQ ID NO 35). Вкратце,  $\sim 10^{12}$  геномных копий терапевтического вектора основы в объеме  $\sim 50$  мкл будут вводиться в височную вену 2-недельных мышей. Затем состояние животных будут оценивать с применением комплексной батареи молекулярных (анализ методом Вестерн-блоттинга, анализы методом К-ПЦР, уровни глюкозы в СМЖ и крови), томографических (ПЭТ-сканирование) и поведенческих анализов (тест на

вращающихся барабанах, вертикальном шесте) для определения результата восстановления функционального белка на этой «ювенильной» стадии у мышей. Эти эксперименты будут дополнять результаты, полученные при лечении новорожденных (ПРД3), с одной стороны, и на модели взрослых животных (8 недель), с другой, и уточнять терапевтическое окно возможностей при Glut1 DS.

### **Оценка сочетанных эффектов раннего лечения кетогенной диетой и позднего восполнения белка Glut1 у модельных мышей Glut1 DS**

Хотя ясно, что восстановление Glut1 у взрослых мышей (8 недель) не уменьшало выраженности фенотипа Glut1 DS, но, возможно, предварительное лечение этих мышей диетой с высоким содержанием жиров могло бы привести к более благоприятному исходу. Мыши на таких диетах более точно отображают когорту пациентов с Glut1 DS старшего возраста, которые, возможно, пропустили идеальное для лечения терапевтическое окно, но, тем не менее, могут выиграть от позднего восполнения белка Glut1 благодаря ранним защитным эффектам кетогенной диеты. Такие диеты снабжают мозг кетонами, альтернативным, хотя и несовершенным источником энергии, который проходит сквозь гематоэнцефалический барьер с помощью монокарбокисильных переносчиков. Соответственно, в дополнение к нашим экспериментам на двухнедельных мышах мы будем изучать эффекты восстановления Glut1 у взрослых (6-8 недель) мутантов, которые получали (начиная с ПРД7) триглицерид тригептаноин 7C. Тригептаноин, который в настоящее время проходит клинические испытания при Glut1 DS, не только метаболизируется до ацетил-КоА для цикла ТКК, но также считается способным обеспечить основные анаэробные субстраты для цикла, поскольку питательные вещества в конечном итоге разрушаются, чтобы обеспечить энергетические потребности клетки. Вкратце, этот эксперимент будет включать лечение мутантов (82 мг/г) или без тригептаномина до тех пор, пока им не будет введена конструкция AAV9-Glut1 (pAAV9 CB6 PI mGlut1). Затем состояние различных когорт мышей будет оцениваться, как описано выше, в качестве средства прогнозирования терапевтического результата восстановления экспрессии Glut1 у пациентов старшего возраста, получающих доступные в настоящее время терапевтические средства (кетогенная диета).

## Оптимизация конструкций *Glut1* для клинических испытаний

Хотя до сих пор не наблюдалось никаких неблагоприятных эффектов экспрессии *slc2a1* у мышей *Glut1* DS, предварительные исследования небольшой выборки мышей дикого типа, которым вводили вектор pAAV9 CB6 PI m*Glut1* (SEQ ID NO 35), показали снижение уровня глюкозы в СМЖ и крови. Это неожиданное событие может быть вызвано повышением экспрессии *slc2a1* в печени, предпочтительном органе-мишени AAV9 и, как следствие, усилением переноса глюкозы в эту ткань. Конечным результатом является снижение уровня глюкозы в кровотоке, что отображается в состоянии гипогликемии. С учетом такого события конструкция h*Glut1* (pAAV CB6 PI h*Glut1*) будет модифицирована таким образом, чтобы исключить высокие уровни ее экспрессии в печени — органе, в отношении которого AAV9 обладает особенно высокой тропностью (Zincarelli et al, 2008; Pasak et al, 2006). Для этого в конструкции будут введены сайты связывания (СС) для микроРНК — miR-122 (специфично экспрессирующиеся в гепатоцитах). Такая стратегия была успешно реализована ранее (см. Xie et al, 2011) и использует преимущество микроРНК-опосредованного эндонуклеолитического расщепления мРНК-мишеней, тем самым ограничивая экспрессию транскрипта в целевых тканях. Такие конструкции, проиллюстрированные на Фиг. 1D и в Табл. 1 (pAAV CB6 PI h*Glut1*-in3xmiR-122 СС, pAAV CB6 PI h*Glut1*-out3xmiR-122 СС, pAAV CB6 PI m*Glut1*-in3xmiR-122, pAAV CB6 PI m*Glut1*-out3xmiR-122) будут изучаться на подмножестве мышей вместе с оригинальными (немодифицированными) векторами экспрессии *Glut1*, с целью изучения каждого на предмет уровней экспрессии *Glut1* и терапевтической эффективности. Повышенная склонность исходной конструкции вызывать гипогликемию будет указывать на преимущества применения новых конструкций *Glut1*-микроРНК-СС в последующих экспериментах и испытаниях.

Для оптимизации экспрессии тестовых конструкций, описанных в настоящем документе, не только в качестве средства снижения титров вируса во время производственного процесса, но также для решения проблем безопасности, связанных с большими концентрациями вируса, гены *SLC2A1* и *slc2a1* будут оцениваться с применением процесса оптимизации кодонов и свободно доступного программного обеспечения (<https://www.idtdna.com/CodonOpt>). Кроме того, по мере

необходимости в конструкции будут вводиться консенсусные последовательности Козака. Таким образом, любая из конструкций или элементов, описанных в Табл. 1, может быть кодон-оптимизирована таким способом. Каждая из модифицированных конструкций будет тестироваться параллельно с родительскими конструкциями у мышей. Вкратце, конструкции будут вводиться системно через височную вену детенышам мыши ПРД3. Затем животных будут подвергать эвтаназии через две или три недели, и уровни белка для из каждой из конструкций определять методами к-ПЦР и Вестерн-блоттингом. Конструкции, обеспечивающие самые быстрые и высокие уровни экспрессии, будут рассматриваться для возможного применения в исследованиях на приматах, отличных от человека, и в конечном итоге для клинических испытаний.

### **Исследования на приматах, отличных от человека**

С целью определения биораспределения, экспрессии и токсичности выбранной(ых) нами конструкции(ий) на модели крупного млекопитающего, вирусный(ые) вектор(ы) будет вводиться когорту яванских макак. Вкратце, 6 животным в ПРД1, ПРД90 и в возрасте 2 года будут системно вводить вектор AAV9 в дозе  $5 \times 10^{13}$  копий генома/кг. Для определения острой токсичности конструкции(ий) у животных будут брать образцы крови через 1 день, 3 дня и 7 дней после введения вектора. Кроме того, у животных будут брать образцы крови через 2, 3 и 4 недели после инъекции вектора. В каждом случае будут оцениваться важные параметры клинической химии и гематологии. Титры нейтрализующих антител к AAV9 будут контролироваться в образцах сыворотки с помощью количественного анализа нейтрализующих антител на основе трансдукции (Rapti et al, 2012), а присутствие трансен- или капсидспецифичных Т-клеток в МПКК будет оцениваться с применением методов окрашивания на основе метода иммуноферментных пятен, окрашивания внутриклеточных цитокинов и проточной цитометрии (Walker et al, 2001). В дополнение к упомянутым выше иммунологическим исследованиям, три животных из каждой когорты будут подвергнуты эвтаназии на 4-й неделе для изучения гистопатологических показателей, биораспределения вектора и анализа экспрессии трансгена во всех основных системах органов. Дополнительно, эти эксперименты позволят изучить и

сравнить иммунные ответы В- и Т-клеток на капсид или трансген в сыворотке, лимфоцитах и МКПК в начале против позднего периода после введения вируса. Для проведения долгосрочного исследования безопасности за состоянием оставшихся 3 животных в каждой группе будут наблюдать в течение 3-месячного периода, в течение которого каждый месяц будут отбираться образцы крови для изучения показателей клинической химии и гематологии, как описано выше. Эти животные в конечном итоге будут подвергнуты эвтаназии через 3 месяца после инъекций с проведением анализов, описанных в исследованиях острой токсичности. Возможно, белок Glut1 человека, несмотря на гомологию ~99 % с Glut1 яванского макака, будет вызывать агрессивный иммунный ответ. Чтобы исключить это, в тестовые конструкции будут введены два сайта связывания микроРНК для miR-142-3p и miR-155. Предварительные результаты независимого исследования показывают, что указанные микроРНК экспрессируются в антигенпрезентирующих клетках и, следовательно, подавляют экспрессию белков, транскрипты которых содержат сайты связывания с микроРНК. В совокупности, эти исследования будут способствовать возможному применению тестовых конструкций Glut1, описанных в настоящем документе, в клинических испытаниях.

## Ссылки

1. De Vivo DC, Trifiletti RR, Jacobson RI, Ronen GM, Behmand RA, Harik SI. (1991). Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycorrhachia, seizures, and developmental delay. *N. Engl. J. Med.*, 325, 703-709.
2. Donnelly, M.L. et al. (2001). The 'cleavage' activities of foot-and-mouth disease virus 2A site directed mutants and naturally occurring '2A-like' sequences. *J. Gen. Virol.* 82, 1027–1041.
3. Foust, K.D., Nurre, E., Montgomery, C.L., Hernandez, A., Chan, C.M. and Kaspar, B.K. (2009). Intravascular AAV9 preferentially targets neonatal neurons and adult astrocytes. *Nat. Biotech.* 27, 59-65.
4. Pearson TS, Akman C, Hinton VJ, Engelstad K, De Vivo DC. (2013) Phenotypic spectrum of glucose transporter type 1 deficiency syndrome (Glut1 DS). *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 13, 342.



5. De Giorgis V and Veggiotti, P. (2013) Glut1 deficiency syndrome 2013: Current state of the art. *Seizure* 22, 803-811.
6. Wang D, Pascual JM, Yang H, Engelstad K, Mao X, Cheng J, Yoo J, Noebels JL, De Vivo DC (2006) A mouse model for Glut-1 haploinsufficiency. *Hum. Mol. Genet.* 15, 1169-1179.
7. Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Lienhard GE, Lodish HF (1985) Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 229, 941-945.
8. Seidner G, Alvarez MG, Yeh JI, O'Driscoll KR, Klepper J, Stump TS, Wang D, Spinner NB, Birnbaum MJ, De Vivo DC (1998) GLUT-1 deficiency syndrome caused by haploinsufficiency of the blood-brain barrier hexose carrier. *Nat Genet.* 18, 188-191.
9. Yang H, Wang D, Engelstad K, Bagay L, Wei Y, Rotstein M, Aggarwal V, Levy B, Ma L, Chung WK, De Vivo DC (2011) Glut1 deficiency syndrome and erythrocyte glucose uptake assay. *Ann Neurol* 70, 996-1005.
10. Grieger JC, Samulski RJ (2005) Adeno-associated virus as a gene therapy vector: vector development, production and clinical applications. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 99, 119-145.
11. Grieger JC, Samulski RJ (2012) Adeno-associated virus vectorology, manufacturing, and clinical applications. *Methods Enzymol.* 507, 229-254.
12. Kariya S, Re DB, Jacquier A, Nelson K, Przedborski S, Monani UR (2012) Mutant superoxide dismutase 1 (SOD1), a cause of amyotrophic lateral sclerosis, disrupts the recruitment of SMN, the spinal muscular atrophy protein to nuclear Cajal bodies. *Hum Mol Genet.* 21,3421-3434.
13. Foust KD, Wang X, McGovern VL, Braun L, Bevan AK, Haidet AM, Le TT, Morales PR, Rich MM, Burghes AH, Kaspar BK (2010) Rescue of the spinal muscular atrophy phenotype in a mouse model by early postnatal delivery of SMN. *Nat. Biotech.* 28, 271-274.
14. Fleming JO, Ting JY, Stohlman SA, Weiner LP (1983) Improvements in obtaining and characterizing mouse cerebrospinal fluid. Application to mouse hepatitis virus-induced encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 4,129-140.

15. Gao, G.P., and Sena-Esteves, M. (2012). Introducing Genes into Mammalian Cells: Viral Vectors. In *Molecular Cloning, Vol 2: A Laboratory Manual* (M.R. Green and J. Sambrook eds.) pp. 1209-1313. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
16. Rapti K, Louis-Jeune V, Kohlbrenner E, Ishikawa K, Ladage D, Zolotukhin S, Hajjar RJ, Weber (2012) Neutralizing antibodies against AAV serotypes 1, 2, 6, and 9 in sera of commonly used animal models. *Mol. Ther.* 20, 73-83.
17. Goulder PJ, Addo MM, Altfeld MA, Rosenberg ES, Tang Y, Govender U, Mngqundaniso N, Annamalai K, Vogel TU, Hammond M, Bunce M, Coovadia HM, Walker BD (2001) Rapid definition of five novel HLA-A\*3002-restricted human immunodeficiency virus-specific cytotoxic T-lymphocyte epitopes by elispot and intracellular cytokine staining assays. *J. Virol.* 75, 1339-1347.

Многие модификации и варианты реализации настоящего изобретения могут быть осуществлены без выхода за его пределы, как будет очевидно для специалистов в данной области техники. Объем изобретения определяется объемом прилагаемой формулы изобретения, вместе с полным объемом эквивалентов, к которым применима указанная формула. Конкретные варианты реализации изобретения, описанные в настоящем документе, в том числе следующие примеры, предлагаются только с целью иллюстрации и не ограничивают объем изобретения.

Все ссылки, приведенные в настоящем документе, включены посредством ссылки в такой же степени, как если бы каждая отдельная публикация, запись в базе данных (например, последовательности Genbank или записи GenelD), патентная заявка или патент, была специально и отдельно указана как включенная посредством ссылки. Настоящее заявление о включении посредством ссылки делается Заявителями в соответствии с 37 CFR §1.57(b)(1) как относящееся к каждой отдельной публикации, запись в базе данных (например, последовательности Genbank или записи GenelD), патентной заявке или патенту, каждый из которых четко идентифицирован в соответствии с 37 C.F.R. §1.57(b)(2), даже если рядом с такой ссылкой не приведено непосредственно специальное заявление о включении посредством ссылки. Включение специальных заявлений о включении посредством ссылки, если таковые имеются, в описание никоим

образом не ослабляет действия настоящего общего заявления о включении посредством ссылки. Цитирование ссылок в настоящем документе не предназначено для признания того, что ссылка имеет отношение к предшествующим уровням техники, и не представляет собой никакого допущения относительно содержания или даты этих публикаций или документов.

Объем настоящего изобретения не должен ограничиваться конкретными вариантами реализации изобретения, описанными в настоящем документе. В действительности, различные модификации изобретения, в дополнение к описанным в настоящем документе, будут очевидными для специалистов в данной области техники из предшествующего описания и сопроводительных графических материалов. Такие модификации охватываются прилагаемой формулой изобретения.

Предшествующее письменное описание считается достаточным для того, чтобы позволить специалисту в данной области техники внедрить изобретение. Различные модификации изобретения, в дополнение к тем, которые описаны и проиллюстрированы в настоящем документе, будут очевидными для специалистов в данной области техники из предшествующего описания и находятся в объеме прилагаемой формулы изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK  
UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS MEDICAL CENTER

<120> РЕКОМБИНАНТНЫЕ КОНСТРУКЦИИ GLUT1 АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА  
И СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ GLUT1 НА ИХ ОСНОВЕ

<130> 01001/003887-WO0

<140>  
<141>

<150> 62/130,899  
<151> 2015-03-10

<160> 97

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1  
<211> 7109  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> pAAV CB6 PI EGFP-2A-hGlut1

<400> 1  
gccttaatta ggctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt 60  
cgggcgacct ttggctgccc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtgggc 120  
aactccatca ctaggggttc cttgtagtta atgattaacc cgccatgcta cttatctacc 180  
agggtaatgg ggatcctcta gaactatagc tagtcgacat tgattattga ctagttatta 240  
atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata 300  
acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat 360  
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga 420  
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc 480  
ccctattgac gtcaatgacg gtaaattggc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt 540  
atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatgtcgag 600  
gccacgttct gcttactct ccccatctcc cccccctccc ccccccaat tttgtattta 660  
tttatttttt aattattttg tgcagcgatg ggggccccgg gggggggcgc gcgccaggcg 720  
gggcggggcg gggcgagggg cggggcgggg cgaggcggag aggtgccccg gcagccaatc 780  
agagcggcgc gctccgaaag tttcctttta tggcgaggcg gcggcgggcg cggccctata 840  
aaaagcgaag cgcgcgggcg gcgggagcaa gctttattgc ggtagtttat cacagttaaa 900  
ttgctaacgc agtcagtgct tctgacacaa cagtctcgaa cttaagctgc agaagttggg 960

cgtgaggcac	tgggcaggta	agtatcaagg	ttacaagaca	ggtttaagga	gaccaataga	1020
aactgggctt	gtcgagacag	agaagactct	tgcgtttctg	ataggcacct	attggtctta	1080
ctgacatcca	ctttgccttt	ctctccacag	gtgtccactc	ccagttcaat	tacagctctt	1140
aaggctagag	tacttaatac	gactcactat	aggctagtaa	tacgactcac	tatagatggt	1200
gagcaagggc	gaggagctgt	tcaccggggg	ggtgcccata	ctggtcgagc	tggacggcga	1260
cgtaaacggc	cacaagttca	gcggtgtccg	cgagggcgag	ggcgatgcca	cctacggcaa	1320
gctgaccctg	aagttcatct	gcaccaccgg	caagctgccc	gtgccctggc	ccaccctcgt	1380
gaccaccctg	acctacggcg	tgcaagtgtt	cagccgctac	cccgaccaca	tgaagcagca	1440
cgacttcttc	aagtccgcca	tgcccgaagg	ctacgtccag	gagcgcacca	tcttcttcaa	1500
ggacgacggc	aactacaaga	cccgcgccga	ggtgaagttc	gagggcgaca	ccctggtgaa	1560
ccgcatcgag	ctgaagggca	tcgacttcaa	ggaggacggc	aacatcctgg	ggcacaagct	1620
ggagtacaac	tacaacagcc	acaacgtcta	tatcatggcc	gacaagcaga	agaacggcat	1680
caaggtgaac	ttcaagatcc	gccacaacat	cgaggacggc	agcgtgcagc	tcgccgacca	1740
ctaccagcag	aacaccccca	tcggcgacgg	ccccgtgctg	ctgcccgaca	accactacct	1800
gagcaccag	tccgccctga	gcaaagacc	caacgagaag	cgcgatcaca	tggctctgct	1860
ggagtctgtg	accgccgccg	ggatcactct	cggcatggac	gagctgtaca	agaatcttga	1920
ccttcttaag	cttgccgggag	acgtcgagtc	caaccctggg	cccatggagc	ccagcagcaa	1980
gaagctgacg	ggtcgcctca	tgctggccgt	gggaggagca	gtgcttggct	ccctgcagtt	2040
tggctacaac	actggagtca	tcaatgcccc	ccagaaggtg	atcgaggagt	tctacaacca	2100
gacatgggtc	caccgctatg	gggagagcat	cctgcccacc	acgctcacca	cgctctggtc	2160
cctctcagtg	gccatctttt	ctggtggggg	catgattggc	tccttctctg	tgggcctttt	2220
cgtaaacgc	tttggccggc	ggaattcaat	gctgatgatg	aacctgctgg	ccttcgtgtc	2280
cgccgtgctc	atgggcttct	cgaaactggg	caagtccttt	gagatgctga	tcctggggccg	2340
cttcatcatc	ggtgtgtact	gtggcctgac	cacaggcttc	gtgcccatgt	atgtgggtga	2400
agtgtcacc	acagcccttc	gtggggccct	gggcaccctg	caccagctgg	gcatcgtcgt	2460
cggcatcctc	atcggccagg	tgttcggcct	ggactccatc	atgggcaaca	aggacctgtg	2520
gccctgctg	ctgagcatca	tcttcatccc	ggccctgctg	cagtgcacg	tgctgccctt	2580
ctgccccgag	agtccccgct	tcctgctcat	caaccgcaac	gaggagaacc	gggccaagag	2640
tgtgctaaag	aagctgcgcg	ggacagctga	cgtgaccat	gacctgcagg	agatgaagga	2700
agagagtcgg	cagatgatgc	gggagaagaa	ggtcaccatc	ctggagctgt	tccgctcccc	2760
cgctaccgc	cagcccatcc	tcatcgctgt	ggtgctgcag	ctgtcccagc	agctgtctgg	2820
catcaacgct	gtcttctatt	actccacgag	catcttcgag	aaggcggggg	tgcagcagcc	2880

tgtgatgcc	accattggct	ccggtatcgt	caacacggcc	ttcactgtcg	tgtecgctggt	2940
tgtggtggag	cgagcaggcc	ggcggaccct	gcacctcata	ggcctcgctg	gcatggcggg	3000
ttgtgccata	ctcatgacca	tcgcgctagc	actgctggag	cagctacccc	ggatgtccta	3060
tctgagcatc	gtggccatct	ttggctttgt	ggccttcttt	gaagtgggtc	ctggccccat	3120
cccatggttc	atcgtggctg	aactcttcag	ccaggggtcca	cgtccagctg	ccattgcccgt	3180
tgcaggcttc	tccaactgga	cctcaaattt	cattgtgggc	atgtgcttcc	agtatgtgga	3240
gcaactgtgt	ggtccttacg	tcttcatcat	cttcaactgtg	ctcctggttc	tgttcttcat	3300
cttcacctac	ttcaaagtcc	ctgagactaa	aggccggacc	ttcgatgaga	tcgcttccgg	3360
cttccggcag	gggggagcca	gccaaagtga	caagacaccc	gaggagctgt	tccatcccct	3420
gggggctgat	tccaagtgt	gagtcgcccc	agatcaccag	cccggcctgc	tcccagcagc	3480
cctaaggatc	tctcaggagc	acaggcagct	ggatgagact	tccaaacctg	acagatgtca	3540
gccgagccgg	gcctggggct	cctttctcca	gccagcaatg	atgtccagaa	gaatattcag	3600
gacttaacgg	ctccaggatt	ttaacaaaag	caagactggt	gctcaaactc	attcagacaa	3660
gcaacagggt	ttataatttt	tttattactg	atthttgttat	ttttatatca	gcctgagtct	3720
cctgtgcca	catcccaggc	ttcacctga	atggttccat	gcctgagggt	ggagactaag	3780
ccctgtcgag	acacttgctt	tcttcacca	gctaactctgt	agggctggac	ctatgtccta	3840
aggacacact	aatcgaacta	tgaactacaa	agcttctatc	ccaggagggtg	gctatggcca	3900
cccgttctgc	tggcctggat	ctctcgagga	cgggggtgaac	tacgcctgag	gatccgatct	3960
ttttccctct	gccaaaatt	atggggacat	catgaagccc	cttgagcatc	tgacttctgg	4020
ctaataaagg	aaattttatt	tcattgcaat	agtgtgttgg	aattttttgt	gtctctcact	4080
cggaagcaat	tcgttgatct	gaatttcgac	caccataat	accattacc	ctggtagata	4140
agtagcatgg	cggtttaatc	attaactaca	aggaaccctt	agtgatggag	ttggccactc	4200
cctctctgcg	cgctcgctcg	ctcaactgag	ccgggcgacc	aaaggctcgc	cgacgcccgg	4260
gctttgcccg	ggcggcctca	gtgagcgagc	gagcgcgcag	ccttaattaa	cctaattcac	4320
tggccgctct	tttacaacgt	cgtgactggg	aaaaccctgg	cgttacccaa	cttaatcgcc	4380
ttgcagcaca	tccccctttc	gccagctggc	gtaatagcga	agaggcccgc	accgatcgcc	4440
cttccaaca	gttgctcagc	ctgaatggcg	aatgggacgc	gccctgtagc	ggcgcattaa	4500
gcgcgccggg	tgtggtgggt	acgcgcagcg	tgaccgctac	acttgccagc	gccctagcgc	4560
ccgctccttt	cgctttcttc	ccttcctttc	tcgccacggt	cgccggcttt	ccccgtcaag	4620
ctctaaatcg	ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	4680
aaaaacttga	ttaggggtgat	ggttcacgta	gtgggcatc	gccctgatag	acggtttttc	4740
gccctttgac	gttggagtcc	acgttcttta	atagtggact	cttgttccaa	actggaacaa	4800

cactcaacc	tatctcggtc	tattcttttg	atataaagg	gattttgccc	atttcggcct	4860
attggttaa	aatgagctg	atttaacaaa	aatttaacgc	gaattttaac	aaaatattaa	4920
cgcttacaat	ttaggtggca	cttttcgggg	aatgtgccc	ggaacccta	ttgtttatt	4980
tttctaaata	cattcaaata	tgtatccgct	catgagacaa	taaccctgat	aatgcttca	5040
ataatattga	aaaaggaaga	gtatgagtat	tcaacatttc	cgtgtcgc	ttattccctt	5100
ttttgcccga	ttttgccttc	ctgtttttgc	tcaccagaa	acgctggtga	aagtaaaaga	5160
tgctgaagat	cagttgggtg	cacgagtggg	ttacatcgaa	ctggatctca	acagcggtaa	5220
gatccttgag	agttttcgc	ccgaagaacg	ttttccaatg	atgagcactt	ttaaagttct	5280
gctatgtggc	gcggtattat	cccgtattga	cgccgggcaa	gagcaactcg	gtcgcgcgat	5340
acactattct	cagaatgact	tggttgagta	ctcaccagtc	acagaaaagc	atcttacgga	5400
tggcatgaca	gtaagagaat	tatgcagtgc	tgccataacc	atgagtgata	acactgccc	5460
caacttactt	ctgacaacga	tcggaggacc	gaaggagcta	accgcttttt	tgcacaacat	5520
gggggatcat	gtaactcgc	ttgatcgttg	ggaaccggag	ctgaatgaag	ccataccaaa	5580
cgacgagcgt	gacaccacga	tgctgtgagc	aatggcaaca	acgttgccga	aactattaa	5640
tggcgaacta	cttactctag	cttcccggca	acaattaata	gactggatgg	aggcggataa	5700
agttgcagga	ccacttctgc	gctcggccct	tccggctggc	tggtttattg	ctgataaatc	5760
tggagccggg	gagcgtgggt	ctcgcggtat	cattgcagca	ctggggccag	atggtaagcc	5820
ctcccgtatc	gtagttatct	acacgacggg	gagtcaggca	actatggatg	aacgaaatag	5880
acagatcgc	gagataggtg	cctcactgat	taagcattgg	taactgtcag	accaagttta	5940
ctcatatata	ctttagattg	atttaaaact	tcatttttaa	tttaaaagga	tctaggtgaa	6000
gatccttttt	gataatctca	tgacaaaaat	cccttaacgt	gagttttcgt	tccactgagc	6060
gtcagacccc	gtagaaaaga	tcaaaggatc	ttcttgagat	cctttttttc	tgcgcgtaat	6120
ctgctgcttg	caacaaaaa	aaccaccgct	accagcgggtg	gtttgtttgc	cggtcaaga	6180
gctaccaact	ctttttccga	aggtaactgg	cttcagcaga	gcccagatac	caaatactgt	6240
tcttctagtg	tagccgtagt	taggccacca	cttcaagaac	tctgtagcac	cgctacata	6300
cctcgcctctg	ctaactctgt	taccagtggc	tgctgccagt	ggcgataagt	cgtgtcttac	6360
cggttgac	tcaagacgat	agttaccgga	taaggcgcag	cggtcgggct	gaacgggggg	6420
ttcgtgcaca	cagcccagct	tggagcgaac	gacctacacc	gaactgagat	acctacagcg	6480
tgagctatga	gaaagccca	cgcttcccga	agggagaaag	gcccagaggt	atccggtaag	6540
cggcagggtc	ggaacaggag	agcgcacgag	ggagcttcca	gggggaaacg	cctggtatct	6600
ttatagtcct	gtcgggtttc	gccacctctg	acttgagcgt	cgatttttgt	gatgctcgtc	6660
agggggggcgg	agcctatgga	aaaacgccag	caacgcggcc	tttttacggt	tctggcctt	6720

ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg	6780
tattaccgcc tttgagtgag ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga	6840
gtcagtgagc gaggaagcgg aagagcgcgc aatacgc aaa cgcctctcc cgcgcggtg	6900
gccgattcat taatgcagct ggcacgacag gtttcccgcac tggaaagcgg gcagtgagcg	6960
caacgcaatt aatgtgagtt agctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct	7020
tccggctcgt atgttggtg gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta	7080
tgaccatgat tacgccagat ttaattaag	7109

<210> 2  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 5'ИКП

<400> 2	
ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgctg ggcgacctt	60
ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact	120
aggggttcct	130

<210> 3  
 <211> 382  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> энхансер ЦМВ IE

<400> 3	
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc	60
atagcccata tatggagtcc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac	120
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca	180
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag	240
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc	300
cgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct	360
acgtattagt catcgctatt ac	382



<210> 4  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> промотор СВ

<400> 4  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 5  
<211> 717  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> eGFP

<400> 5  
atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac 60  
ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac 120  
ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc 180  
ctcgtgacca ccctgaccta cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag 240  
cagcacgact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc 300  
ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg 360  
gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac 420  
aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac 480  
ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc 540  
gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac 600  
tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gacccaacg agaagcgcga tcacatggtc 660  
ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaag 717

<210> 6  
<211> 51  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический олигонуклеотид

<220>  
<223> 2А-линкер

<400> 6  
aattttgacc ttcttaagct tgcgggagac gtcgagtcca accctgggсс с 51

<210> 7  
<211> 1959  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> кДНК hGlut1 и 3'НТУ

<400> 7  
atggagссса gcagсаагаа gctgacgggt cgcctcatgc tggccgtggg aggagcagtg 60  
cttggtccc tgcagtttg ctacaacact ggagtcатca atgссссса gaaggтgatc 120  
gaggagtтct асаaccagac atgggtccac cgctatgggg agagcatcct gccaccacg 180  
ctcaccacgc tctggтссct ctсagtggcc атcttttctg ttgggggcat gattggctcc 240  
ttctctgtgg gccttttctg таaccgcttt ggccggcgga attcaatgct gatgatgaac 300  
ctgctggcct tcgtgtccgc cgtgctcatg ggcttctcga aactgggcaa gтссtttgag 360  
atgctgatcc tgggccgctt catcatcggt gtgtactgtg gcctgaccac aggcttcgtg 420  
cccatgtatg tgggtgaagt gтсaccaca gcccttcgtg gggccctggg caccctgcac 480  
cagctgggca tcgtcgtcgg catcctcatc gcccaggтgt tcggcctgga ctccatcatg 540  
ggcaacaagg acctgtggcc cctgctgctg агcatcatct тcatcccggc cctgctgcag 600  
tgcatcgtgc тgссcttctg ccccgagagt ccccgcttcc тgctcatcaa ccgсаacgag 660  
gagaaccggg cсаagagtgt gctaaаааg ctgcgcggga cagctgacgt gaccatgac 720  
ctgcaggaga тgaaggааа gagtcggcag atgatgcggg агааааaggт caccatcctg 780  
gagctgttcc gтссссccgc ctaccgccag cccatcctca тсgtgtggт gctgcagctg 840  
tccagcagc тgtctggcat саacgctgtc ttctattact ccacgagcat cttcgagaag 900  
gcgggggtgc агcagcctgt gtatgccacc attggctccg gtatcgtcaa cagggccttc 960  
actgtcgtgt cgctgtttgt ggtggagcga gcaggccggc ggaccctgca cctcataggc 1020

ctcgctggca tggcggggttg tgccatactc atgaccatcg cgctagcact gctggagcag 1080  
 ctacccccgga tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa 1140  
 gtgggtcctg gccccatccc atggttcatc gtggctgaac tcttcagcca ggggccacgt 1200  
 ccagctgcca ttgccgttgc aggcttctcc aactggacct caaatctcat tgtgggcatg 1260  
 tgcttccagt atgtggagca actgtgtggt ccctacgtct tcatcatctt cactgtgctc 1320  
 ctggttctgt tcttcatctt cacctacttc aaagttcttg agactaaagg cgggaccttc 1380  
 gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggagccagcc aaagtgacaa gacacccgag 1440  
 gagctgttcc atcccctggg ggctgattcc caagtgtgag tcgccccaga tcaccagccc 1500  
 ggctgtctcc cagcagccct aaggatctct caggagcaca ggcagctgga tgagacttcc 1560  
 aaacctgaca gatgtcagcc gagccggggc tggggctcct ttctccagcc agcaatgatg 1620  
 tccagaagaa tattcaggac ttaacggctc caggatttta acaaaagcaa gactgttgct 1680  
 caaatctatt cagacaagca acaggtttta taatTTTTTT attactgatt ttgttatttt 1740  
 tatacagcc tgagtctcct gtgccacat cccaggcttc accctgaatg gttccatgcc 1800  
 tgagggtgga gactaagccc tgtcagagca cttgccttct tcaccagct aatctgtagg 1860  
 gctggaccta tgtcctaagg acacactaat cgaactatga actacaaagc ttctatccca 1920  
 ggaggtggct atggccaccc gttctgctgg cctggatct 1959

<210> 8  
 <211> 127  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> сигнал Poly A

<400> 8  
 gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact 60  
 tctggctaatt aaaggaaatt tattttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc 120  
 tcaactcg 127

<210> 9  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 3' ИКП

<400> 9

aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 60  
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
gagcgcgcag 130

<210> 10

<211> 7503

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> pAAV CB6 PI EGFP-2A-mGlu1

<400> 10

gccttaatta ggctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt 60  
cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc 120  
aactccatca ctaggggttc cttgtagtta atgattaacc cgccatgcta cttatctacc 180  
agggtaatgg ggatcctcta gaactatagc tagtcgacat tgattattga ctagttatta 240  
atagtaatca attacggggg cattagttca tagcccatat atggagtcc gcgttacata 300  
acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat 360  
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga 420  
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc 480  
ccctattgac gtcaatgacg gtaaattggc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt 540  
atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatgtcgag 600  
gccacgttct gcttactct ccccatctcc cccccctccc caccaccaat tttgtattta 660  
tttatttttt aattattttg tgcagcgatg ggggcggggg gggggggcgc gcgccagggc 720  
gggcggggcg gggcgagggg cggggcgggg cgagggcgag aggtgcgggc gcagccaatc 780  
agagcggcgc gctccgaaag tttcctttta tggcgagggc gcggcgggcg cggccctata 840  
aaaagcgaag cgcgcgggcg gcgggagcaa gctttattgc ggtagtttat cacagttaaa 900  
ttgctaacgc agtcagtgtc tctgacacaa cagtctcgaa cttaaagctgc agaagttggg 960  
cgtgaggcac tgggcaggta agtatcaagg ttacaagaca ggtttaagga gaccaataga 1020  
aactgggctt gtcgagacag agaagactct tgcgtttctg ataggcacct attggtctta 1080  
ctgacatcca ctttgctttt ctctccacag gtgtccactc ccagttcaat tacagctctt 1140  
aaggctagag tacttaatac gactcactat aggctagtaa tacgactcac tatagatggg 1200  
gagcaagggc gaggagctgt tcaccggggg ggtgcccatc ctggtcgagc tggacggcga 1260

cgtaaacggc	cacaagttca	gcgtgtccgg	cgagggcgag	ggcgatgccca	cctacggcaa	1320
gctgaccctg	aagttcatct	gcaccaccgg	caagctgccc	gtgccctggc	ccaccctcgt	1380
gaccaccctg	acctacggcg	tgcaagtgtt	cagccgctac	cccgaccaca	tgaagcagca	1440
cgacttcttc	aagtccgcca	tgcccgaagg	ctacgtccag	gagcgcacca	tcttcttcaa	1500
ggacgacggc	aactacaaga	cccgcgccga	ggtgaagttc	gagggcgaca	ccctggtgaa	1560
ccgcatcgag	ctgaagggca	tcgacttcaa	ggaggacggc	aacatcctgg	ggcacaagct	1620
ggagtacaac	tacaacagcc	acaacgtcta	tatcatggcc	gacaagcaga	agaacggcat	1680
caaggtgaac	ttcaagatcc	gccacaacat	cgaggacggc	agcgtgcagc	tcgccgacca	1740
ctaccagcag	aacaccccca	tcggcgacgg	ccccgtgctg	ctgcccgaca	accactacct	1800
gagcaccag	tccgccctga	gcaaagacc	caacgagaag	cgcgatcaca	tggtcctgct	1860
ggagtctcgtg	accgccgccg	ggatcactct	cgccatggac	gagctgtaca	agaatcttga	1920
ccttcttaag	cttgccggag	acgtcgagtc	caaccctggg	cccatggatc	ccagcagcaa	1980
gaaggtgacg	ggccgcctca	tgttggctgt	gggaggagca	gtgctcggat	cactgcagtt	2040
cggctataac	actggtgtca	tcaacgcccc	ccagaagggtt	attgaggagt	tctacaatca	2100
aacatggaac	caccgctacg	gagagcccat	cccattccacc	acactacca	cgctttggtc	2160
tctctccgtg	gccatcttct	ctgtcggggg	catgattggt	tccttctctg	tcggcctctt	2220
tgtaaatcgc	tttggcaggc	ggaactccat	gctgatgatg	aacctgttgg	cctttgtggc	2280
tgctgtgctt	atgggcttct	ccaaactggg	caagtccttt	gagatgctga	tcctgggccc	2340
cttcatcatc	ggtgtgtact	gcggcctgac	tactggcttt	gtgcccatgt	atgtgggaga	2400
ggtgtcacct	acagctctac	gtggagccct	aggcacactg	caccagctgg	gaatcgtcgt	2460
tggcatcctt	attgcccagg	tgtttggtt	agactccatc	atgggcaatg	cagacttgtg	2520
gcctctgctg	ctcagtgtca	tcttcatccc	agccctgcta	cagtgtatcc	tgttgccctt	2580
ctgccccgag	agcccccgct	tcctgctcat	caatcgtaac	gaggagaacc	gggccaagag	2640
tgtgctgaag	aagcttcgag	ggacagccga	tgtgacccca	gacctgcagg	agatgaaaga	2700
agagggtcgg	cagatgatgc	gggagaagaa	ggtcaccatc	ttggagctgt	tccgctcacc	2760
cgcctaccgc	cagcccatcc	tcatcgctgt	ggtgctgcag	ctgtcccagc	agctgtcggg	2820
tatcaatgct	gtgttctact	actcaacgag	catcttcgag	aaggcagggtg	tgcagcagcc	2880
tgtgtacgcc	accatcggct	ccggtatcgt	caacacggcc	tactctgtgg	tgtcgtgtt	2940
tgttgtagag	cgagctggac	gacggaccct	gcacctcatt	ggcctggctg	gcatggcagg	3000
ctgtgctgtg	ctcatgacca	tcgccctggc	cttgctggaa	cggctgcctt	ggatgtccta	3060
tctgagcatc	gtggccatct	ttggctttgt	ggccttcttt	gaagtaggcc	ctggctctat	3120
tccatggttc	attgtggccc	agctgttcag	ccagggggccc	cgtcctgctg	ctattgctgt	3180

ggctggcttc	tccaactgga	cctcaaactt	cattgtgggc	atgtgcttcc	agtatgtgga	3240
gcaactgtgc	ggcccctacg	tcttcatcat	cttcacgggtg	ctcctcgtgc	tctttctcat	3300
cttcacctac	ttcaaagtcc	ctgagaccaa	aggccgaacc	ttcgatgaga	tcgcttccgg	3360
cttccggcag	gggggtgcca	gccaaagtga	caagacaccc	gaggagctct	tccaccctct	3420
gggggaggac	tccaagtgt	gaggagcccc	acaccagcc	cggcctgctc	cctgcagccc	3480
aaggatctct	ctggagcaca	ggcagctaga	tgagacctct	tccgaaccga	cagatctcgg	3540
gcaagccggg	cctgggagcc	tttctcagc	cagcagtgaa	gtccaggagg	atattcagga	3600
ctttgatggc	tccagaatth	ttaatgaaag	caagactgct	gctcagatct	attcagataa	3660
gcagcaggtt	ttataattht	tttattactg	atthtgttat	ththththth	tatcagccac	3720
tctctatct	ccacactgta	gtcttcacct	tgattggccc	agtgcctgag	ggtggggacc	3780
acgccctgtc	cagacacttg	ccttctttgc	caagctaate	tgtagggctg	gacctatggc	3840
caaggacaca	ctaataccga	actctgagct	aggaggctth	accgctggag	gcggtagctg	3900
ccaccactt	ccgcaggcct	ggacctcggc	accatagggg	tccggactcc	atthtaggat	3960
tcgccattc	ctgtctcttc	ctaccaacc	actcaattaa	tctthccttg	cctgagacca	4020
gttggaagca	ctggagtgca	gggaggagag	ggaagggcca	ggctgggctg	ccaggthcta	4080
gtctcctgtg	cactgagggc	cacacaaaca	ccatgagaag	gacctcggag	gctgagaact	4140
taactgctga	agacacggac	actcctgcc	tgctgtgtat	agatggaaga	tatttatata	4200
thththtggt	gtcaatatta	aatacagaca	ctaagthata	gtatatctgg	acaaaccac	4260
ttgtaaatac	accaacaaac	tcctgtaact	ttacctaaagc	agatataaat	ggctggctcg	4320
aggacgggg	gaactacgcc	tgaggatccg	atctththcc	ctctgccaaa	aattatgggg	4380
acatcatgaa	gccccttgag	catctgactt	ctggctaata	aaggaaatth	atthctattg	4440
caatagtgtg	ttggaattht	ttgtgtctct	cactcggaaag	caattcgttg	atctgaatth	4500
cgaccacca	taatacccat	taccctggta	gataagtagc	atggcgggtt	aatcattaac	4560
tacaaggaac	ccctagtgat	ggagttggcc	actccctctc	tgcgcgctcg	ctcgtcact	4620
gaggccgggc	gaccaaaggt	cgcccgacgc	ccgggctthg	cccgggcggc	ctcagtgagc	4680
gagcgagcgc	gcagccttaa	ttaacctaat	tcactggccg	tcgththaca	acgtcgtgac	4740
tgggaaaacc	ctggcgttac	ccaacttaat	cgccttgacg	cacatcccc	thtcgccagc	4800
tggcgtaata	gcgaagaggc	ccgcaccgat	cgcctthccc	aacagttgcg	cagcctgaat	4860
ggcgaatggg	acgcgccctg	tagcggcgca	ttaagcgcgg	cgggtgtggt	ggttacgcgc	4920
agcgtgaccg	ctacacttgc	cagcgcctta	gcgcccgtct	ctthcgctth	cttcccttcc	4980
thtctcgcca	cgttcgccgg	ctthccccgt	caagctctaa	atcgggggct	ccctthaggg	5040
ttccgattta	gtgctthtac	gcacctcgac	ccccaaaaac	ttgattaggg	tgatggttca	5100

cgtagtgggc	catcgccctg	atagacgggt	tttcgccctt	tgacgttgga	gtccacgttc	5160
tttaatagtg	gactcttggt	ccaaactgga	acaacactca	accctatctc	ggtctattct	5220
tttgatttat	aagggatttt	gccgatttcg	gcctattggt	taaaaaatga	gctgatttaa	5280
caaaaattta	acgcgaatth	taacaaaata	ttaacgctta	caatttaggt	ggcacttttc	5340
ggggaaatgt	gcgcggaacc	cctatthtgt	tatthtttcta	aatacattca	aatatgtatc	5400
cgctcatgag	acaataacc	tgataaatgc	ttcaataata	ttgaaaaagg	aagagtatga	5460
gtattcaaca	tttccgtgtc	gcccttattc	cctthttttgc	ggcattthtgc	cttctgtttt	5520
ttgctcacc	agaaacgctg	gtgaaagtaa	aagatgctga	agatcagttg	ggtgcacgag	5580
tgggttacat	cgaactggat	ctcaacagcg	gtaagatcct	tgagagthtt	cgccccgaag	5640
aacgthtttc	aatgatgagc	actthttaaag	ttctgctatg	tggcgcggta	ttatcccgtta	5700
ttgacgccgg	gcaagagcaa	ctcggtcgcc	gcatacacta	ttctcagaat	gacttggttg	5760
agtactcacc	agtcacagaa	aagcatctta	cggatggcat	gacagtaaga	gaattatgca	5820
gtgctgcat	aaccatgagt	gataacactg	cggccaactt	acttctgaca	acgatcggag	5880
gaccgaagga	gctaaccgct	thttttgcaca	acatggggga	tcatgtaact	cgctttgatc	5940
gttgggaacc	ggagctgaat	gaagccatac	caaacgacga	gcgtgacacc	acgatgcctg	6000
tagcaatggc	aacaacgttg	cgcaactat	taactggcga	actacttact	ctagcttccc	6060
ggcaacaatt	aatagactgg	atggaggcgg	ataaagttgc	aggaccactt	ctgcgctcgg	6120
cccttcggc	tggctggtht	attgctgata	aatctggagc	cggtgagcgt	gggtctcgcg	6180
gtatcattgc	agcactgggg	ccagatggta	agccctcccg	tatcgtagtt	atctacacga	6240
cggggagtca	ggcaactatg	gatgaacgaa	atagacagat	cgctgagata	ggtgcctcac	6300
tgattaagca	ttggtaactg	tcagaccaag	tttactcata	tatactthtag	attgatttaa	6360
aacttcattt	ttaatttaaa	aggatctagg	tgaagatcct	thtttgataat	ctcatgacca	6420
aatcccctta	acgtgagtht	tcgtttccact	gagcgtcaga	ccccgtagaa	aagatcaaag	6480
gatcttcttg	agatccttht	thttctgcgcg	taatctgctg	cttgcaaaca	aaaaaaccac	6540
cgctaccagc	ggtggthtgt	ttgccggatc	aagagctacc	aactccttht	ccgaaggtaa	6600
ctggcttcag	cagagcgcag	ataccaaata	ctgttcttct	agtgtagccg	tagttaggcc	6660
accacttcaa	gaactctgta	gcaccgccta	catacctcgc	tctgctaate	ctgttaccag	6720
tggctgctgc	cagtggcgat	aagtcgtgtc	ttaccgggtt	ggactcaaga	cgatagttac	6780
cggataaggc	gcagcggtcg	ggctgaacgg	ggggttcgtg	cacacagccc	agcttgagac	6840
gaacgaccta	caccgaactg	agatacctac	agcgtgagct	atgagaaagc	gccacgcttc	6900
ccgaaggag	aaaggcggac	aggtatccgg	taagcggcag	ggtcggaaaca	ggagagcgca	6960
cgagggagct	tccaggggga	aacgcctggt	atctthtatag	tcctgtcggg	thttcgccacc	7020

tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg	7080
ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct	7140
ttcctgcggt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata	7200
ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc	7260
gcccaatacg caaacgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg	7320
acaggtttcc cgactggaaa gcggggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca	7380
ctcattagc accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg	7440
tgagcgata acaatttcac acaggaaca gctatgacca tgattacgcc agatttaatt	7500
aag	7503

<210> 11  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 5'ИКП

<400> 11	
ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccggggcgctc ggcgaccttt	60
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgagagagg gagtggccaa ctccatcact	120
aggggttct	130

<210> 12  
 <211> 382  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> энхансер ЦМВ IE

<400> 12	
ctagtgcaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc	60
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccc cctggctgac	120
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca	180
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag	240
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc	300
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct	360



acgtattagt catcgctatt ac

382

<210> 13

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> промотор СВ

<400> 13

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagtgc cgcgttacat aacttacggt aaatggccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
cgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 14

<211> 717

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> eGFP

<400> 14

atgggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac 60  
ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac 120  
ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc 180  
ctcgtgacca ccctgacct cggcgtgcag tgcttcagcc gtacccccga ccacatgaag 240  
cagcacgact tcttcaagtc cgccatgcc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc 300  
ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg 360  
gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac 420  
aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac 480  
ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc 540  
gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac 600

tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga tcacatggtc 660

ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaag 717

<210> 15  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический олигонуклеотид

<220>  
 <223> 2А-линкер

<400> 15  
 aattttgacc ttcttaagct tgcgggagac gtcgagtcca accctgggcc c 51

<210> 16  
 <211> 2353  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> кДНК mGlut1 и 3'НТУ

<400> 16  
 atggatccca gcagcaagaa ggtgacgggc cgcctcatgt tggctgtggg aggagcagtg 60  
 ctcggatcac tgcagttcgg ctataacact ggtgtcatca acgcccccca gaaggttatt 120  
 gaggagtctt acaatcaaac atggaaccac cgctacggag agcccatccc atccaccaca 180  
 ctcaccacgc tttggctctt ctccgtggcc atcttctctg tcgggggcat gatttggtcc 240  
 ttctctgtcg gcctctttgt taatcgcttt ggcaggcgga actccatgct gatgatgaac 300  
 ctgtttggcct ttgtggctgc tgtgcttatg ggcttctcca aactgggcaa gtcccttgag 360  
 atgctgatcc tgggccgctt catcatcggg gtgtactgcg gcctgactac tggctttgtg 420  
 cccatgtatg tgggagaggt gtcacctaca gctctacgtg gagccctagg cacactgcac 480  
 cagctgggaa tcgtcgttgg catccttatt gccaggtgt ttggcttaga ctccatcatg 540  
 ggcaatgcag acttgtggcc tctgctgctc agtgtcatct tcatcccagc cctgctacag 600  
 tgtatcctgt tgcccttctg ccccgagagc ccccgcttcc tgctcatcaa tcgtaacgag 660  
 gagaaccggg ccaagagtgt gctgaagaag cttcgagggg cagccgatgt gacccgagac 720  
 ctgcaggaga tgaagaaga gggtcggcag atgatgcggg agaagaaggt caccatcttg 780  
 gagctgttcc gtcacccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggg gctgcagctg 840  
 tcccagcagc tgtcgggtat caatgctgtg ttctactact caacgagcat cttcgagaag 900

gcagggtgtgc agcagcctgt gtacgccacc atcggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtggtgt cgctgtttgt tgtagagcga gctggacgac ggaccctgca cctcattggc	1020
ctggctggca tggcaggctg tgctgtgctc atgaccatcg ccctggcctt gctggaacgg	1080
ctgccttggga tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtaggccctg gtcctattcc atggttcatt gtggccgagc tgttcagcca ggggccccgt	1200
cctgctgcta ttgctgtggc tggcttctcc aactggacct caaacttcat tgtgggcatg	1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgcggc ccctacgtct tcatcatctt cacggtgctc	1320
ctcgtgctct tcttcatctt cacctacttc aaagtccctg agaccaaagg ccgaaccttc	1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggtgccagcc aaagtgacaa gacacccgag	1440
gagctcttcc accctctggg ggcggactcc caagtgtgag gagccccaca cccagcccgg	1500
cctgctccct gcagcccaag gatctctctg gagcacaggc agctagatga gacctcttcc	1560
gaaccgacag atctcgggca agccgggctt gggcgccttt cctcagccag cagtgaagtc	1620
caggaggata ttcaggactt tgatggctcc agaattttta atgaaagcaa gactgctgct	1680
cagatctatt cagataagca gcaggtttta taattttttt attactgatt ttgttatttt	1740
ttttttttat cagccactct cctatctcca cactgtagtc ttcaccttga ttggcccagt	1800
gcctgagggt ggggaccacg ccctgtccag acacttgctt tctttgcaa gctaactctgt	1860
agggctggac ctatggcaa ggacacacta atacccaact ctgagctagg aggctttacc	1920
gctggaggcg gtagctgcca cccacttccg caggcctgga cctcggcacc ataggggtcc	1980
ggactccatt ttaggattcg cccattcctg tctcttctta cccaaccact caattaatct	2040
ttccttgcct gagaccagtt ggaagcactg gagtgcaggg aggagagggga agggccaggc	2100
tgggctgcca ggttctagtc tcctgtgcac tgagggccac acaaacacca tgagaaggac	2160
ctcggaggct gagaacttaa ctgctgaaga cacggacact cctgccctgc tgtgtataga	2220
tggaagatat ttatatattt tttggttgtc aatattaaat acagacacta agttatagta	2280
tatctggaca aaccacttg taaatacacc aacaaactcc tgtaacttta cctaagcaga	2340
tataaatggc tgg	2353

<210> 17

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> сигнал Poly A

<400> 17  
gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact 60  
tctggctaataaaggaatt ttttttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc 120  
tcaactcg 127

<210> 18  
<211> 130  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> 3' ИКП

<400> 18  
aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcaactgagg 60  
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
gagcgcgca 130

<210> 19  
<211> 6844  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> pAAV CB6 PI hGlut1-2A-EGFP

<400> 19  
cttaattagg ctgctgctc gctcgtcac tgaggccgsc cgggcaaac cggggcgctcg 60  
ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgagagagg gagtgccaa 120  
ctccatcaact aggggttctt tgtagttaat gattaaccgg ccatgctact tatctaccag 180  
ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat 240  
agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 300  
ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct cggcccattg acgtcaataa 360  
tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 420  
atttacggta aactgcccac ttggcagtag atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc 480  
ctattgacgt caatgacggg aatggcccgg cctggcatta tgcccagtag atgaccttat 540  
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgtcgaggg 600  
cacgttctgc ttactctcc ccactcccc cccctcccc ccccaattt tgtatttatt 660  
tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgcc gccagggggg 720

gccccgccc	gcgagggg	gggccccg	aggcggagag	gtgccccg	agccaatcag	780
agcggcgcg	tccgaaagt	tccttttatg	gcgaggggg	ggcggcggg	gccctataaa	840
aagcgaagc	cgcggggg	gggagcaagc	tttattgcgg	tagtttatca	cagttaaatt	900
gctaacgcag	tcagtgttc	tgacacaaca	gtctcgaact	taagctgcag	aagttggtcg	960
tgaggcactg	ggcaggtaag	tatcaagggt	acaagacagg	tttaaggaga	ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt	cgagacagag	aagactcttg	cgtttctgat	aggcacctat	tggcttact	1080
gacatccact	ttgcctttct	ctccacaggt	gtccactccc	agttcaatta	cagctcttaa	1140
ggctagagta	cttaatacga	ctcactatag	gctagcgcg	cgaattgatc	cactagtaac	1200
ggccgccagt	gtgctggaag	caggagacca	aacgacgggg	gtcggagtca	gagtcgcagt	1260
gggagtcccc	ggaccggagc	acgagcctga	gcgggagagc	gccgctcgca	cgcccgtcgc	1320
cacccgcgta	cccggcgag	ccagagccac	cagcgcagcg	ctgccatgga	gcccagcagc	1380
aagaagctga	cgggtcgcct	catgctggcc	gtgggaggag	cagtgttgg	ctccctgcag	1440
tttggtaca	acactggagt	catcaatgcc	ccccagaagg	tgatcgagga	gttctacaac	1500
cagacatggg	tccaccgcta	tggggagagc	atcctgccc	ccacgctcac	cacgctctgg	1560
tcctctcag	tggccatctt	ttctgttggg	ggcatgattg	gctccttctc	tgtgggcctt	1620
ttcgtaacc	gctttggccg	gcggaattca	atgctgatga	tgaacctgct	ggccttcgtg	1680
tccgccgtgc	tcatgggctt	ctcgaaactg	ggcaagtcct	ttgagatgct	gatcctgggc	1740
cgcttcatca	tcgggtgtgta	ctgtggcctg	accacaggct	tcgtgcccat	gtatgtgggt	1800
gaagtgtcac	ccacagccct	tcgtggggcc	ctgggcaccc	tgcaccagct	gggcatcgtc	1860
gtcggcatcc	tcatgccc	ggtgttcggc	ctggactcca	tcatgggcaa	caaggacctg	1920
tggcccctgc	tgctgagcat	catcttcac	ccggccctgc	tgcagtgc	cgtgctgccc	1980
ttctgccccg	agagtccccg	cttctgctc	atcaaccgca	acgaggagaa	ccgggccaag	2040
agtgtgctaa	agaagctgcg	cgggacagct	gacgtgacc	atgacctgca	ggagatgaag	2100
gaagagagtc	ggcagatgat	gcgggagaag	aaggtcacca	tcctggagct	gttccgctcc	2160
cccgctacc	gccagcccat	cctcatcgtc	gtgggtgctgc	agctgtccca	gcagctgtct	2220
ggcatcaacg	ctgtcttcta	ttactccacg	agcatcttcg	agaaggcggg	ggtgcagcag	2280
cctgtgtatg	ccaccattgg	ctccggtatc	gtcaacacgg	ccttcaactgt	cgtgtcgtc	2340
tttgtgggtg	agcgagcagg	ccggcggacc	ctgcacctca	taggcctcgc	tggcatggcg	2400
ggttgtgcca	tactcatgac	catcgcgcta	gcaactgctg	agcagctacc	ccggatgtcc	2460
tatctgagca	tcgtggccat	ctttggcttt	gtggccttct	ttgaagtggg	tcctggcccc	2520
atcccatggg	tcatcgtggc	tgaactcttc	agccagggtc	cacgtccagc	tgccattgcc	2580
gttgcaggct	tctccaactg	gacctcaaat	ttcattgtgg	gcatgtgctt	ccagtatgtg	2640

gagcaactgt	gtggtcacct	cgctcttcac	atcttccactg	tgctcctggg	tctgtttcttc	2700
atcttccact	acttcaaagt	tcctgagact	aaaggccgga	ccttcgatga	gatcgcttcc	2760
ggcttccggc	aggggggagc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	gttccatccc	2820
ctgggggctg	attcccaagt	gaccggtaat	tttgaccttc	ttaagcttgc	gggagacgtc	2880
gagtccaacc	ctggggccgc	catgggtgagc	aagggcgagg	agctgttcac	cggggtgggtg	2940
cccactctgg	tcgagctgga	cggcgacgta	aacggccaca	agttcagcgt	gtccggcgag	3000
ggcgagggcg	atgccaccta	cggcaagctg	accctgaagt	tcactctgcac	caccggcaag	3060
ctgcccgtgc	cctggcccac	cctcgtgacc	accctgacct	acggcgtgca	gtgcttcagc	3120
cgctaccccg	accacatgaa	gcagcacgac	ttcttcaagt	ccgccatgcc	cgaaggctac	3180
gtccaggagc	gcaccatctt	cttcaaggac	gacggcaact	acaagaccgc	cgccgaggtg	3240
aagttcgagg	gcgacaccct	ggtgaaccgc	atcgagctga	agggcatcga	cttcaaggag	3300
gacggcaaca	tcctggggca	caagctggag	tacaactaca	acagccacaa	cgctctatctc	3360
atggccgaca	agcagaagaa	cggcatcaag	gtgaacttca	agatccgcca	caacatcgag	3420
gacggcagcg	tgagctcgc	cgaccactac	cagcagaaca	cccccatcgg	cgacggcccc	3480
gtgctgctgc	ccgacaacca	ctacctgagc	accagtcgc	ccctgagcaa	agacccccaac	3540
gagaagcgcg	atcacatggg	cctgctggag	ttcgtgaccg	ccgccgggat	cactctcggc	3600
atggacgagc	tgtacaagta	aagcggccat	caagcttctc	ggccgttact	agtggatcga	3660
ggacgggggtg	aactacgcct	gaggatccga	tctttttccc	tctgcaaaaa	attatggggga	3720
catcatgaag	ccccttgagc	atctgacttc	tggtcaataa	aggaaattta	ttttcattgc	3780
aatagtgtgt	tggaattttt	tgtgtctctc	actcgggaagc	aattcgttga	tctgaatttc	3840
gaccacccat	aataccatt	accctggtag	ataagtagca	tggcgggtta	atcattaact	3900
acaaggaacc	cctagtgatg	gagttggcca	ctccctctct	gcgcgctcgc	tcgctcactg	3960
aggccggggcg	accaaaggtc	gcccgacgcc	cgggctttgc	ccgggcccgc	tcagtgagcg	4020
agcgagcgcg	cagccttaat	taacctaatt	cactggccgt	cgttttacaa	cgctcgtgact	4080
gggaaaacc	tggcgttacc	caacttaatc	gccttgacgc	acatccccct	ttcgccagct	4140
ggcgtaatag	cgaagaggcc	cgcacccgatc	gcccttccca	acagttgcgc	agcctgaatg	4200
gcgaatggga	cgcgccctgt	agcggcgcat	taagecgggc	gggtgtgggtg	gttacgcgca	4260
gcgtgaccgc	tacacttgcc	agcggccctag	cgcccgcctc	tttcgctttc	ttcccttctc	4320
ttctcgccac	gttcgcccgc	tttccccgtc	aagctctaaa	tcgggggctc	cctttagggg	4380
tccgatttag	tgctttacgg	cacctcgacc	ccaaaaaact	tgattagggg	gatggttcac	4440
gtagtggggc	atcgccctga	tagacggttt	ttcgcccttt	gacgttggag	tccacgttct	4500
ttaatagtgg	actcttgttc	caactggaa	caacactcaa	ccctatctcg	gtctattctt	4560

ttgatttata	agggatthttg	ccgatttcgg	cctattgggt	aaaaaatgag	ctgatttaac	4620
aaaaatttaa	cgcgatthtt	aacaaaatat	taacgcttac	aatttaggtg	gcactthttcg	4680
gggaaatgtg	cgcggaacct	ctatthgttt	atthttctaa	atacattcaa	atatgtatcc	4740
gctcatgaga	caataacct	gataaatgct	tcaataatat	tgaaaaagga	agagtatgag	4800
tattcaacat	ttccgtgtcg	cccttattcc	ctthtttgcg	gcathttgccc	ttcctgtthtt	4860
tgctcaccca	gaaacgctgg	tgaaagtaaa	agatgctgaa	gatcagttgg	gtgcacgagt	4920
gggttacatc	gaactggatc	tcaacagcgg	taagatcctt	gagagthttc	gccccgaaga	4980
acgthttcca	atgatgagca	ctthtaaagt	tctgctatgt	ggcgcggtat	tatcccgtat	5040
tgacgccggg	caagagcaac	tcggtcgccg	catacactat	tctcagaatg	acttggttga	5100
gtactacca	gtcacagaaa	agcatcttac	ggatggcatg	acagtaagag	aattatgcag	5160
tgctgccata	accatgagtg	ataaactgac	ggccaactta	cttctgacaa	cgatcggagg	5220
accgaaggag	ctaaccgctt	thttgcacaa	catgggggat	catgtaactc	gccttgatcg	5280
ttgggaaccg	gagctgaatg	aagccatacc	aaacgacgag	cgtgacacca	cgatgcctgt	5340
agcaatggca	acaacgthtc	gcaaactatt	aactggcgaa	ctacttactc	tagcttcccg	5400
gcaacaatta	atagactgga	tggaggcgga	taaagttgca	ggaccacttc	tgcgctcggc	5460
ccttccgget	ggctggthta	ttgctgataa	atctggagcc	ggtgagcgtg	ggtctcgcgg	5520
tatcattgca	gcactggggc	cagatggtaa	gccctcccgt	atcgtagtta	tctacacgac	5580
ggggagtcag	gcaactatgg	atgaacgaaa	tagacagatc	gctgagatag	gtgcctcact	5640
gattaagcat	tggtaactgt	cagaccaagt	ttactcatat	atactthtaga	ttgattthaa	5700
acttcathtt	taaththaaa	ggatctaggt	gaagatcctt	thtgataatc	tcatgaccaa	5760
aatcccttaa	cgtgagthtt	cgthccactg	agcgtcagac	cccgtagaaa	agatcaaagg	5820
atcttcttga	gatcctthtt	ttctgcgcgt	aatctgctgc	ttgcaaacaa	aaaaaccacc	5880
gctaccagcg	gtggthttgtt	tgccggatca	agagctacca	actctthttc	cgaaggtaac	5940
tggcttcagc	agagcgcaga	taccaaatac	tgttcttcta	gtgtagccgt	agthtaggcca	6000
ccacttcaag	aactctgtag	caccgcctac	atacctcgtc	ctgctaatcc	tgttaccagt	6060
ggctgctgcc	agtggcgata	agtcgtgtct	taccgggttg	gactcaagac	gatagthtacc	6120
ggataaggcg	cagcggctcg	gctgaacggg	gggttcgtgc	acacagccca	gcttgagcgc	6180
aacgacctac	accgaactga	gatacctaca	gcgtgagcta	tgagaaagcg	ccacgcttcc	6240
cgaagggaga	aaggcggaca	ggtatccggt	aagcggcagg	gtcggaacag	gagagcgcac	6300
gagggagctt	ccagggggaa	acgcctggta	tctthtatagt	cctgtcgggt	ttcggcacct	6360
ctgacttgag	cgctgathtt	tgtgatgctc	gtcagggggg	cggagcctat	ggaaaaacgc	6420
cagcaacgcg	gcctthttac	ggthcctggc	ctthtgctgg	cctthtgctc	acatgthtctt	6480

tctcgcgтта tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac	6540
cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag cgggaagagcg	6600
ccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca gctggcacga	6660
caggtttccc gactggaaag cgggcagtgа gcgcaacgca аттаатgtга gttagctcac	6720
tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgтatgtttgt gtggaattgt	6780
gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat gattacgcca gatttaatta	6840
aggc	6844

<210> 20  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 5'ИКП

<400> 20	
ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgctcg ggcgaccttt	60
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgcgagc gcсagagagg gagtggccaa ctccatcact	120
aggggttcct	130

<210> 21  
 <211> 382  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> энхансер ЦМВ IE

<400> 21	
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc	60
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac	120
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa таатgacgта tgttcccata gтаacgccaa	180
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gтаaaactgcc cacttggcag	240
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggтаaatggc	300
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct	360
acgtattagt catcgctatt ac	382



<210> 22  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> промотор СВ

<400> 22  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 23  
<211> 1479  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> кДНК hGlut1

<400> 23  
atggagccca gcagcaaga gctgacgggt cgcctcatgc tggccgtggg aggagcagtg 60  
cttggctccc tgcagtttgg ctacaacact ggagtcatca atgccccca gaaggatgatc 120  
gaggagtctt acaaccagac atgggtccac cgctatgggg agagcatcct gccaccacg 180  
ctcaccacgc tctggtcctt ctcaagtggc atcttttctg ttgggggcat gattggctcc 240  
ttctctgtgg gccttttctg taaccgcttt ggccggcgga attcaatgct gatgatgaac 300  
ctgctggcct tcgtgtccgc cgtgctcatg ggcttctcga aactgggcaa gtcctttgag 360  
atgctgatcc tgggcccgtt catcatcggg gtgtactgtg gcctgaccac aggcttcgtg 420  
cccatgtatg tgggtgaagt gtcaccaca gcccttcgtg gggccctggg caccctgcac 480  
cagctgggca tcgtcgtcgg catcctcatc gcccagggtg tcggcctgga ctccatcatg 540  
ggcaacaagg acctgtggcc cctgctgctg agcatcatct tcatcccggc cctgctgcag 600  
tgcategtgc tgcccttctg ccccagaggt ccccgcttcc tgctcatcaa ccgcaacgag 660  
gagaaccggg ccaagagtgt gctaaagaag ctgcccggga cagctgacgt gaccatgac 720

ctgcaggaga tgaaggaaga gagtcggcag atgatgcggg agaagaaggt caccatcctg	780
gagctgttcc gctccccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggt gctgcagctg	840
tcccagcagc tgtctggcat caacgctgtc ttctattact ccacgagcat cttcgagaag	900
gcgggggtgc agcagcctgt gtatgccacc attggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtcgtgt cgctgtttgt ggtggagcga gcaggccggc ggaccctgca cctcataggc	1020
ctcgctggca tggcgggttg tgccatactc atgaccatcg cgctagcact gctggagcag	1080
ctaccccgga tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtgggtcctg gccccatccc atggttcatc gtggctgaac tcttcagcca ggggccacgt	1200
ccagctgcca ttgccgttgc aggcttctcc aactggacct caaatttcat tgtgggcatg	1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgtggt ccctacgtct tcatcatctt cactgtgctc	1320
ctggttctgt tcttcatctt cacctacttc aaagttcctg agactaaagg ccggaccttc	1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggagccagcc aaagtgacaa gacacccgag	1440
gagctgttcc atcccctggg ggctgattcc caagtgtga	1479

<210> 24

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический олигонуклеотид

<220>

<223> 2A-линкер

<400> 24

aattttgacc ttcttaagct tgcgggagac gtcgagtcca accctgggcc c	51
--	----

<210> 25

<211> 717

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> eGFP

<400> 25

atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac	60
---	----

ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac	120
---	-----

ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc	180
---	-----

ctcgtgacca ccctgaccta cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag	240
---	-----

cagcacgact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc 300  
ttcaaggacg acggcaacta caagacccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg 360  
gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac 420  
aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac 480  
ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc 540  
gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccc tgctgctgcc cgacaaccac 600  
tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga tcacatggtc 660  
ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaag 717

<210> 26

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> сигнал Poly A

<400> 26

gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcactctgact 60

tctggctaataaaggaatttattttcattgcaatagtgtgttggaattttttgtgtctc 120

tcactcg 127

<210> 27

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 3' ИКП

<400> 27

aggaaccsct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 60

ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120

gagcgcgсag 130

<210> 28

<211> 6568

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> pAAV CB6 PI hGlut1

<400> 28

cttaattagg ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg	60
ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa	120
ctccatcact aggggttctt tgtagttaat gattaaccgg ccatgctact tatctaccag	180
ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat	240
agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac	300
ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct ccgccattg acgtcaataa	360
tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt	420
atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc	480
ctattgacgt caatgacggg aatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat	540
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgtcgaggc	600
cacgttctgc ttactctcc ccactctccc cccctcccca cccccaattt tgtatttatt	660
tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgc gccaggcggg	720
gcggggcggg gcgagggcg gggcgggcg aggcggagag gtgcggcggc agccaatcag	780
agcggcgcgc tccgaaagtt tccttttatg gcgaggcggc ggcggcgggc gccctataaa	840
aagcgaagcg cgcggcgggc gggagcaagc tttattgcgg tagtttatca cagttaaatt	900
gctaacgcag tcagtcttc tgacacaaca gtctcgaact taagctgcag aagttggctg	960
tgaggcactg ggcaggtaa tatcaagggt acaagacagg ttaaggaga ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt cgagacagag aagactcttg cgtttctgat aggcacctat tggcttact	1080
gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtccactccc agttcaatta cagctcttaa	1140
ggctagagta cttaatacga ctactatag gctagcgcg cgaattggcc gccagtgtga	1200
tggatatctg cagaattcgc ccttagcagg agaccaaacg acgggggtcg gagtccagagt	1260
cgcagtggga gtccccggac cggagcacga gcctgagcgg gagagcgccg ctcgcacgcc	1320
cgtegccacc cgcgtaccgg gcgcagccag agccaccagc gcagcgctgc catggagccc	1380
agcagcaaga agctgacggg tcgcctcatg ctggccgtgg gaggagcagt gcttggctcc	1440
ctgcagtttg gctacaacac tggagtcac aatgcccccc agaaggtgat cgaggagttc	1500
tacaaccaga catgggtcca ccgctatggg gagagcatcc tgcccaccac gctcaccacg	1560
ctctggctcc tctcagtggc catcttttct gttgggggca tgattggctc cttctctgtg	1620
ggccttttcg ttaaccgctt tggccggcgg aattcaatgc tgatgatgaa cctgctggcc	1680

ttcgtgtccg	ccgtgctcat	gggcttctcg	aaactgggca	agtcctttga	gatgctgac	1740
ctgggcccgt	tcatacatcg	tgtgtactgt	ggcctgacca	caggcttcgt	gcccatagtat	1800
gtgggtgaag	tgtcaccac	agcccttcgt	ggggccctgg	gcaccctgca	ccagctgggc	1860
atcgtcgtcg	gcatacctcat	cgcccaggtg	ttcggcctgg	actccatcat	gggcaacaag	1920
gacctgtggc	ccctgctgct	gagcatcatc	ttcatcccgg	ccctgctgca	gtgcatcgtg	1980
ctgcccttct	gccccgagag	tccccgcttc	ctgctcatca	accgcaacga	ggagaaccgg	2040
gccaagagtg	tgctaaagaa	gctgcgcggg	acagctgacg	tgacccatga	cctgcaggag	2100
atgaaggaag	agagtcggca	gatgatgcgg	gagaagaagg	tcaccatcct	ggagctgttc	2160
cgctcccccg	cctaccgcca	gcccatacctc	atcgtctgtg	tgctgcagct	gtcccagcag	2220
ctgtctggca	tcaacgctgt	cttctattac	tccacgagca	tcttcgagaa	ggcgggggtg	2280
cagcagcctg	tgtatgccac	cattggctcc	ggtatcgtca	acacggcctt	cactgtcgtg	2340
tcgctgtttg	tggtggagcg	agcaggccgg	cggaccctgc	acctcatagg	cctcgtctggc	2400
atggcggggt	gtgccatact	catgaccatc	gcgctagcac	tgctggagca	gctaccccgg	2460
atgtcctatc	tgagcatcgt	ggccatcttt	ggctttgtgg	ccttctttga	agtgggtcct	2520
ggccccatcc	catggttcat	cgtggctgaa	ctcttcagcc	agggttccag	tccagctgcc	2580
attgccgttg	caggcttctc	caactggacc	tcaaatttca	ttgtgggcat	gtgcttccag	2640
tatgtggagc	aactgtgtgg	tccctacgtc	ttcatcatct	tcactgtgct	cctggttctg	2700
ttcttcatct	tcacctactt	caaagttcct	gagactaaag	gccggacctt	cgatgagatc	2760
gcttccggct	tccggcaggg	gggagccagc	caaagtgaca	agacaccgca	ggagctgttc	2820
catcccctgg	gggctgattc	ccaagtgtga	gtcgccccag	atcaccagcc	cggcctgctc	2880
ccagcagccc	taaggatctc	tcaggagcac	aggcagctgg	atgagacttc	caaacctgac	2940
agatgtcagc	cgagccgggc	ctggggctcc	tttctccagc	cagcaatgat	gtccagaaga	3000
atattcagga	cttaacggct	ccaggatttt	aacaaaagca	agactgttgc	tcaaatctat	3060
tcagacaagc	aacaggtttt	ataatttttt	tattactgat	tttgttattt	ttatatcagc	3120
ctgagtctcc	tgtgccaca	tcccaggctt	caccctgaat	ggttccatgc	ctgaggggtg	3180
agactaagcc	ctgtcgagac	acttgccttc	ttcaccagc	taatctgtag	ggctggacct	3240
atgtcctaag	gacacactaa	tcgaactatg	aactacaaag	cttctatccc	aggaggtggc	3300
tatggccacc	cgttctgctg	gcctggatct	ccaagaaaca	aagggcgaat	tccagcacac	3360
tggcggccgt	tactagtgga	tcgaggacgg	ggtgaactac	gcctgaggat	ccgatctttt	3420
tccctctgcc	aaaaattatg	gggacatcat	gaagcccctt	gagcatctga	cttctggcta	3480
ataaaggaaa	tttattttca	ttgcaatagt	gtgttggaat	tttttgtgtc	tctcactcgg	3540
aagcaattcg	ttgatctgaa	tttcgaccac	ccataatacc	cattaccctg	gtagataagt	3600

agcatggcgg	gttaatcatt	aactacaagg	aaccctagtg	gatggagttg	gccactccct	3660
ctctgcgcgc	tcgctcgctc	actgaggccg	ggcgaccaa	ggtcgcccga	cgcccgggct	3720
ttgcccgggc	ggcctcagtg	agcgagcgag	cgcgcagcct	taattaacct	aattcactgg	3780
ccgtcgtttt	acaacgtcgt	gactgggaaa	accctggcgt	tacccaactt	aatcgccctg	3840
cagcacatcc	ccctttcgcc	agctggcgta	atagcgaaga	ggcccgcacc	gatcgccctt	3900
cccaacagtt	gcgcagcctg	aatggcgaat	gggacgcgcc	ctgtagcggc	gcattaagcg	3960
cggcgggtgt	ggtggttacg	cgcgagcgtg	ccgctacact	tgccagcgcc	ctagcgcccg	4020
ctcctttcgc	tttcttcctt	tcctttctcg	ccacgttcgc	cggctttccc	cgtcaagctc	4080
taaatcgggg	gctcccttta	gggttccgat	ttagtgcttt	acggcacctc	gaccccaaaa	4140
aacttgatta	gggtgatggt	tcacgtagtg	ggccatcgcc	ctgatagacg	gtttttcgcc	4200
ctttgacgtt	ggagtccacg	ttctttaata	gtggactcct	gttccaaact	ggaacaacac	4260
tcaaccctat	ctcggcttat	tcttttgatt	tataagggat	tttgccgatt	tcggcctatt	4320
ggttaaaaa	tgagctgatt	taacaaaaat	ttaacgcgaa	ttttaacaaa	atattaacgc	4380
ttacaattta	ggtggcactt	ttcggggaaa	tgtgcgcgga	accctatatt	gtttatTTTT	4440
ctaaatacat	tcaaatatgt	atccgctcat	gagacaataa	ccctgataaa	tgcttcaata	4500
atattgaaaa	aggaagagta	tgagtattca	acatttccgt	gtcgccctta	ttccctTTTT	4560
tgcggcattt	tgcttccctg	tttttgctca	cccagaaacg	ctggtgaaag	taaaagatgc	4620
tgaagatcag	ttgggtgcac	gagtgggtta	catcgaactg	gatctcaaca	gcggtaagat	4680
ccttgagagt	tttcgccccg	aagaacgttt	tccaatgatg	agcactttta	aagttctgct	4740
atgtggcgcg	gtattatccc	gtattgacgc	cgggcaagag	caactcggtc	gccgcataca	4800
ctattctcag	aatgacttgg	ttgagtactc	accagtcaca	gaaaagcatc	ttacggatgg	4860
catgacagta	agagaattat	gcagtgctgc	cataaccatg	agtgataaca	ctgcggccaa	4920
cttacttctg	acaacgatcg	gaggaccgaa	ggagctaacc	gctttttttg	acaacatggg	4980
ggatcatgta	actcgccctg	atcgttggga	accggagctg	aatgaagcca	taccaaacga	5040
cgagcgtgac	accacgatgc	ctgtagcaat	ggcaacaacg	ttgcgcaaac	tattaactgg	5100
cgaactactt	actctagctt	cccggcaaca	attaatagac	tggatggagg	cggataaagt	5160
tgcaggacca	cttctgcgct	cggcccttcc	ggctggctgg	tttattgctg	ataaatctgg	5220
agccggtgag	cgtgggtctc	gcggtatcat	tgcagcactg	gggccagatg	gtaagccctc	5280
ccgtatcgta	gttatctaca	cgacggggag	tcaggcaact	atggatgaac	gaaatagaca	5340
gatcgctgag	ataggtgcct	cactgattaa	gcattggtaa	ctgtcagacc	aagtttactc	5400
atatatactt	tagattgatt	taaaacttca	tttttaattt	aaaaggatct	aggtgaagat	5460
cctttttgat	aatctcatga	ccaaaatccc	ttaacgtgag	ttttcgttcc	actgagcgtc	5520

agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg	5580
ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcggtggtt tgtttgccgg atcaagagct	5640
accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg cagataccaa atactgttct	5700
tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacatacct	5760
cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg	5820
gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgcagcgg tcgggctgaa cggggggttc	5880
gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga	5940
gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg gacaggtatc cggtaagcgg	6000
cagggtcgga acaggagagc gcacgagggg gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta	6060
tagtctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg	6120
ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg	6180
ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct gattctgtgg ataaccgtat	6240
taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga acgaccgagc gcagcagatc	6300
agtgagcagc gaagcgggag agcgcaccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcggtggcc	6360
gattcattaa tgcagctggc acgacagggt tcccgactgg aaagcgggca gtgagcgcga	6420
cgcaattaat gtgagttagc tactcatta ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc	6480
ggctcgtatg ttgtgtggaa ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagctatga	6540
ccatgattac gccagattta attaaggc	6568

<210> 29

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 5'ИКП

<400> 29

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggctcgc ggcgacctt	60
---	----

ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcagcgc gcagagagg gagtggccaa ctccatcact	120
--	-----

aggggttct	130
-----------	-----

<210> 30

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

полинуклеотид

<220>

<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 30

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 31

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> промотор СВ

<400> 31

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 32

<211> 1479

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> κДНК hGlut1

<400> 32

atggagccca gcagcaagaa gctgacgggt cgcctcatgc tggccgtggg aggagcagtg 60



cttggctccc tgcagtttgg ctacaacact ggagtcatca atgcccccca gaaggtgatc	120
gaggagtctt acaaccagac atgggtccac cgctatgggg agagcatcct gcccaccacg	180
ctcaccacgc tctggtcctt ctcaagtggcc atcttttctg ttgggggcat gattggctcc	240
ttctctgtgg gccttttctg taaccgcttt ggccggcgga attcaatgct gatgatgaac	300
ctgctggcct tcgtgtccgc cgtgctcatg ggcttctcga aactgggcaa gtcctttgag	360
atgctgatcc tgggccgctt catcatcggg gtgtactgtg gcctgaccac aggcttcgtg	420
cccatgtatg tgggtgaagt gtcaccaca gcccttcgtg gggccctggg caccctgcac	480
cagctgggca tcgtcgtcgg catcctcatc gcccaggtgt tcggcctgga ctccatcatg	540
ggcaacaagg acctgtggcc cctgctgctg agcatcatct tcatcccggc cctgctgcag	600
tgcategtgc tgcccttctg ccccagagat ccccgcttcc tgctcatcaa ccgcaacgag	660
gagaaccggg ccaagagtgt gctaaagaag ctgcgcgga cagctgacgt gaccatgac	720
ctgcaggaga tgaaggaaga gagtcggcag atgatgcggg agaagaagg caccatcctg	780
gagctgttcc gctccccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggt gctgcagctg	840
tcccagcagc tgtctggcat caacgctgtc ttctattact ccacgagcat cttcgagaag	900
gcggggggtgc agcagcctgt gtatgccacc attggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtcgtgt cgctgtttgt ggtggagcga gcaggccggc ggaccctgca cctcataggc	1020
ctcgctggca tggcggttg tgccatactc atgaccatcg cgctagcact gctggagcag	1080
ctaccccgga tgcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtgggtcctg gcccacccc atggttcacg gtggctgaac tcttcagcca ggggccacgt	1200
ccagctgcca ttgccgttg aggcttctcc aactggacct caaatttcat tgtgggcatg	1260
tgcttcagc atgtggagca actgtgtggt ccctacgtct tcatcatctt cactgtgctc	1320
ctggttctgt tcttcatctt cacctacttc aaagttcctg agactaaagg ccggaccttc	1380
gatgagatcg ctccggcctt ccggcagggg ggagccagcc aaagtgacaa gacaccgag	1440
gagctgttcc atcccctggg ggctgattcc caagtgtga	1479

<210> 33

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> сигнал Poly A

<400> 33

gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact	60
--	----

tctggctaataaaggaatttattttcattgcaatagtgtgttggaattttttgtgtctc 120

tcactcg 127

<210> 34  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 3' ИКП

<400> 34  
 aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 60  
 ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
 gagcgcgag 130

<210> 35  
 <211> 7057  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> pAAV CB6 PI mGlut1

<400> 35  
 cttaattagg ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg 60  
 ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgagagagg gaggggccaa 120  
 ctccatcact aggggttccct ttagttaa gattaaccg ccatgctact tatctaccag 180  
 ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat 240  
 agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 300  
 ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct ccgcccattg acgtcaataa 360  
 tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 420  
 atttacggta aactgccac ttggcagtac atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc 480  
 ctattgacgt caatgacggg aatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat 540  
 gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgtcgaggc 600  
 cacgttctgc ttactctcc ccatctcccc cccctcccca ccccaattt tgtatttatt 660  
 tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgc gccaggcggg 720  
 gcggggcggg gcgagggggc gggcgggggc aggcggagag gtgcgggcggc agccaatcag 780

agcggcgcgc	tccgaaagtt	tccttttatg	gcgaggcggc	ggcggcggcg	gccctataaa	840
aagcgaagcg	cgcggcgggc	gggagcaagc	tttattgcgg	tagtttatca	cagttaaatt	900
gctaacgcag	tcagtgttc	tgacacaaca	gtctcgaact	taagctgcag	aagttggctg	960
tgaggcactg	ggcaggtaa	tatcaagggt	acaagacagg	tttaaggaga	ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt	cgagacagag	aagactcttg	cgtttctgat	aggcacctat	tggtcttact	1080
gacatccact	ttgcctttct	ctccacaggt	gtccactccc	agttcaatta	cagctcttaa	1140
ggctagagta	cttaatacga	ctcactatag	gctagcgcgc	cgaattcggc	acgaggaaaa	1200
aggcagctcc	gcgcgctctc	ccccaaagagc	agaggcttgc	ttgtagagtg	acgatctgag	1260
ctacggggtc	ttaagtgcgt	cagggcgtgg	aggctctggcg	ggagacgcat	agttacagcg	1320
cgtecgttct	ccgtctcgca	gccggcacag	ctagagcttc	gagcgcagcg	cggccatgga	1380
tcccagcagc	aagaaggtga	cgggccgcct	catgttggct	gtgggaggag	cagtgtctcg	1440
atcactgcag	ttcggctata	acactggtgt	catcaacgcc	ccccagaagg	ttattgagga	1500
gttctacaat	caaacatgga	accaccgcta	cggagagccc	atcccatcca	ccacactcac	1560
cacgctttgg	tctctctccg	tggccatctt	ctctgtcggg	ggcatgattg	gttccttctc	1620
tgteggcctc	tttgttaatc	gctttggcag	gcggaactcc	atgctgatga	tgaacctggt	1680
ggcctttgtg	gctgctgtgc	ttatgggctt	ctccaaactg	ggcaagtctc	ttgagatgct	1740
gatcctgggc	cgcttcatca	tcggtgtgta	ctgcggcctg	actactggct	ttgtgcccac	1800
gtatgtggga	gaggtgtcac	ctacagctct	acgtggagcc	ctaggcacac	tgcaccagct	1860
gggaatcgtc	gttggcatcc	ttattgcca	ggtgtttggc	ttagactcca	tcatgggcaa	1920
tgcagacttg	tggcctctgc	tgctcagtgt	catcttcac	ccagccctgc	tacagtgtat	1980
cctgttgccc	ttctgccccg	agagcccccg	cttctgctc	atcaatcgta	acgaggagaa	2040
ccggccaag	agtgtgctga	agaagcttcg	agggacagcc	gatgtgacct	gagacctgca	2100
ggagatgaaa	gaagagggtc	ggcagatgat	gcgggagaag	aaggtcacca	tcttggagct	2160
gttccgctca	cccgcctacc	gccagcccat	cctcatcgct	gtggtgctgc	agctgtccca	2220
gcagctgtcg	ggtatcaatg	ctgtgttcta	ctactcaacg	agcatcttcg	agaaggcagg	2280
tgtgcagcag	cctgtgtacg	ccaccatcgg	ctccggtatc	gtcaacacgg	ccttactgt	2340
ggtgtcgctg	tttgttgtag	agcgagctgg	acgacggacc	ctgcacctca	ttggcctggc	2400
tggcatggca	ggctgtgctg	tgctcatgac	catcgccctg	gccttgctgg	aacggctgcc	2460
ttggatgtcc	tatctgagca	tcgtggccat	ctttggcttt	gtggccttct	ttgaagtagg	2520
ccctggtcct	attccatggt	tcattgtggc	cgagctgttc	agccaggggc	cccgtcctgc	2580
tgctattgct	gtggctggct	tctccaactg	gacctcaaac	ttcattgtgg	gcatgtgctt	2640
ccagtatgtg	gagcaactgt	gcggcccccta	cgcttctcatc	atcttcacgg	tgtcctctgt	2700

gctcttcttc	atcttcacct	acttcaaagt	ccctgagacc	aaaggccgaa	ccttcgatga	2760
gategcttcc	ggcttccggc	aggggggtgc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	2820
cttccaccct	ctgggggchg	actcccaagt	gtgaggagcc	ccacaccag	cccggcctgc	2880
tcctgcagc	ccaaggatct	ctctggagca	caggcagcta	gatgagacct	cttccgaacc	2940
gacagatctc	gggcaagccg	ggcctgggch	cctttcctca	gccagcagtg	aagtccagga	3000
ggatattcag	gactttgatg	gctccagaat	ttttaatgaa	agcaagactg	ctgctcagat	3060
ctattcagat	aagcagcagg	ttttataatt	tttttattac	tgattttggt	atTTTTTTTT	3120
tttatcagcc	actctcctat	ctccacactg	tagtcttcac	cttgattggc	ccagtgcctg	3180
agggTgggga	ccacgcctg	tccagacact	tgcttcttt	gccaagctaa	tctgtagggc	3240
tggacctatg	gccaaggaca	cactaatacc	gaactctgag	ctaggaggct	ttaccgctgg	3300
aggcggtagc	tgccaccac	ttccgcaggc	ctggacctcg	gcaccatagg	ggtccggact	3360
ccattttagg	attcgcccat	tctgtctct	tcttacccaa	ccactcaatt	aatctttcct	3420
tgctgagac	cagttggaag	cactggagtg	cagggaggag	agggaaaggg	caggctgggc	3480
tgccaggttc	tagtctcctg	tgactgagg	gccacacaaa	caccatgaga	aggacctcgg	3540
aggctgagaa	cttaactgct	gaagacacgg	acactcctgc	cctgctgtgt	atagatggaa	3600
gatatttata	tattttttgg	ttgtcaatat	taaatacaga	cactaagtta	tagtatatct	3660
ggacaaacc	acttgtaaat	acaccaacaa	actcctgtaa	ctttacctaa	gcagatataa	3720
atggctgggt	tttagaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	3780
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	actgtctcgc	tgcgcccgct	ctagagtatc	3840
cctcgactct	agagtcgacc	cgggcggcct	cgaggacggg	gtgaactacg	cctgaggatc	3900
cgatcttttt	ccctctgcca	aaaattatgg	ggacatcatg	aagccccttg	agcatctgac	3960
ttctggctaa	taaaggaaat	ttattttcat	tgcaatagtg	tgttggaatt	ttttgtgtct	4020
ctcactcgga	agcaattcgt	tgatctgaat	ttcgaccacc	cataataccc	attacctggg	4080
tagataagta	gcatggcggg	ttaatcatta	actacaagga	acccttagtg	atggagttgg	4140
ccactccctc	tctgcgcgct	cgctcgctca	ctgaggccgg	gcgaccaaag	gtcgcccgc	4200
gcccgggctt	tgcccgggch	gcctcagtg	gagagcgagc	gagcagcctt	aattaaccta	4260
attcactggc	cgctgtttta	caacgtcgtg	actgggaaaa	ccctggcggt	acccaactta	4320
atcgcttgc	agcacatccc	cctttcgcca	gctggcgtaa	tagcgaagag	gcccgcaccg	4380
atcgcccttc	ccaacagttg	cgcagcctga	atggcgaatg	ggacgcgccc	tgtagcggcg	4440
cattaagcgc	ggcgggtgtg	gtggttacgc	gcagcgtgac	cgctacactt	gccagcgc	4500
tagcgcggcg	tcctttcgct	ttcttccctt	cctttctcgc	cacgttcgcc	ggctttcccc	4560
gtcaagctct	aaatcggggg	ctcccttttag	ggttccgatt	tagtgcttta	cggcacctcg	4620

acccccaaaa	acttgattag	ggtgatggtt	cacgtagtgg	gccatcgccc	tgatagacgg	4680
tttttcgccc	tttgacgttg	gagtccacgt	tctttaatag	tggactcttg	ttccaaactg	4740
gaacaacact	caaccctatc	tcggtctatt	cttttgattt	ataagggatt	ttgccgattt	4800
cggcctattg	gttaaaaaat	gagctgattt	aacaaaaatt	taacgcgaat	tttaacaaaa	4860
tattaacgct	tacaatttag	gtggcacttt	tcggggaaat	gtgcgcggaa	cccctatttg	4920
tttatttttc	taaatacatt	caaatatgta	tccgctcatg	agacaataac	cctgataaat	4980
gcttcaataa	tattgaaaaa	ggaagagtat	gagtattcaa	catttccgtg	tcgcccttat	5040
tccctttttt	gcggcatttt	gccttctctg	ttttgctcac	ccagaaacgc	tggtgaaagt	5100
aaaagatgct	gaagatcagt	tgggtgcacg	agtgggttac	atcgaactgg	atctcaacag	5160
cggtaagatc	cttgagagtt	ttcgccccga	agaacgtttt	ccaatgatga	gcacttttaa	5220
agttctgcta	tgtggcgcg	tattatcccg	tattgacgcc	gggcaagagc	aactcggctg	5280
ccgcatacac	tattctcaga	atgacttgg	tgagtactca	ccagtcacag	aaaagcatct	5340
tacggatggc	atgacagtaa	gagaattatg	cagtgctgcc	ataacatga	gtgataaac	5400
tgcgccaac	ttacttctga	caacgatcgg	aggaccgaag	gagctaaccg	cttttttgca	5460
caacatgggg	gatcatgtaa	ctcgccttga	tcgttgggaa	ccggagctga	atgaagccat	5520
accaaacgac	gagcgtgaca	ccacgatgcc	tgtagcaatg	gcaacaacgt	tcgcgaaact	5580
attaactggc	gaactactta	ctctagcttc	ccggcaacaa	ttaatagact	ggatggaggc	5640
ggataaagtt	gcaggaccac	ttctgcgctc	ggcccttccg	gctggctggt	ttattgctga	5700
taaactctgga	gccggtgagc	gtgggtctcg	cggtatcatt	gcagcactgg	ggccagatgg	5760
taagccctcc	cgtatcgtag	ttatctacac	gacggggagt	caggcaacta	tggatgaacg	5820
aaatagacag	atcgtgaga	taggtgcctc	actgattaag	cattggtaac	tgtcagacca	5880
agtttactca	tatatacttt	agattgattt	aaaacttcat	ttttaattta	aaaggatcta	5940
ggtgaagatc	ctttttgata	atctcatgac	caaaatccct	taacgtgagt	tttcgttcca	6000
ctgagcgtca	gaccccgtag	aaaagatcaa	aggatcttct	tgagatcctt	tttttctgcg	6060
cgtaatctgc	tgcttgcaaa	caaaaaaacc	accgctacca	gcggtggttt	gtttgccgga	6120
tcaagagcta	ccaactcttt	ttccgaaggt	aactggcttc	agcagagcgc	agataccaaa	6180
tactgttctt	ctagtgtagc	cgtagttagg	ccaccacttc	aagaactctg	tagcaccgcc	6240
tacatacctc	gctctgctaa	tcctgttacc	agtggctgct	gccagtggcg	ataagtcgtg	6300
tcttaccggg	ttggactcaa	gacgatagtt	accggataag	gcgcagcgg	cgggctgaac	6360
ggggggttcg	tgcacacagc	ccagcttgg	gcgaacgacc	tacaccgaac	tgagatacct	6420
acagcgtgag	ctatgagaaa	gcgccacgct	tcccgaaggg	agaaaggcgg	acaggtatcc	6480
ggtaagcggc	agggtcggaa	caggagagcg	cacgagggag	cttcaggggg	gaaacgcctg	6540

gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg 6600  
ctcgtcaggg gggcggagcc tatggaaaaa cgccagcaac ggggcctttt tacggttcct 6660  
ggccttttgc tggccttttg ctcacatggt ctttcctgcg ttatcccctg attctgtgga 6720  
taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg 6780  
cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga gcgcccaata cgcaaaccgc ctctccccgc 6840  
gcgttggccg attcattaat gcagctggca cgacagggtt cccgactgga aagcggggcag 6900  
tgagcgcaac gcaattaatg tgagttagct cactcattag gcaccccagg ctttacactt 6960  
tatgcttccg gctcgtatgt tgtgtggaat tgtgagcgga taacaatttc acacaggaaa 7020  
cagctatgac catgattacg ccagatttaa ttaaggc 7057

<210> 36  
<211> 130  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> 5'ИКП

<400> 36  
ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgsc cgggcaaaagc cggggcgctc ggcgaccttt 60  
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact 120  
aggggttcct 130

<210> 37  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 37  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360

acgtattagt catcgctatt ac

382

<210> 38

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> промотор СВ

<400> 38

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagtcc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 39

<211> 1479

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> mGlut1 κДНК

<400> 39

atggatccca gcagcaagaa ggtgacgggc cgcctcatgt tggctgtggg aggagcagtg 60  
ctcggatcac tgcagttcgg ctataacact ggtgtcatca acgccccca gaaggttatt 120  
gaggagttct acaatcaaac atggaaccac cgctacggag agcccatccc atccaccaca 180  
ctcaccacgc tttggctctc ctccgtggcc atcttctctg tcgggggcat gattggttcc 240  
ttctctgtcg gcctctttgt taatcgcttt ggcaggcgga actccatgct gatgatgaac 300  
ctgttggcct ttgtggctgc tgtgcttatg ggcttctcca aactgggcaa gtcctttgag 360  
atgctgatcc tgggccgctt catcatcggg gtgtactgcg gcctgactac tggctttgtg 420  
cccatgtatg tgggagaggt gtcacctaca gctctacgtg gagccctagg cacactgcac 480  
cagctgggaa tcgtcgttgg catccttatt gcccagggtg ttggcttaga ctccatcatg 540  
ggcaatgcag acttgtggcc tctgctgctc agtgtcatct tcatcccagc cctgctacag 600

tgtatcctgt tgcccttctg ccccgagagc ccccgcttcc tgctcatcaa tcgtaacgag	660
gagaaccggg ccaagagtgt gctgaagaag cttcgagggg cagccgatgt gacccgagac	720
ctgcaggaga tgaagaaga gggtcggcag atgatgctggg agaagaaggt caccatcttg	780
gagctgttcc gctcacccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggt gctgcagctg	840
tcccagcagc tgtcgggtat caatgctgtg ttctactact caacgagcat cttcgagaag	900
gcagggtgtgc agcagcctgt gtacgccacc atcggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtggtgt cgctgtttgt tgtagagcga gctggacgac ggaccctgca cctcattggc	1020
ctggctggca tggcaggctg tgctgtgctc atgaccatcg ccctggcctt gctggaacgg	1080
ctgccttggg tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtaggcctg gtctattcc atggttcatt gtggccgagc tgttcagcca ggggccccgt	1200
cctgctgcta ttgctgtggc tggcttctcc aactggacct caaacttcat tgtgggcatg	1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgcggc ccctacgtct tcatcatctt cacggtgctc	1320
ctcgtgctct tcttcatctt cacctacttc aaagtccctg agaccaaagg ccgaaccttc	1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggtgccagcc aaagtgacaa gacacccgag	1440
gagctcttcc accctctggg ggcggactcc caagtgtga	1479

<210> 40  
 <211> 127  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> сигнал Poly A

<400> 40	
gatctttttc cctctgccaа aaattatggg gacatcatga agcccccttga gcatctgact	60
tctggctaат aaaggaaatt tatttttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc	120
tcactcg	127

<210> 41  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 3' ИКП

<400> 41



aggaaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcaactgagg 60  
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
gagcgcgag 130

<210> 42  
<211> 6641  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> pAAV CB6 PI hGlut1-out3xmiR-122 BS

<400> 42  
cttaattagg ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg 60  
ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgcagagagg gaggggccaa 120  
ctccatcact aggggttccct ttagttaaata gattaaccgg ccatgctact tatctaccag 180  
ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat 240  
agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 300  
ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa 360  
tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 420  
atctacggta aactgcccac ttggcagtag atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc 480  
ctattgacgt caatgacggg aatggccccg cctggcatta tgcccagtag atgaccttat 540  
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgtcgagggc 600  
cacgttctgc ttactctcc ccatctccc ccctcccca ccccaattt tgtatttatt 660  
tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgc gccaggcggg 720  
gcggggcggg gcgagggggc gggcgggggc aggcggagag gtgcggcggc agccaatcag 780  
agcggcgcgc tccgaaagtt tccttttatg gcgagggggc ggcggcgggc gccctataaa 840  
aagcgaagcg cgcggcgggc gggagcaagc tttattgagg tagtttatca cagttaaatt 900  
gctaacgcag tcagtgttc tgacacaaca gtctcgaact taagctgcag aagttggctc 960  
tgaggcactg ggcaggtaag tatcaagggt acaagacagg ttaaggaga ccaatagaaa 1020  
ctgggcttgt cgagacagag aagactcttg cgtttctgat aggcacctat tggcttact 1080  
gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtccactccc agttcagctc ttaaggctag 1140  
agtacttaat acgactcact ataggctagc gcgccgaatt ggccgccagt gtgatggata 1200  
tctgcagaat tcgcccttag caggagacca aacgacgggg gtcggagtca gagtcgcagt 1260  
gggagtcccc ggaccggagc acgagcctga gcgggagagc gccgctcgca cgcggctcgc 1320

cacccgcgta	cccggcgcag	ccagagccac	cagcgcagcg	ctgccatgga	gcccagcagc	1380
aagaagctga	cgggtcgcct	catgctggcc	gtgggaggag	cagtgccttg	ctccctgcag	1440
tttggtaca	acactggagt	catcaatgcc	ccccagaagg	tgatcgagga	gttctacaac	1500
cagacatggg	tccaccgcta	tggggagagc	atcctgcca	ccacgctcac	cacgctctgg	1560
tccctctcag	tggccatctt	ttctgttggg	ggcatgattg	gctccttctc	tgtgggcctt	1620
ttcgtaacc	gctttggccg	gcggaattca	atgctgatga	tgaacctgct	ggccttcgtg	1680
tccgccgtgc	tcatgggctt	ctcgaaactg	ggcaagtctt	ttgagatgct	gatcctgggc	1740
cgcttcatca	tcggtgtgta	ctgtggcctg	accacaggct	tcgtgcccat	gtatgtgggt	1800
gaagtgtcac	ccacagccct	tcgtggggcc	ctgggcaccc	tgcaccagct	gggcatcgtc	1860
gtcggcatcc	tcatcgcca	ggtgttcggc	ctggactcca	tcatgggcaa	caaggacctg	1920
tggcccctgc	tgctgagcat	catcttcac	cgggcctgc	tgcagtgc	cgtgctgccc	1980
ttctgccccg	agagtccccg	cttctgctc	atcaaccgca	acgaggagaa	cggggccaag	2040
agtgtgctaa	agaagctgcg	cgggacagct	gacgtgacct	atgacctgca	ggagatgaag	2100
gaagagagtc	ggcagatgat	gcgggagaag	aaggtcacca	tcctggagct	gttccgctcc	2160
cccgcctacc	gccagcccat	cctcatcgct	gtgggtgctgc	agctgtccca	gcagctgtct	2220
ggcatcaacg	ctgtcttcta	ttactccacg	agcatcttcg	agaaggcggg	ggtgcagcag	2280
cctgtgatg	ccaccattgg	ctccggtatc	gtcaacacgg	ccttcaactgt	cgtgtcgtctg	2340
tttgtggtgg	agcgagcagg	cgggcggacc	ctgcacctca	taggcctcgc	tggcatggcg	2400
ggttggtcca	tactcatgac	catcgcgcta	gcaactgctg	agcagctacc	cgggatgtcc	2460
tatctgagca	tcgtggccat	ctttggcttt	gtggccttct	ttgaagtggg	tcctggcccc	2520
atcccatggg	tcatcgtggc	tgaactcttc	agccagggtc	cacgtccagc	tgccattgcc	2580
gttgcaggct	tctccaactg	gacctcaaat	ttcattgtgg	gcatgtgctt	ccagtatgtg	2640
gagcaactgt	gtggtcctca	cgtcttcac	atcttcaactg	tgtcctcggg	tctgttcttc	2700
atcttcacct	acttcaaagt	tcctgagact	aaaggccgga	ccttcgatga	gatcgttcc	2760
ggcttccggc	aggggggagc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	gttccatccc	2820
ctgggggctg	attccaagt	gtgagtcgcc	ccagatcacc	agcccggcct	gctcccagca	2880
gcctaagga	tctctcagga	gcacaggcag	ctggatgaga	cttccaaacc	tgacagatgt	2940
cagccgagcc	gggcctgggg	ctcctttctc	cagccagcaa	tgatgtccag	aagaatatcc	3000
aggacttaac	ggctccagga	ttttaacaaa	agcaagactg	ttgctcaaat	ctattcagac	3060
aagcaacagg	ttttataatt	tttttattac	tgattttggt	atttttatat	cagcctgagt	3120
ctcctgtgcc	cacatcccag	gcttcaccct	gaatgggtcc	atgcctgagg	gtggagacta	3180
agccctgtcg	agacacttgc	cttcttcacc	cagctaactct	gtagggctgg	acctatgtcc	3240

taaggacaca	ctaatacgaac	tatgaactac	aaagcttcta	tcccaggagg	tggctatggc	3300
cacccgttct	gctggcctgg	atctcccaag	aaacaaaggg	cgaattccag	cacactggcg	3360
gcccgaacaa	aacaccattg	tcacactcca	acaaacacca	ttgtcacact	ccaacaaaca	3420
ccattgtcac	actccattcg	ggttactagt	ggatcgagga	cgggggtgaac	tacgcctgag	3480
gatccgatct	ttttccctct	gccaaaaatt	atggggacat	catgaagccc	cttgagcatc	3540
tgacttctgg	ctaataaagg	aaatttattt	tcattgcaat	agtgtggttg	aattttttgt	3600
gtctctcact	cggaagcaat	tcgttgatct	gaatttcgac	cacccataat	accattacc	3660
ctggtagata	agtagcatgg	cgggttaatc	attaactaca	aggaaccct	agtgatggag	3720
ttggccactc	cctctctgcg	cgctcgctcg	ctcactgagg	cggggcgacc	aaaggtcgcc	3780
cgacgcccgg	gctttgcccg	ggcggcctca	gtgagcgagc	gagcgcgcag	ccttaattaa	3840
cctaattcac	tggccgtcgt	tttacaacgt	cgtgactggg	aaaaccctgg	cgttacccaa	3900
cttaatcgcc	ttgcagcaca	tccccctttc	gccagctggc	gtaatagcga	agaggcccgc	3960
accgatcgcc	cttccaaca	gttgcgcagc	ctgaatggcg	aatgggacgc	gccctgtagc	4020
ggcgcattaa	gcgcggcggg	tgtggtgggt	acgcgcagcg	tgaccgctac	acttgccagc	4080
gccctagcgc	ccgctccttt	cgctttcttc	ccttcctttc	tcgccacggt	cgccggcttt	4140
ccccgtcaag	ctctaaatcg	ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggcac	4200
ctcgaccca	aaaaacttga	ttagggatgat	ggttcacgta	gtgggccatc	gccctgatag	4260
acggtttttc	gccctttgac	gttggagtcc	acgttcttta	atagtggact	cttgttccaa	4320
actggaacaa	cactcaacc	tatctcggtc	tattcttttg	atltataagg	gattttgccc	4380
atctcgccct	attgggttaa	aaatgagctg	atltaacaaa	aatttaacgc	gaattttaac	4440
aaaatattaa	cgcttacaat	ttaggtggca	cttttcgggg	aaatgtgcgc	ggaacccta	4500
tttgtttatt	tttctaaata	cattcaaata	tgtatccgct	catgagacaa	taaccctgat	4560
aatgcttca	ataatattga	aaaaggaaga	gtatgagtat	tcaacatttc	cgtgtcgccc	4620
ttattccctt	ttttgcggca	ttttgccttc	ctgtttttgc	tcaccagaa	acgctggtga	4680
aagtaaaaga	tgctgaagat	cagttgggtg	cacgagtggg	ttacatcgaa	ctggatctca	4740
acagcggtaa	gatccttgag	agttttcgcc	ccgaagaacg	ttttccaatg	atgagcactt	4800
ttaaagttct	gctatgtggc	gcggtattat	cccgtattga	cgccgggcaa	gagcaactcg	4860
gtcgccgcat	acactattct	cagaatgact	tggttgagta	ctcaccagtc	acagaaaagc	4920
atcttacgga	tggcatgaca	gtaagagaat	tatgcagtgc	tgccataacc	atgagtgata	4980
acactgcggc	caacttactt	ctgacaacga	tcggaggacc	gaaggagcta	accgcttttt	5040
tgcaacaacat	gggggatcat	gtaactcgcc	ttgatcgttg	ggaaccggag	ctgaatgaag	5100
ccataccaaa	cgacgagcgt	gacaccacga	tgctgttagc	aatggcaaca	acgttgcgca	5160

aactattaac tggcgaacta cttactctag cttccccggca acaattaata gactgggatgg 5220  
aggcggataa agttgcagga ccacttctgc gctcggccct tccggctggc tggtttattg 5280  
ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt ctcgcggtat cattgcagca ctggggccag 5340  
atggtaagcc ctcccgtatc gtagttatct acacgacggg gagtcaggca actatggatg 5400  
aacgaaatag acagatcgct gagataggtg cctcactgat taagcattgg taactgtcag 5460  
accaagttta ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga 5520  
tctaggtgaa gatcctttttt gataatctca tgacccaaat cccttaacgt gagttttcgt 5580  
tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat cttttttttc 5640  
tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct accagcggtg gtttgtttgc 5700  
cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac 5760  
caaatactgt tcttctagtg tagccgtagt taggccacca cttcaagaac tctgtagcac 5820  
cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt 5880  
cgtgtcttac cgggttgac tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct 5940  
gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat 6000  
acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca cgcttccga agggagaaaag gcggacaggt 6060  
atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca ggggaaacg 6120  
cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt 6180  
gatgctcgtc aggggggcg agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt 6240  
tcttggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg 6300  
tgataaccg tattaccgcc tttgagtgag ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg 6360  
agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg aagagcgccc aatacgcaaa ccgcctctcc 6420  
ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct ggcacgacag gtttcccgac tggaaagcgg 6480  
gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt agctcactca ttaggcaccc caggctttac 6540  
actttatgct tccggctcgt atgttggtg gaattgtgag cggataaaca tttcacacag 6600  
gaaacagcta tgaccatgat tacgccagat ttaattaagg c 6641

<210> 43

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> 5' ИКП

<400> 43

ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgctc ggcgaccttt 60  
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact 120  
aggggttcct 130

<210> 44  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 44  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 45  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> промотор СВ

<400> 45  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 46

<211> 1479  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> кДНК hGlut1

<400> 46

```
atggagccca gcagcaagaa gctgacgggt cgcctcatgc tggccgtggg aggagcagtg      60
cttggtccc tgcagtttgg ctacaacact ggagtcatca atgcccccca gaaggtgatc      120
gaggagttct acaaccagac atgggtccac cgctatgggg agagcatcct gccaccacg      180
ctcaccacgc tctggtcctt ctcagtggcc atcttttctg ttgggggcat gattggctcc      240
ttctctgtgg gccttttctg taaccgcttt ggccggcgga attcaatgct gatgatgaac      300
ctgctggcct tcgtgtccgc cgtgctcatg ggcttctcga aactgggcaa gtcctttgag      360
atgctgatcc tgggcccgtt catcatcggg gtgtactgtg gcctgaccac aggcttcgtg      420
cccatgatg tgggtgaagt gtcaccaca gcccttcgtg gggccctggg caccctgcac      480
cagctgggca tcgtcgtcgg catcctcatc gcccagggtg tgggctgga ctccatcatg      540
ggcaacaagg acctgtggcc cctgctgctg agcatcatct tcatcccggc cctgctgcag      600
tgcatcgtgc tgcccttctg ccccagagat ccccgcttcc tgctcatcaa ccgcaacgag      660
gagaaccggg ccaagagtgt gctaaagaag ctgcgcggga cagctgacgt gaccatgac      720
ctgcaggaga tgaaggaaga gagtcggcag atgatgcggg agaagaaggc caccatcctg      780
gagctgttcc gctccccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggt gctgcagctg      840
tcccagcagc tgtctggcat caacgctgtc ttctattact ccacgagcat cttcgagaag      900
gcggggggtg agcagcctgt gtatgccacc attggctccg gtatcgtcaa cacggccttc      960
actgtcgtgt cgctgtttgt ggtggagcga gcaggccggc ggaccctgca cctcataggg      1020
ctcgctggca tggcgggttg tgccatactc atgaccatcg cgctagcact gctggagcag      1080
ctaccccgga tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa      1140
gtgggtcctg gccccatccc atggttcatc gtggctgaac tcttcagcca ggggccacgt      1200
ccagctgcca ttgccgttgc aggcttctcc aactggacct caaatttcat tgtgggcatg      1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgtggt ccctacgtct tcatcatctt cactgtgctc      1320
ctggttctgt tcttcatctt cacctacttc aaagttcctg agactaaagg ccggaccttc      1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggagccagcc aaagtgacaa gacaccgag      1440
gagctgttcc atcccctggg ggctgattcc caagtgtga      1479
```

<210> 47

<211> 482  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 3'НТУ

<400> 47

gtcgccccag atcaccagcc cggcctgctc ccagcagccc taaggatctc tcaggagcac 60  
aggcagctgg atgagacttc caaacctgac agatgtcagc cgagccgggc ctggggctcc 120  
tttctccagc cagcaatgat gtccagaaga atattcagga cttaacggct ccaggatttt 180  
aacaaaagca agactgttgc tcaaacttat tcagacaagc aacaggtttt ataatttttt 240  
tattactgat tttgttattt ttatatcagc ctgagctctc tgtgcccaca tcccaggctt 300  
caccctgaat ggttccatgc ctgagggtgg agactaagcc ctgtcgagac acttgccttc 360  
ttcaccagc taatctgtag ggctggacct atgtcctaag gacacactaa tcgaactatg 420  
aactacaaag cttctatccc aggaggtggc tatggccacc cgttctgctg gcctggatct 480  
cc 482

<210> 48

<211> 77

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический олигонуклеотид

<220>

<223> 3xmiR-122 BS

<400> 48

cgaacaaca accattgtca cactccaaca aacaccattg tcacactcca acaaacassa 60  
ttgtcacact ccattcg 77

<210> 49

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> сигнал Poly A

<400> 49

gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact 60

tctggctaataaaggaatttattttcattgcaatagtgtgttggaattttttgtgtctc 120

tcactcg 127

<210> 50  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 3' ИКП

<400> 50  
 aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 60  
 ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
 gagcgcgag 130

<210> 51  
 <211> 7137  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> pAAV CB6 PI hGlut1-in3xmiR-122 BS

<400> 51  
 cttaattagg ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg 60  
 ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgagagagg gaggggccaa 120  
 ctccatcact aggggttccct ttagttaa gattaaccg ccatgctact tatctaccag 180  
 ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat 240  
 agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 300  
 ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct ccgccattg acgtcaataa 360  
 tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 420  
 atttacggta aactgccac ttggcagtag atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc 480  
 ctattgacgt caatgacggg aatggcccc cctggcatta tgcccagtag atgaccttat 540  
 gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgtcgaggc 600  
 cacgttctgc ttactctcc ccatctccc cccctccca ccccaattt tgtatttatt 660  
 tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgc gccaggcggg 720  
 gcggggcggg gcgagggggc gggcgggggc aggcggagag gtgcgggcggc agccaatcag 780



agcggcgcgc	tccgaaagtt	tccttttatg	gcgaggcggc	ggcggcggcg	gccctataaa	840
aagcgaagcg	cgcggcgggc	gggagcaagc	tttattgcgg	tagtttatca	cagttaaatt	900
gctaacgcag	tcagtgttc	tgacacaaca	gtctcgaact	taagctgcag	aagttggctg	960
tgaggcactg	ggcaggtaa	tatcaaggtt	acaagacagg	tttaaggaga	ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt	cgagacagag	aagactcttg	cgtttctgat	aggcacctat	tggtcttact	1080
gacatccact	ttgcctttct	ctccacaggt	gtccactccc	agttcaatta	cagctcttaa	1140
ggctagagta	cttaatacga	ctcactatag	gctagcgcgc	cgaattcggc	acgaggaaaa	1200
aggcagctcc	gcgcgctctc	ccccaaagagc	agaggcttgc	ttgtagagtg	acgatctgag	1260
ctacggggtc	ttaagtgcgt	cagggcgtgg	aggctctggcg	ggagacgcat	agttacagcg	1320
cgtecgttct	ccgtctcgca	gccggcacag	ctagagcttc	gagcgcagcg	cggccatgga	1380
gcccagcagc	aagaagctga	cgggtcgcct	catgctggcc	gtgggaggag	cagtgtttgg	1440
ctccctgcag	tttggctaca	acactggagt	catcaatgcc	ccccagaagg	tgatcgagga	1500
gttctacaac	cagacatggg	tccaccgcta	tggggagagc	atcctgccca	ccacgctcac	1560
cacgctctgg	tccctctcag	tggccatctt	ttctgttggg	ggcatgattg	gctccttctc	1620
tgtgggcctt	ttcgттаacc	gctttggccg	gcggaattca	atgctgatga	tgaacctgct	1680
ggccttcgtg	tccgccgtgc	tcatgggctt	ctcgaaactg	ggcaagtctt	ttgagatgct	1740
gatcctgggc	cgcttcatca	tcggtgtgta	ctgtggcctg	accacaggct	tcgtgcccct	1800
gtatgtgggt	gaagtgtcac	ccacagccct	tcgtggggcc	ctgggcaccc	tgcaccagct	1860
gggcatcgtc	gtcggcatcc	tcatcgccca	ggtgttcggc	ctggactcca	tcatgggcaa	1920
caaggacctg	tggcccctgc	tgctgagcat	catcttcatc	ccggccctgc	tgcagtgcct	1980
cgtgctgccc	ttctgccccg	agagtccccg	cttctgctc	atcaaccgca	acgaggagaa	2040
ccgggccaag	agtgtgctaa	agaagctgcg	cgggacagct	gacgtgacct	atgacctgca	2100
ggagatgaag	gaagagagtc	ggcagatgat	gcgggagaag	aaggtcacca	tcctggagct	2160
gttccgctcc	cccgcctacc	gccagcccat	cctcatcgct	gtggtgctgc	agctgtccca	2220
gcagctgtct	ggcatcaacg	ctgtcttcta	ttactccacg	agcatcttcg	agaaggcggg	2280
ggtgcagcag	cctgtgtatg	ccaccattgg	ctccggtatc	gtcaacacgg	ccttactgtt	2340
cgtgtcgctg	tttgtgggtg	agcagcaggg	ccggcggacc	ctgcacctca	taggcctcgc	2400
tggcatggcg	ggttgtgcca	tactcatgac	catcgcgcta	gcactgctgg	agcagctacc	2460
ccggatgtcc	tatctgagca	tcgtggccat	ctttggcttt	gtggccttct	ttgaagtggg	2520
tcctggcccc	atcccatggt	tcatcggtgc	tgaactcttc	agccagggtc	cacgtccagc	2580
tgccattgcc	gttgcaggct	tctccaactg	gacctcaaat	ttcattgtgg	gcatgtgctt	2640
ccagtatgtg	gagcaactgt	gtgggtcccta	cgtcttcatc	atcttactctg	tgctcctggg	2700

tctgttcttc	atcttcacct	acttcaaagt	tcctgagact	aaaggccgga	ccttcgatga	2760
gategcttcc	ggcttccggc	aggggggagc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	2820
gttccatccc	ctgggggctg	attcccaagt	gtgaggagcc	ccacaccag	cccggcctgc	2880
tcctgcagc	ccaaggatct	ctctggagca	caggcagcta	gatgagacct	cttccgaacc	2940
gacagatctc	gggcaagccg	ggcctgggcg	cctttcctca	gccagcagtg	aagtccagga	3000
ggatattcag	gactttgatg	gctccagaat	ttttaatgaa	agcaagactg	ctgctcagat	3060
ctattcagat	aagcagcagg	ttttataatt	tttttattac	tgattttggt	atTTTTTTTT	3120
tttatcagcc	actctcctat	ctccacactg	tagtcttcac	cttgattggc	ccagtgcctg	3180
agggTgggga	ccacgcctg	tccagacact	tgcttcttt	gccaagctaa	tctgtagggc	3240
tggacctatg	gccaaggaca	cactaatacc	gaactctgag	ctaggaggct	ttaccgctgg	3300
aggcggtagc	tgccaccac	ttccgcaggc	ctggacctcg	gcaccatagg	ggTccggact	3360
ccattttagg	attcgccat	tctgtctct	tcttacccaa	ccactcaatt	aatctttcct	3420
tgctgagac	cagttggaag	cactggagtg	cagggaggag	agggaaagggc	caggctgggc	3480
tgccaggttc	tagtctcctg	tgactgagg	gccacacaaa	caccatgaga	aggaccgaaa	3540
caaacacat	tgTcacactc	caacaaacac	cattgtcaca	ctccaacaaa	caccattgtc	3600
acactccatt	cggacctcgg	aggctgagaa	cttaactgct	gaagacacgg	acactcctgc	3660
cctgctgtgt	atagatggaa	gatatttata	tattttttgg	ttgtcaatat	taaatacaga	3720
cactaagtta	tagtataatc	ggacaaacc	acttgtaa	acaccaacaa	actcctgtaa	3780
ctttacctaa	gcagatataa	atggctgggt	tttagaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	3840
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	actgtctcgc	3900
tgcgccgct	ctagagtatc	cctcgactct	agagtcgacc	cgggcggcct	cgaggacggg	3960
gtgaactacg	cctgaggatc	cgatcttttt	ccctctgcca	aaaattatgg	ggacatcatg	4020
aagccccttg	agcatctgac	ttctggctaa	taaaggaaat	ttatTTTTCat	tgcaatagtg	4080
tgTtTggaatt	TTTTgtgtct	ctcactcgga	agcaattcgt	tgatctgaat	ttcgaccacc	4140
cataataccc	attaccctgg	tagataagta	gcatggcggg	ttaatcatta	actacaagga	4200
accctagtg	atggagttgg	ccactccctc	tctgcgcgct	cgctcgctca	ctgaggccgg	4260
gcgaccaaag	gtcgcccgac	gcccgggctt	tgcccgggcg	gcctcagtg	gcgagcgagc	4320
gcgagcctt	aattaaccta	attcactggc	cgTcgTTTTa	caacgTcgTg	actgggaaaa	4380
ccctggcggt	accCaactta	atcgcttgc	agcacatccc	cctttcgcca	gctggcgtaa	4440
tagcgaagag	gcccgcaccg	atcgcccttc	ccaacagttg	cgcagcctga	atggcgaatg	4500
ggacgcgccc	tgtagcggcg	cattaagcgc	ggcgggtgtg	gtggTtacgc	gcagcgtgac	4560
cgctacactt	gccagcgc	tagcgcgc	tcctttcgct	ttcttccctt	cctttctcgc	4620

cacgttcgcc	ggctttcccc	gtcaagctct	aaatcggggg	ctcccttag	ggttccgatt	4680
tagtgcttta	cggcacctcg	acccccaaaa	acttgattag	ggtgatgggt	cacgtagtgg	4740
gccatcgccc	tgatagacgg	tttttcgccc	tttgacgttg	gagtccacgt	tctttaatag	4800
tggactcttg	ttccaaactg	gaacaacact	caaccctatc	tcggtctatt	cttttgattt	4860
ataagggatt	ttgccgattt	cggcctattg	gttaaaaaat	gagctgattt	aacaaaaatt	4920
taacgcgaat	tttaacaaaa	tattaacgct	tacaatttag	gtggcacttt	tcggggaaat	4980
gtgcgcgga	cccctatttg	tttatttttc	taaatacatt	caaatatgta	tccgctcatg	5040
agacaataac	cctgataaat	gcttcaataa	tattgaaaaa	ggaagagtat	gagtattcaa	5100
catttccgtg	tcgcccttat	tccctttttt	gcggcatttt	gccttcctgt	ttttgctcac	5160
ccagaaacgc	tggtgaaagt	aaaagatgct	gaagatcagt	tgggtgcacg	agtgggttac	5220
atcgaactgg	atctcaacag	cggtaagatc	cttgagagtt	ttcgccccga	agaacgtttt	5280
ccaatgatga	gcacttttaa	agttctgcta	tgtggcgcg	tattatccc	tattgacgcc	5340
gggcaagagc	aactcggtcg	cgcatacac	tattctcaga	atgacttgg	tgagtactca	5400
ccagtcacag	aaaagcatct	tacggatggc	atgacagtaa	gagaattatg	cagtgctgcc	5460
ataaccatga	gtgataacac	tgcggccaac	ttacttctga	caacgatcgg	aggaccgaag	5520
gagctaaccg	cttttttgca	caacatgggg	gatcatgtaa	ctcgccttga	tcgttgggaa	5580
ccggagctga	atgaagccat	accaaacgac	gagcgtgaca	ccacgatgcc	tgtagcaatg	5640
gcaacaacgt	tgcgcaaact	attaactggc	gaactactta	ctctagcttc	ccggcaacaa	5700
ttaatagact	ggatggaggc	ggataaagtt	gcaggaccac	ttctgcgctc	ggcccttccg	5760
gctggctgg	ttattgctga	taaatctgga	gccggtgagc	gtgggtctcg	cggtatcatt	5820
gcagcactgg	ggccagatgg	taagccctcc	cgtatcgtag	ttatctacac	gacggggagt	5880
caggcaacta	tggatgaacg	aaatagacag	atcgtgaga	taggtgcctc	actgattaag	5940
cattggtaac	tgtcagacca	agtttactca	tatatacttt	agattgattt	aaaacttcat	6000
ttttaattta	aaaggatcta	ggtgaagatc	ctttttgata	atctcatgac	caaaatccct	6060
taacgtgagt	tttcgttcca	ctgagcgtca	gaccccgtag	aaaagatcaa	aggatcttct	6120
tgagatcctt	ttttctgcg	cgtaatctgc	tgcttgcaaa	caaaaaaac	accgctacca	6180
gcggtgggtt	gtttgccgga	tcaagagcta	ccaactcttt	ttccgaagg	aactggcttc	6240
agcagagcgc	agataccaaa	tactgttctt	ctagtgtagc	cgtagttagg	ccaccacttc	6300
aagaactctg	tagcaccgcc	tacatacctc	gctctgctaa	tctgttacc	agtggctgct	6360
gccagtggcg	ataagtcgtg	tcttaccggg	ttggactcaa	gacgatagtt	accggataag	6420
gcgagcggg	cgggctgaac	ggggggttcg	tgcacacagc	ccagcttgg	gcgaacgacc	6480
tacaccgaac	tgagatacct	acagcgtgag	ctatgagaaa	gcgccacgct	tcccgaagg	6540

agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg cacgagggag 6600  
 cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca cctctgactt 6660  
 gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc tatggaaaaa cgccagcaac 6720  
 gcggcctttt tacggttcct ggccttttgc tggccttttg ctcacatggt ctttcctgcg 6780  
 ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctcgc 6840  
 cgagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga gcgccaata 6900  
 cgcaaaccgc ctctccccgc gcgttggccg attcattaat gcagctggca cgacaggttt 6960  
 cccgactgga aagcgggcag tgagcgcaac gcaattaatg tgagttagct cactcattag 7020  
 gcaccccagg ctttacactt tatgcttccg gctcgtatgt tgtgtggaat tgtgagcgga 7080  
 taacaatttc acacaggaaa cagctatgac catgattacg ccagatttaa ttaaggc 7137

<210> 52

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 5'ИКП

<400> 52

ctgcgcgctc gctcgtctac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgctc ggcgacctt 60

ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgagagagg gagtggccaa ctccatcact 120

aggggttcct 130

<210> 53

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 53

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60

atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccc cctggctgac 120

cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180

tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240

tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300

ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 54  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> промотор СВ

<400> 54  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagtcc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 55  
<211> 1479  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> кДНК hGlut1

<400> 55  
atggagccca gcagcaagaa gctgacgggt cgcctcatgc tggccgtggg aggagcagtg 60  
cttggtccc tgcagtttgg ctacaacct ggagtcacat atgccccca gaaggtgatc 120  
gaggagtctt acaaccagac atgggtccac cgctatgggg agagcatcct gccaccacg 180  
ctcaccacgc tctggtcct ctcagtggcc atcttttctg ttgggggcat gattggctcc 240  
ttctctgtgg gccttttctg taaccgcttt ggccggcgga attcaatgct gatgatgaac 300  
ctgctggcct tcgtgtccgc cgtgctcatg ggcttctcga aactgggcaa gtcctttgag 360  
atgctgatcc tgggccgctt catcatcggg gtgtactgtg gcctgaccac aggcttcgtg 420  
cccatgtatg tgggtgaagt gtcaccaca gcccttcgtg gggccctggg caccctgcac 480  
cagctgggca tcgtcgtcgg catcctcatc gcccagggtg tcggcctgga ctccatcatg 540

ggcaacaagg acctgtggcc cctgctgctg agcatcatct tcatcccggc cctgctgcag 600  
 tgcategtgc tgcccttctg ccccagagat ccccgcttcc tgctcatcaa ccgcaacgag 660  
 gagaaccggg ccaagagtgt gctaaagaag ctgctgaggga cagctgacgt gacccatgac 720  
 ctgcaggaga tgaaggaaga gagtcggcag atgatgctggg agaagaaggt caccatcctg 780  
 gagctgttcc gctccccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggg gctgcagctg 840  
 tcccagcagc tgtctggcat caacgctgtc ttctattact ccacgagcat cttcgagaag 900  
 gcgggggtgc agcagcctgt gtatgccacc attggctccg gtatcgtcaa cacggccttc 960  
 actgtcgtgt cgctgtttgt ggtggagcga gcaggccggc ggaccctgca cctcataggg 1020  
 ctgctggca tggcgggttg tgccatactc atgaccatcg cgctagcact gctggagcag 1080  
 ctaccccgga tgcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa 1140  
 gtgggtcctg gccccatccc atggttcacg gtggctgaac tcttcagcca ggggccacgt 1200  
 ccagctgcca ttgccgttgc aggcttctcc aactggacct caaatttcat tgtgggcatg 1260  
 tgcttcagat atgtggagca actgtgtggg ccctacgtct tcatcatctt cactgtgctc 1320  
 ctggttctgt tcttcatctt cacctacttc aaagttcctg agactaaagg ccggaccttc 1380  
 gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggagccagcc aaagtgacaa gacacccgag 1440  
 gagctgttcc atcccctggg ggctgattcc caagtgtga 1479

<210> 56

<211> 1035

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 3' НТУ и 3xmiR-122

<400> 56

ggagccccac acccagcccc gcctgctccc tgcagcccaa ggatctctct ggagcacagg 60  
 cagctagatg agacctcttc cgaaccgaca gatctcgggc aagccggggc tgggcgcctt 120  
 tcctcagcca gcagtgaagt ccaggaggat attcaggact ttgatggctc cagaatTTTT 180  
 aatgaaagca agactgctgc tcagatctat tcagataagc agcaggTTTT ataatTTTT 240  
 tattactgat tttgttattt ttttttttta tcagccactc tcctatctcc aactgtagt 300  
 cttcaccttg attggcccag tgctgaggg tggggaccac gcctgtcca gacacttgcc 360  
 ttctttgcca agctaactcg tagggctgga cctatggcca aggacacact aataccgaac 420  
 tctgagctag gaggctttac cgctggaggc ggtagctgcc acccacttcc gcaggcctgg 480  
 acctcggcac cataggggtc cggactccat tttaggattc gccatttct gtctcttct 540

accaaccac tcaattaatc tttccttgcc tgagaccagt tggaagcact ggagtgcagg	600
gaggagaggg aagggccagg ctgggctgcc aggttctagt ctctgtgca ctgagggcca	660
cacaaacacc atgagaagga ccgaaacaaa caccattgtc aactccaac aaacaccatt	720
gtcacactcc aacaaacacc attgtcacac tccattcgga cctcggaggc tgagaactta	780
actgctgaag acacggacac tcctgccctg ctgtgtatag atggaagata tttatatatt	840
ttttggttgt caatattaaa tacagacact aagttatagt atatctggac aaaccactt	900
gtaaatacac caacaaactc ctgtaacttt acctaagcag atataaatgg ctggttttta	960
gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1020
aaaaaaaaaa aaaaa	1035

<210> 57  
 <211> 127  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> сигнал Poly A

<400> 57	
gatctttttc cctctgссаа аааттатggg gacatcatga agccccttga gcatctgact	60
tctggctaат ааaggaaatt таттттсатт gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc	120
tcactcg	127

<210> 58  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 3' ИКП

<400> 58	
aggaaccсct agtgatggag ttggссactc cctctctgсg сgctcгctcг ctсactgagg	60
ссgggсgacc ааaggтсгсс сgacгсccгg gctttgcccг ggсggсctca gtgagсgagс	120
gagсгсgсag	130

<210> 59  
 <211> 7137  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> pAAV CB6 PI mGlut1-in3xmiR-122 BS

<400> 59

cttaattagg ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg	60
ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgagagagg gagtggccaa	120
ctccatcact aggggttctt tgtagttaat gattaaccgc ccatgctact tatctaccag	180
ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat	240
agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac	300
ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct ccgccattg acgtcaataa	360
tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt	420
atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc	480
ctattgacgt caatgacggt aatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat	540
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcat cgctattacc atgtcgaggc	600
cacgttctgc ttactctcc ccatctcccc ccctcccca cccccaattt tgtatttatt	660
tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgc gccaggcggg	720
gcggggcggg gcgagggcg gggcgggcg aggcggagag gtgcggcggc agccaatcag	780
agcggcgcgc tccgaaagtt tccttttatg gcgaggcggc ggcggcgggc gccctataaa	840
aagcgaagcg cgcggcgggc gggagcaagc tttattgcgg tagtttatca cagttaaatt	900
gctaacgcag tcagtcttc tgacacaaca gtctcgaact taagctgcag aagttggctg	960
tgaggcactg ggcaggtaa tatcaaggtt acaagacagg ttaaggaga ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt cgagacagag aagactcttg cgtttctgat aggcacctat tggcttact	1080
gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtccactccc agttcaatta cagctcttaa	1140
ggctagagta cttaatacga ctactatag gctagcgcgc cgaattcggc acgaggaaaa	1200
aggcagctcc gcgcgctctc cccaagagc agaggcttgc ttgtagagtg acgatctgag	1260
ctacggggtc ttaagtgcgt cagggcgtgg aggtctggcg ggagacgcat agttacagcg	1320
cgtecgttct ccgtctcgca gccggcacag ctagagcttc gagcgcagcg cggccatgga	1380
tcccagcagc aagaaggtga cgggccgcct catgttggct gtgggaggag cagtgcctcg	1440
atcactgcag ttcggctata aactgggtgt catcaacgcc cccagaagg ttattgagga	1500
gttctacaat caaacatgga accaccgcta cggagagccc atcccatcca ccacactcac	1560
cacgctttgg tctctctccg tggccatctt ctctgtcggg ggcatgattg gttccttctc	1620
tgteggcctc tttgttaatc gctttggcag gcggaactcc atgctgatga tgaacctggt	1680



ggcctttgtg gctgctgtgc ttatgggctt ctccaaactg ggcaagtcct ttgagatgct	1740
gatectgggc cgcttcatca tcggtgtgta ctgcggcctg actactggct ttgtgccc	1800
gtatgtggga gaggtgtcac ctacagctct acgtggagcc ctaggcacac tgcaccagct	1860
gggaatcgtc gttggcatcc ttattgceca ggtgtttggc ttagactcca tcatgggcaa	1920
tgcagacttg tggcctctgc tgctcagtgt catcttcac ccagccctgc tacagtgtat	1980
cctgttgccc ttctgcccc agagcccccg ctctctgctc atcaatcgta acgaggagaa	2040
ccgggccaag agtgtgtgta agaagcttcg agggacagcc gatgtgacct gagacctgca	2100
ggagatgaaa gaagagggtc ggcagatgat gcgggagaag aaggtcacca tcttgagct	2160
gttccgctca cccgcctacc gccagcccat cctcatcgct gtgggtgctgc agctgtccca	2220
gcagctgtcg ggtatcaatg ctgtgttcta ctactcaacg agcatcttcg agaaggcagg	2280
tgtgcagcag cctgtgtacg ccaccatcgg ctccggtatc gtcaacacgg ccttcaactgt	2340
ggtgtcgtg tttgtttag agcgagctgg acgacggacc ctgcacctca ttggcctggc	2400
tggcatggca ggctgtgctg tgctcatgac catcgccctg gccttgctgg aacggctgcc	2460
ttggatgtcc tatctgagca tcgtggccat ctttggcttt gtggccttct ttgaagtagg	2520
ccctggctct attccatggt tcattgtggc cgagctgttc agccaggggc cccgtcctgc	2580
tgctattgct gtggctggct tctccaactg gacctcaaac tcattgtgg gcatgtgctt	2640
ccagtatgtg gagcaactgt gcggccccta cgtcttcac atcttcacgg tgctcctcgt	2700
gctcttcttc atcttcacct acttcaaagt ccctgagacc aaaggccgaa ccttcgatga	2760
gategcttcc ggcttccggc aggggggtgc cagccaaagt gacaagacac ccgaggagct	2820
ctccaccct ctgggggcg actcccaagt gtgaggagcc ccacaccag cccggcctgc	2880
tcctgcagc ccaaggatct ctctggagca caggcagcta gatgagacct cttccgaacc	2940
gacagatctc gggcaagccg ggcctgggcg cctttcctca gccagcagtg aagtccagga	3000
ggatattcag gactttgatg gctccagaat ttttaatgaa agcaagactg ctgctcagat	3060
ctattcagat aagcagcagg ttttataatt tttttattac tgattttggt atttttttt	3120
tttatcagcc actctcctat ctccacactg tagtcttcac cttgattggc ccagtgcctg	3180
aggggtggga ccacgcccctg tccagacact tgccttcttt gccaaagctaa tctgtagggc	3240
tggacctatg gccaaaggaca cactaatacc gaactctgag ctaggaggct ttaccgctgg	3300
aggcggtagc tgccaccac ttccgcaggc ctggacctcg gcaccatagg ggtccggact	3360
ccattttagg attcgccat tcctgtctct tcctacccaa ccaactcaatt aatctttcct	3420
tgccaggtc tagtctcctg tgcaactgagg gccacacaaa caccatgaga aggaccgaaa	3480
caaacacat tgtcacactc caacaaacac cattgtcaca ctccaacaaa caccattgtc	3600

acactccatt	cggacctcgg	aggctgagaa	cttaactgct	gaagacacgg	acactcctgc	3660
cctgctgtgt	atagatggaa	gatatttata	tattttttgg	ttgtcaatat	taaatacaga	3720
cactaagtta	tagtatatct	ggacaaaccc	acttgtaaat	acaccaacaa	actcctgtaa	3780
ctttacctaa	gcagatataa	atggctgggt	tttagaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	3840
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	actgtctcgc	3900
tgcggccgct	ctagagtatc	cctcgactct	agagtcgacc	cggggcgccct	cgaggacggg	3960
gtgaactacg	cctgaggatc	cgatcttttt	ccctctgcc	aaaattatgg	ggacatcatg	4020
aagccccttg	agcatctgac	ttctggctaa	taaaggaaat	ttattttcat	tgcaatagtg	4080
tgttggaatt	ttttgtgtct	ctcactcgg	agcaattcgt	tgatctgaat	ttcgaccacc	4140
cataataccc	attaccctgg	tagataagta	gcatggcggg	ttaatcatta	actacaagga	4200
accctagtgt	atggagttgg	ccactccctc	tctgcgcgct	cgctcgctca	ctgaggccgg	4260
gcgaccaaag	gtcgcccgc	gcccgggctt	tgcccgggcg	gcctcagtga	gcgagcgagc	4320
gcgcagcctt	aattaaccta	attcactggc	cgtcgtttta	caacgctcgtg	actgggaaaa	4380
ccctggcggt	acccaactta	atcgcccttc	agcacatccc	cctttcgcca	gctggcgtaa	4440
tagcgaagag	gcccgcaccg	atcgcccttc	ccaacagttg	cgcagcctga	atggcgaatg	4500
ggacgcgccc	tgtagcggcg	cattaagcgc	ggcgggtgtg	gtggttacgc	gcagcgtgac	4560
cgctacactt	gccagcgcgc	tagcgcgcgc	tcctttcgct	ttcttccctt	cctttctcgc	4620
cacgttcgcc	ggctttcccc	gtcaagctct	aaatcggggg	ctccctttag	ggttccgatt	4680
tagtgcttta	cggcacctcg	accccaaaaa	acttgattag	ggtgatgggt	cacgtagtgg	4740
gccatcgcgc	tgatagacgg	tttttcgccc	tttgacgttg	gagtccacgt	tctttaatag	4800
tggactcttg	ttccaaactg	gaacaacact	caaccctatc	tcggtctatt	cttttgattt	4860
ataagggatt	ttgccgattt	cggcctattg	gttaaaaaat	gagctgattt	aacaaaaatt	4920
taacgcgaat	tttaacaaaa	tattaacgct	tacaatttag	gtggcacttt	tcggggaaat	4980
gtgcgcgga	cccctatttg	tttatttttc	taaatacatt	caaatatgta	tcgctcatg	5040
agacaataac	cctgataaat	gcttcaataa	tattgaaaaa	ggaagagtat	gagtattcaa	5100
catttccgtg	tcgcccttat	tccctttttt	gcggcatttt	gccttctctg	ttttgctcac	5160
ccagaaacgc	tggtgaaagt	aaaagatgct	gaagatcagt	tgggtgcacg	agtgggttac	5220
atcgaactgg	atctcaacag	cggtaagatc	cttgagagtt	ttcgccccga	agaacgtttt	5280
ccaatgatga	gcacttttaa	agttctgcta	tgtggcgcg	tattatccc	tattgacgcc	5340
gggcaagagc	aactcggtcg	ccgcatacac	tattctcaga	atgacttggt	tgagtactca	5400
ccagtcacag	aaaagcatct	tacggatggc	atgacagtaa	gagaattatg	cagtgtctgcc	5460
ataaccatga	gtgataaac	tgcgccaac	ttacttctga	caacgatcgg	aggaccgaag	5520

gagctaaccg cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctcgccttga tcgttgggaa 5580  
ccggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg 5640  
gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa 5700  
ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc ggcccttccg 5760  
gctggctggg ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg cggtatcatt 5820  
gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacggggagt 5880  
caggcaacta tggatgaacg aatagacag atcgcgtgaga taggtgcctc actgattaag 5940  
cattggtaac tgtcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt aaaacttcat 6000  
ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct 6060  
taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct 6120  
tgagatcctt tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc accgctacca 6180  
gcggtgggtt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt aactggcttc 6240  
agcagagcgc agatacaaaa tactgttctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc 6300  
aagaactctg tagcacccgc tacatacctc gctctgctaa tcctgttacc agtggctgct 6360  
gccagtggcg ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag 6420  
gcgcagcggg cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc ccagcttgga gcgaacgacc 6480  
tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa gcgccacgct tcccgaaggg 6540  
agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg cacgagggag 6600  
cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca cctctgactt 6660  
gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc tatggaaaaa cgccagcaac 6720  
gcggcctttt tacggttcct ggcccttttg tggccttttg ctcacatggt ctttcctgcg 6780  
ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctcgc 6840  
cgcagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcaggg aagcggaaga gcgcccaata 6900  
cgcaaacgc ctctccccgc gcgttggccg attcattaat gcagctggca cgacaggttt 6960  
cccgactgga aagcgggcag tgagcgaac gcaattaatg tgagttagct cactcattag 7020  
gcaccccagg ctttacactt tatgcttccg gctcgtatgt tgtgtggaat tgtgagcggg 7080  
taacaatttc acacaggaaa cagctatgac catgattacg ccagatttaa ttaaggc 7137

<210> 60

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 5'ИКП

<400> 60

ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgctc ggcgaccttt 60  
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgagagagg gagtggccaa ctccatcact 120  
aggggttcct 130

<210> 61

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 61

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgtatt ac 382

<210> 62

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> промотор СВ

<400> 62

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccc cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 1479

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; mGlut1 κДНК

&lt;400&gt; 63

atggatccca gcagcaaga ggtgacgggc cgcctcatgt tggctgtggg aggagcagtg	60
ctcggatcac tgcagttcgg ctataacact ggtgtcatca acgccccca gaaggttatt	120
gaggagttct acaatcaaac atggaaccac cgctacggag agcccatccc atccaccaca	180
ctcaccacgc tttggtctct ctccgtggcc atcttctctg tcgggggcat gattggttcc	240
ttctctgtcg gcctctttgt taatcgcttt ggcaggcgga actccatgct gatgatgaac	300
ctgttggcct ttgtggctgc tgtgcttatg ggcttctcca aactgggcaa gtcctttgag	360
atgctgatec tgggccgctt catcatcggg gtgtactgcg gcctgactac tggctttgtg	420
cccatgtatg tgggagaggt gtcacctaca gctctacgtg gagccctagg cacactgcac	480
cagctgggaa tcgtcgttgg catccttatt gcccaggtgt ttggcttaga ctccatcatg	540
ggcaatgcag acttgtggcc tctgctgctc agtgtcatct tcatcccagc cctgctacag	600
tgtatcctgt tgcccttctg ccccgagagc ccccgcttcc tgctcatcaa tcgtaacgag	660
gagaaccggg ccaagagtgt gctgaagaag cttcgagggg cagccgatgt gacccgagac	720
ctgcaggaga tgaagaaga gggtcggcag atgatgcggg agaagaaggt caccatcttg	780
gagctgttcc gtcacccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggg gctgcagctg	840
tcccagcagc tgtcgggtat caatgctgtg ttctactact caacgagcat cttcgagaag	900
gcagggtgtc agcagcctgt gtacgccacc atcgggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtgggtg cgctgtttgt tgtagagcga gctggacgac ggaccctgca cctcattggc	1020
ctggctggca tggcaggctg tgctgtgctc atgaccatcg ccctggcctt gctggaacgg	1080
ctgccttggg tgctctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtaggcctg gtctatttcc atggttcatt gtggccgagc tgttcagcca ggggccccgt	1200
cctgctgcta ttgctgtggc tggcttctcc aactggacct caaacttcat tgtgggcatg	1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgcggc ccctacgtct tcatcatctt cacggtgctc	1320
ctcgtgctct tcttcatctt cacctacttc aaagtccctg agaccaaagg ccgaaccttc	1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggtgccagcc aaagtgacaa gacacccgag	1440

gagctcttcc accctctggg ggcggactcc caagtgtga

1479

<210> 64

<211> 1035

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 3'НТУ и 3x-miR122BS

<400> 64

ggagcccccac acccagcccc gcctgctccc tgcagcccaa ggatctctct ggagcacagg 60  
cagctagatg agacctcttc cgaaccgaca gatctcgggc aagccgggccc tgggcccctt 120  
tcctcagcca gcagtgaagt ccaggaggat attcaggact ttgatggctc cagaatTTTT 180  
aatgaaagca agactgctgc tcagatctat tcagataagc agcaggTTTT ataatTTTT 240  
tattactgat tttgttattt ttttttttta tcagccactc tcctatctcc aactgtagt 300  
cttcaccttg attggcccag tgccctgaggg tggggaccac gccctgtcca gacacttgcc 360  
ttctttgcca agctaacttg tagggctgga cctatggcca aggacacact aataccgaac 420  
tctgagctag gaggctttac cgctggaggg ggtagctgcc acccacttcc gcaggcctgg 480  
acctcggcac cataggggtc cggactccat ttaggattc gccattcct gtctcttct 540  
accaaccac tcaattaatc tttccttgcc tgagaccagt tggaagcact ggagtgcagg 600  
gaggagaggg aagggccagg ctgggctgcc aggttctagt ctctgtgca ctgagggcca 660  
cacaacacc atgagaagga ccgaaacaaa caccattgtc aactccaac aaacaccatt 720  
gtcacactcc aacaacacc attgtcacac tccattcggc cctcggaggg tgagaactta 780  
actgctgaag acacggacac tcctgcctg ctgtgtatag atggaagata tttatatatt 840  
ttttggttgt caatattaa tacagacact aagttatagt atatctggac aaaccactt 900  
gtaaatacac caacaactc ctgtaacttt acctaagcag atataaatgg ctggTTTTTT 960  
gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020  
aaaaaaaaaa aaaaaa 1035

<210> 65

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> сигнал Poly A

<400> 65  
gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact 60  
tctggctaataaaggaatt ttttttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc 120  
tcaactcg 127

<210> 66  
<211> 130  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> 3' ИКП

<400> 66  
aggaaccsct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcaactgagg 60  
ccgggcgacc aaaggctcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
gagcgcgca 130

<210> 67  
<211> 7138  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> pAAV CB6 PI mGlut1-out3xmiR-122 BS

<400> 67  
cttaattagg ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg 60  
ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa 120  
ctccatcaact aggggttctt tgtagttaat gattaaccgg ccatgctact tatctaccag 180  
ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat 240  
agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 300  
ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct ccgcccattg acgtcaataa 360  
tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 420  
atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc 480  
ctattgacgt caatgacggg aatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat 540  
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcat cgctattacc atgtcgaggc 600  
cacgttctgc ttcaactctcc ccactctccc ccctcccca cccccaattt tgtatttatt 660

tatTTTTTaa ttatTTTTgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcg	gccaggcggg	720
gcggggcggg gcgaggggcg gggcggggcg aggcggagag gtgcggcggc	agccaatcag	780
agcggcgcg tccgaaagtt tcctTTTTatg gcgagggcg	ggcggcgggc gccctataaa	840
aagcgaagcg cgcggcgggc gggagcaagc tttattgcgg	tagtttatca cagttaaatt	900
gctaacgcag tcagtgtctc tgacacaaca gtctcgaact	taagctgcag aagttggtcg	960
tgaggcactg ggcaggtaag tatcaagggtt acaagacagg	tttaaggaga ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt cgagacagag aagactcttg cgtttctgat	aggcacctat tggcttact	1080
gacatccact ttgcctttct ctccacaggt gtccactccc	agttcaatta cagctcttaa	1140
ggctagagta cttaatcga ctcaactatag gctagcgcg	cgaattcggc acgaggaaaa	1200
aggcagctcc gcgcgctctc cccaagagc agaggcttgc	ttgtagagtg acgatctgag	1260
ctacggggtc ttaagtgcgt cagggcgtgg aggtctggcg	ggagacgcat agttacagcg	1320
cgccgcttct ccgtctcgca gccggcacag ctagagcttc	gagcgcagcg cggccatgga	1380
tcccagcagc aagaaggtag cgggccgct catggtggct	gtgggaggag cagtgtcgg	1440
atcactgcag ttcggctata aactgggtgt catcaacgcc	ccccagaagg ttattgagga	1500
gttctacaat caaacatgga accaccgcta cggagagccc	atcccatcca ccacactcac	1560
cacgctttgg tctctctccg tggccatctt ctctgtcggg	ggcatgattg gttccttctc	1620
tgtcggcctc tttgttaatc gctttggcag gcggaactcc	atgctgatga tgaacctggt	1680
ggcctttgtg gctgctgtgc ttatgggctt ctccaaactg	ggcaagtcct ttgagatgct	1740
gatcctgggc cgcttcatca tcggtgtgta ctgcggcctg	actactggct ttgtgccc	1800
gtatgtggga gaggtgtcac ctacagctct acgtggagcc	ctaggcacac tgcaccagct	1860
gggaatcgtc gttggcatcc ttattgcca ggtgtttggc	ttagactcca tcatgggcaa	1920
tgcagacttg tggcctctgc tgctcagtgt catcttcac	ccagccctgc tacagtgtat	1980
cctgttgccc ttctgccccg agagccccg ctctctgctc	atcaatcgta acgaggagaa	2040
ccgggccaag agtgtgtgta agaagcttcg agggacagcc	gatgtgacct gagacctgca	2100
ggagatgaaa gaagagggtc ggcagatgat gcgggagaag	aaggtcacca tcttgagct	2160
gttccgctca cccgcctacc gccagcccat cctcatcgct	gtgggtgctgc agctgtccca	2220
gcagctgtcg ggtatcaatg ctgtgttcta ctactcaacg	agcatcttcg agaaggcagg	2280
tgtgcagcag cctgtgtacg ccaccatcgg ctccggtatc	gtcaacacgg ccttactgt	2340
ggtgtcgtg tttgtttag agcgagctgg acgacggacc	ctgcacctca ttggcctggc	2400
tggcatggca ggctgtgctg tgctcatgac catcgccctg	gccttgctgg aacggctgcc	2460
ttggatgtcc tatctgagca tcgtggccat ctttggcttt	gtggccttct ttgaagtagg	2520
ccctggctct attccatggt tcattgtggc cgagctgttc	agccaggggc cccgtcctgc	2580



tgctattgct	gtggctggct	tctccaactg	gacctcaaac	ttcattgtgg	gcatgtgctt	2640
ccagtatgtg	gagcaactgt	gcgggccccta	cgctcttcac	atctttcacgg	tgctcctcgt	2700
gctctttctt	atctttcacct	acttcaaagt	ccctgagacc	aaaggccgaa	ccttcgatga	2760
gatcgcttcc	ggcttccggc	aggggggtgc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	2820
ctccaccct	ctgggggcg	actcccaagt	gtgaggagcc	ccacaccag	cccggcctgc	2880
tcctgcagc	ccaaggatct	ctctggagca	caggcagcta	gatgagacct	cttccgaacc	2940
gacagatctc	gggcaagccg	ggcctgggcg	cctttctca	gccagcagtg	aagtccagga	3000
ggatattcag	gactttgatg	gctccagaat	ttttaatgaa	agcaagactg	ctgctcagat	3060
ctattcagat	aagcagcagg	ttttataatt	tttttattac	tgattttggt	atTTTTTTTT	3120
tttatcagcc	actctcctat	ctccacactg	tagtcttcac	cttgattggc	ccagtgcctg	3180
agggtgggga	ccacgccctg	tccagacact	tgctttcttt	gccaaagctaa	tctgtagggc	3240
tggacctatg	gccaaggaca	cactaatacc	gaactctgag	ctaggaggct	ttaccgctgg	3300
aggcggtagc	tgccaccac	ttccgcaggc	ctggacctcg	gcacatagg	ggtccggact	3360
ccattttagg	attcgcccat	tcctgtctct	tcctacccaa	ccactcaatt	aatctttcct	3420
tgctgagac	cagttggaag	cactggagtg	cagggaggag	aggggaagggc	caggctgggc	3480
tgccaggttc	tagtctcctg	tgactgagg	gccacacaaa	caccatgaga	aggacctcgg	3540
aggctgagaa	cttaactgct	gaagacacgg	acactcctgc	cctgctgtgt	atagatggaa	3600
gatatttata	tattttttgg	ttgtcaatat	taaatacaga	cactaagtta	tagtatatct	3660
ggacaaacc	acttgtaaat	acaccaacaa	actcctgtaa	ctttacctaa	gcagatataa	3720
atggctgggt	tttagaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	3780
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	actgtctcgc	tgcggcccg	aacaaacacc	3840
attgtcacac	tccaacaaac	accattgtca	cactccaaca	aacaccattg	tcacactcca	3900
ttcgggccgc	tctagagtat	ccctcgactc	tagagtcgac	ccggggcgcc	tcgaggacgg	3960
ggtgaactac	gcctgaggat	ccgatctttt	tcctctgccc	aaaaattatg	gggacatcat	4020
gaagcccctt	gagcatctga	cttctggcta	ataaaggaaa	tttattttca	ttgcaatagt	4080
gtgttggaat	ttttgtgtc	tctcactcgg	aagcaattcg	ttgatctgaa	tttcgaccac	4140
ccataatacc	cattaccctg	gtagataagt	agcatggcgg	gttaatcatt	aactacaagg	4200
aaccctagt	gatggagtgt	gccactccct	ctctgcgcgc	tcgctcgcct	actgaggccg	4260
ggcgacaaa	ggtcgcccga	cgcccgggct	ttgcccgggc	ggcctcagtg	agcgagcgag	4320
cgcgcagcct	taattaacct	aattcactgg	ccgtcgtttt	acaacgctcgt	gactgggaaa	4380
accctggcgt	taccaactt	aatgccttg	cagcacatcc	ccctttcgcc	agctggcgta	4440
atagcgaaga	ggcccgcacc	gatcgccctt	cccaacagtt	gcgcagcctg	aatggcgaat	4500

gggacgcgcc	ctgtagcggc	gcatlaagcg	cggcgggtgt	ggtggttacg	cgcagcgtga	4560
ccgctacact	tgccagcggc	ctagcgcgcc	ctcctttcgc	tttcttccct	tcctttctcg	4620
ccacgttcgc	cggctttccc	cgtcaagctc	taaatcgggg	gctcccttta	gggttccgat	4680
ttagtgcttt	acggcacctc	gacccccaaa	aacttgatta	gggtgatggt	tcacgtagtg	4740
ggccatcgcc	ctgatagacg	gtttttcgcc	ctttgacggt	ggagtccacg	ttctttaata	4800
gtggactctt	gttccaaact	ggaacaacac	tcaaccctat	ctcggctctat	tccttttgatt	4860
tataagggat	tttgccgatt	tcggcctatt	ggttaaaaaa	tgagctgatt	taacaaaaat	4920
ttaacgcgaa	ttttaacaaa	atattaacgc	ttacaattta	ggtggcactt	ttcggggaaa	4980
tgtgcgcgga	accctatatt	gtttatTTTT	ctaaatacat	tcaaataatgt	atccgctcat	5040
gagacaataa	ccctgataaa	tgcttcaata	atattgaaaa	aggaagagta	tgagtattca	5100
acatttccgt	gtcgccttta	ttccctTTTT	tgcggcattt	tgcttctctg	tttttgcctc	5160
cccagaaacg	ctggtgaaag	taaaagatgc	tgaagatcag	ttgggtgcac	gagtgggtta	5220
catcgaactg	gatctcaaca	gcggttaagat	ccttgagagt	tttcgccccg	aagaacgttt	5280
tccaatgatg	agcactttta	aagttctgct	atgtggcgcg	gtattatccc	gtattgacgc	5340
cgggcaagag	caactcggtc	gccgcataca	ctattctcag	aatgacttgg	ttgagtactc	5400
accagtcaca	gaaaagcatc	ttacggatgg	catgacagta	agagaattat	gcagtgctgc	5460
cataaccatg	agtgataaca	ctgcggccaa	cttacttctg	acaacgatcg	gaggaccgaa	5520
ggagctaacc	gcttttttgc	acaacatggg	ggatcatgta	actcgccttg	atcgttggga	5580
accggagctg	aatgaagcca	taccaaacga	cgagcgtgac	accacgatgc	ctgtagcaat	5640
ggcaacaacg	ttgcgcaaac	tattaactgg	cgaactactt	actctagctt	cccggcaaca	5700
attaatagac	tggatggagg	cggataaagt	tgcaggacca	cttctgcgct	cggcccttcc	5760
ggctggctgg	tttattgctg	ataaatctgg	agccgggtgag	cgtgggtctc	gcggtatcat	5820
tgcagcactg	gggccagatg	gtaagccctc	ccgtatcgta	gttatctaca	cgacggggag	5880
tcaggcaact	atggatgaac	gaaatagaca	gatcgcctgag	ataggtgcct	cactgattaa	5940
gcattggtaa	ctgtcagacc	aagtttactc	atatatactt	tagattgatt	taaaacttca	6000
ttttaattt	aaaaggatct	aggtgaagat	cctttttgat	aatctcatga	ccaaaatccc	6060
ttaacgtgag	ttttcgttcc	actgagcgtc	agaccccgta	gaaaagatca	aaggatcttc	6120
ttgagatcct	ttttttctgc	gcgtaatctg	ctgcttgcaa	acaaaaaac	caccgctacc	6180
agcggtggtt	tgtttgccgg	atcaagagct	accaactctt	tttccgaagg	taactggctt	6240
cagcagagcg	cagataccaa	atactgttct	tctagtgtag	ccgtagttag	gccaccactt	6300
caagaactct	gtagcaccgc	ctacatacct	cgctctgcta	atcctgttac	cagtggctgc	6360
tgccagtggc	gataagtcgt	gtcttaccgg	gttggactca	agacgatagt	taccggataa	6420

ggcgagcgg tcgggctgaa cgggggggttc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac 6480  
 ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg 6540  
 gagaaaggcg gacaggtatc cggtaagcgg caggggtcggg acaggagagc gcacgagggg 6600  
 gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact 6660  
 tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggaggagc ctatggaaaa acgccagcaa 6720  
 cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc 6780  
 gttatcccct gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gaggtagctg ataccgctcg 6840  
 ccgagccga acgaccgagc gcagcagtc agtgagcagc gaagcgggag agcgcccaat 6900  
 acgcaaaccg cctctccccg cgcggtggcc gattcattaa tgcagctggc acgacaggtt 6960  
 tcccgactgg aaagcgggca gtgagcgaac cgcaattaat gtgagttagc tcaactatta 7020  
 ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc ggctcgtatg ttgtgtggaa ttgtgagcgg 7080  
 ataacaattt cacacaggaa acagctatga ccatgattac gccagattta attaaggc 7138

<210> 68

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 5'ИКП

<400> 68

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgtcg ggcgaccttt 60

ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcagcgc cgagagagg gaggggcaca ctccatcact 120

aggggttcct 130

<210> 69

<211> 382

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 69

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60

atagcccata tatggagtcc cgcggtacat aacttacggg aaatggcccg cctggctgac 120

cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180

tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 70  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> промотор СВ

<400> 70  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagtgc cgcgttacat aacttacggg aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgccc ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 71  
<211> 1479  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> mGlut1 кДНК

<400> 71  
atggatccca gcagcaaga ggtgacgggc cgcctcatgt tggctgtggg aggagcagtg 60  
ctcggatcac tgcagttcgg ctataaact ggtgtcatca acgccccca gaaggttatt 120  
gaggagtctt acaatcaaac atggaaccac cgctacggag agcccatccc atccaccaca 180  
ctcaccacgc tttggtctct ctccgtggcc atcttctctg tcgggggcat gattggttcc 240  
ttctctgtcg gcctctttgt taatcgcttt ggcaggcgga actccatgct gatgatgaac 300  
ctgttggcct ttgtggctgc tgtgcttatg ggcttctcca aactgggcaa gtcctttgag 360  
atgctgatcc tgggccgctt catcatcggg gtgtactgcg gcctgactac tggctttgtg 420

cccatgtatg tgggagaggt gtcacctaca gctctacgtg gagccctagg cacactgcac	480
cagctgggaa tcgtcgttgg catccttatt gcccaggtgt ttggcttaga ctccatcatg	540
ggcaatgcag acttgtggcc tctgctgctc agtgtcatct tcatcccagc cctgctacag	600
tgtatcctgt tgcccttctg ccccgagagc ccccgcttcc tgctcatcaa tcgtaacgag	660
gagaaccggg ccaagagtgt gctgaagaag cttcgagggg cagccgatgt gacccgagac	720
ctgcaggaga tgaagaaga gggtcggcag atgatgcggg agaagaaggt caccatcttg	780
gagctgttcc gtcacccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggg gctgcagctg	840
tcccagcagc tgtcgggtat caatgctgtg ttctactact caacgagcat cttcgagaag	900
gcaggtgtgc agcagcctgt gtacgccacc atcggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtgggtg cgctgtttgt tgtagagcga gctggacgac ggaccctgca cctcattggc	1020
ctggctggca tggcaggctg tgctgtgctc atgaccatcg ccctggcctt gctggaacgg	1080
ctgccttgga tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtaggccctg gtcctattcc atggttcatt gtggccgagc tgttcagcca ggggccccgt	1200
cctgctgcta ttgctgtggc tggtctctcc aactggacct caaacttcat tgtgggcatg	1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgcggc ccctacgtct tcatcatctt cacggtgctc	1320
ctcgtgctct tcttcatctt cacctacttc aaagtccttg agaccaaagg ccgaaccttc	1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggtgccagcc aaagtgacaa gacacccgag	1440
gagctcttcc accctctggg ggcggactcc caagtgtga	1479

<210> 72

<211> 955

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> 3'НТУ

<400> 72

ggagcccccac acccagcccc gcctgctccc tgcagcccaa ggatctctct ggagcacagg	60
cagctagatg agacctcttc cgaaccgaca gatctcgggc aagccggggc tgggcgccctt	120
tcctcagcca gcagtgaagt ccaggaggat attcaggact ttgatggctc cagaatTTTT	180
aatgaaagca agactgctgc tcagatctat tcagataagc agcaggTTTT ataatTTTT	240
tattactgat tttgttattt ttttttttta tcagccactc tcctatctcc aactgtagt	300
cttcaccttg attggcccag tgccctgaggg tggggaccac gccctgtcca gacacttgcc	360
ttctttgcca agctaactctg tagggctgga cctatggcca aggacacact aataccgaac	420

tctgagctag gaggctttac cgctggaggc ggtagctgcc acccacttcc gcaggcctgg	480
acctcggcac catagggggtc cggactccat tttaggattc gccatttctt gtctcttctt	540
acccaaccac tcaattaatc tttccttgcc tgagaccagt tggaagcact ggagtgcagg	600
gaggagaggg aagggccagg ctgggctgcc aggttctagt ctctgtgca ctgagggcca	660
cacaaacacc atgagaagga cctcggaggc tgagaactta actgctgaag acacggacac	720
tcttgccttg ctgtgtatag atggaagata tttatatatt ttttggttgt caatattaa	780
tacagacact aagttatagt atatctggac aaaccactt gtaaatacac caacaaactc	840
ctgtaacttt acctaagcag atataaatgg ctggttttta gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa	955

<210> 73  
 <211> 77  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический олигонуклеотид

<220>  
 <223> 3xmiR-122BS

<400> 73	
сгаасааас асаттгтса састссааса аасaccattg тсасactcca асааасасса	60
ttgtcacact ccattcg	77

<210> 74  
 <211> 127  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> сигнал Poly A

<400> 74	
gatctttttc cctctgccaа ааattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact	60
tctggctaат ааaggaaatt tattttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc	120
tcactcg	127

<210> 75  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический

полинуклеотид

<220>

<223> 3'ИКП

<400> 75

aggaaccsst agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcaactgagg 60

ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120

gagcgcgcag 130

<210> 76

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический праймер

<220>

<223> Glut1QPCR F1

<400> 76

cttgcttgta gagtgacgat c 21

<210> 77

<211> 20

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический праймер

<220>

<223> Glut1QPCR R1

<400> 77

cagtgatccg agcactgctc 20

<210> 78

<211> 492

<212> Белок

<213> Mus musculus

<220>

<223> аминокислотная последовательность mGlut1; семейство растворимых носителей 2, облегченный переносчик глюкозы член 1

<400> 78

Met Asp Pro Ser Ser Lys Lys Val Thr Gly Arg Leu Met Leu Ala Val  
1 5 10 15

Gly Gly Ala Val Leu Gly Ser Leu Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val  
20 25 30

Ile Asn Ala Pro Gln Lys Val Ile Glu Glu Phe Tyr Asn Gln Thr Trp

35

40

45

Asn His Arg Tyr Gly Glu Pro Ile Pro Ser Thr Thr Leu Thr Thr Leu  
50 55 60

Trp Ser Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser  
65 70 75 80

Phe Ser Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met  
85 90 95

Leu Met Met Asn Leu Leu Ala Phe Val Ala Ala Val Leu Met Gly Phe  
100 105 110

Ser Lys Leu Gly Lys Ser Phe Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Phe Ile  
115 120 125

Ile Gly Val Tyr Cys Gly Leu Thr Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Val  
130 135 140

Gly Glu Val Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Leu Gly Thr Leu His  
145 150 155 160

Gln Leu Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Ile Ala Gln Val Phe Gly Leu  
165 170 175

Asp Ser Ile Met Gly Asn Ala Asp Leu Trp Pro Leu Leu Leu Ser Val  
180 185 190

Ile Phe Ile Pro Ala Leu Leu Gln Cys Ile Leu Leu Pro Phe Cys Pro  
195 200 205

Glu Ser Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Asn Glu Glu Asn Arg Ala  
210 215 220

Lys Ser Val Leu Lys Lys Leu Arg Gly Thr Ala Asp Val Thr Arg Asp  
225 230 235 240

Leu Gln Glu Met Lys Glu Glu Gly Arg Gln Met Met Arg Glu Lys Lys  
245 250 255

Val Thr Ile Leu Glu Leu Phe Arg Ser Pro Ala Tyr Arg Gln Pro Ile  
260 265 270

Leu Ile Ala Val Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn  
275 280 285

Ala Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Ser Ile Phe Glu Lys Ala Gly Val Gln



290

295

300

Gln Pro Val Tyr Ala Thr Ile Gly Ser Gly Ile Val Asn Thr Ala Phe  
305 310 315 320

Thr Val Val Ser Leu Phe Val Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu  
325 330 335

His Leu Ile Gly Leu Ala Gly Met Ala Gly Cys Ala Val Leu Met Thr  
340 345 350

Ile Ala Leu Ala Leu Leu Glu Arg Leu Pro Trp Met Ser Tyr Leu Ser  
355 360 365

Ile Val Ala Ile Phe Gly Phe Val Ala Phe Phe Glu Val Gly Pro Gly  
370 375 380

Pro Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg  
385 390 395 400

Pro Ala Ala Ile Ala Val Ala Gly Phe Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe  
405 410 415

Ile Val Gly Met Cys Phe Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys Gly Pro Tyr  
420 425 430

Val Phe Ile Ile Phe Thr Val Leu Leu Val Leu Phe Phe Ile Phe Thr  
435 440 445

Tyr Phe Lys Val Pro Glu Thr Lys Gly Arg Thr Phe Asp Glu Ile Ala  
450 455 460

Ser Gly Phe Arg Gln Gly Gly Ala Ser Gln Ser Asp Lys Thr Pro Glu  
465 470 475 480

Glu Leu Phe His Pro Leu Gly Ala Asp Ser Gln Val  
485 490

<210> 79

<211> 492

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> аминокислотная последовательность hGlut1; семейство растворимых  
носителей 2, облегченный переносчик глюкозы член 1

<400> 79

Met Glu Pro Ser Ser Lys Lys Leu Thr Gly Arg Leu Met Leu Ala Val  
1 5 10 15

Gly Gly Ala Val Leu Gly Ser Leu Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val  
 20 25 30

Ile Asn Ala Pro Gln Lys Val Ile Glu Glu Phe Tyr Asn Gln Thr Trp  
 35 40 45

Val His Arg Tyr Gly Glu Ser Ile Leu Pro Thr Thr Leu Thr Thr Leu  
 50 55 60

Trp Ser Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser  
 65 70 75 80

Phe Ser Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met  
 85 90 95

Leu Met Met Asn Leu Leu Ala Phe Val Ser Ala Val Leu Met Gly Phe  
 100 105 110

Ser Lys Leu Gly Lys Ser Phe Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Phe Ile  
 115 120 125

Ile Gly Val Tyr Cys Gly Leu Thr Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Val  
 130 135 140

Gly Glu Val Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Leu Gly Thr Leu His  
 145 150 155 160

Gln Leu Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Ile Ala Gln Val Phe Gly Leu  
 165 170 175

Asp Ser Ile Met Gly Asn Lys Asp Leu Trp Pro Leu Leu Leu Ser Ile  
 180 185 190

Ile Phe Ile Pro Ala Leu Leu Gln Cys Ile Val Leu Pro Phe Cys Pro  
 195 200 205

Glu Ser Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Asn Glu Glu Asn Arg Ala  
 210 215 220

Lys Ser Val Leu Lys Lys Leu Arg Gly Thr Ala Asp Val Thr His Asp  
 225 230 235 240

Leu Gln Glu Met Lys Glu Glu Ser Arg Gln Met Met Arg Glu Lys Lys  
 245 250 255

Val Thr Ile Leu Glu Leu Phe Arg Ser Pro Ala Tyr Arg Gln Pro Ile  
 260 265 270

Leu Ile Ala Val Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn  
275 280 285

Ala Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Ser Ile Phe Glu Lys Ala Gly Val Gln  
290 295 300

Gln Pro Val Tyr Ala Thr Ile Gly Ser Gly Ile Val Asn Thr Ala Phe  
305 310 315 320

Thr Val Val Ser Leu Phe Val Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu  
325 330 335

His Leu Ile Gly Leu Ala Gly Met Ala Gly Cys Ala Ile Leu Met Thr  
340 345 350

Ile Ala Leu Ala Leu Leu Glu Gln Leu Pro Trp Met Ser Tyr Leu Ser  
355 360 365

Ile Val Ala Ile Phe Gly Phe Val Ala Phe Phe Glu Val Gly Pro Gly  
370 375 380

Pro Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg  
385 390 395 400

Pro Ala Ala Ile Ala Val Ala Gly Phe Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe  
405 410 415

Ile Val Gly Met Cys Phe Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys Gly Pro Tyr  
420 425 430

Val Phe Ile Ile Phe Thr Val Leu Leu Val Leu Phe Phe Ile Phe Thr  
435 440 445

Tyr Phe Lys Val Pro Glu Thr Lys Gly Arg Thr Phe Asp Glu Ile Ala  
450 455 460

Ser Gly Phe Arg Gln Gly Gly Ala Ser Gln Ser Asp Lys Thr Pro Glu  
465 470 475 480

Glu Leu Phe His Pro Leu Gly Ala Asp Ser Gln Val  
485 490

<210> 80

<211> 6834

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

ПОЛИНУКЛЕОТИД

<220>

<223> pAAV CB6 PI hGlut1- EGFP

<400> 80

cttaattagg	ctgcgcgctc	gctcgcctcac	tgaggccgcc	cgggcaaagc	ccgggcgctcg	60
ggcgaccttt	ggtcgcccgg	cctcagtgag	cgagcgagcg	cgagagagg	gagtgggcaa	120
ctccatcact	aggggttctt	tgtagttaat	gattaaccgg	ccatgctact	tatctaccag	180
ggtaatgggg	atcctctaga	actatagcta	gtcgacattg	attattgact	agttattaat	240
agtaatcaat	tacggggctc	ttagttcata	gcccataat	ggagttccgc	gttacataac	300
ttacggtaaa	tggcccgcct	ggctgaccgc	ccaacgacct	ccgcccattg	acgtcaataa	360
tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	420
atttacggta	aactgcccac	ttggcagtac	atcaagtgta	tcatatgcca	agtacgcccc	480
ctattgacgt	caatgacggg	aatggcccc	cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	540
gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	tattagtcac	cgctattacc	atgtcgaggc	600
cacgttctgc	ttactctccc	ccatctcccc	cccctcccca	cccccaattt	tgtattttatt	660
tatttttttaa	ttattttgtg	cagcgatggg	ggcggggggg	gggggcgcg	gccaggcggg	720
gccccggggg	gagggggggg	ggcggggggg	agggcgagag	gtgccccggc	agccaatcag	780
agccccggcg	tccgaaagtt	tccttttatg	gagggcgggc	ggcgggcgcg	gccctataaa	840
aagcgaagcg	cgcggggggc	gggagcaagc	tttattgctg	tagtttatca	cagttaaatt	900
gctaacgcag	tcagtgtctc	tgacacaaca	gtctcgaact	taagctgcag	aagttgggtcg	960
tgaggcactg	ggcaggtaag	tatcaagggt	acaagacagg	tttaaggaga	ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt	cgagacagag	aagactcttg	cgtttctgat	aggcacctat	tggtcttact	1080
gacatccact	ttgcctttct	ctccacaggt	gtccactccc	agttcaatta	cagctcttaa	1140
ggctagagta	cttaatacga	ctcactatag	gctagcgcgc	cgaattcggc	acgaggaaaa	1200
aggcagctcc	gcgcgctctc	ccccaaagag	agaggcttgc	ttgtagagtg	acgatctgag	1260
ctacggggtc	ttaagtgcgt	cagggcgtgg	aggtctggcg	ggagacgcat	agttacagcg	1320
cgcccgcttc	ccgtctcgca	gccggcacag	ctagagcttc	gagcgcagcg	cgcccatgga	1380
tcccagcagc	aagaagggtg	cgggcccgcct	catgttggct	gtgggaggag	cagtgtctcg	1440
atcactgcag	ttcggctata	acactgggtg	catcaacgcc	ccccagaagg	ttattgagga	1500
gttctacaat	caaacatgga	accaccgcta	cggagagccc	atcccatcca	ccacactcac	1560
cacgctttgg	tctctctccg	tggccatctt	ctctgtcggg	ggcatgattg	gttccttctc	1620
tgctggcctc	tttgttaatc	gctttggcag	gcggaactcc	atgctgatga	tgaacctggt	1680
ggcctttgtg	gctgctgtgc	ttatgggctt	ctccaaactg	ggcaagtcc	ttgagatgct	1740

gatcctgggc	cgcttcatca	tcggtgtgta	ctgcggcctg	actactggct	ttgtgcccat	1800
gtatgtggga	gaggtgtcac	ctacagctct	acgtggagcc	ctaggcacac	tgcaccagct	1860
gggaatcgtc	gttggcatcc	ttattgcca	ggtgtttggc	ttagactcca	tcatgggcaa	1920
tgcagacttg	tggcctctgc	tgctcagtgt	catcttcatc	ccagccctgc	tacagtgtat	1980
cctgttgccc	ttctgccccg	agagcccccg	cttcctgctc	atcaatcgta	acgaggagaa	2040
ccgggccaag	agtgtgctga	agaagcttcg	agggacagcc	gatgtgacce	gagacctgca	2100
ggagatgaaa	gaagagggtc	ggcagatgat	gcgggagaag	aaggtcacca	tcttggagct	2160
gttccgctca	cccgcctacc	gccagcccat	cctcatcgct	gtgggtgctgc	agctgtccca	2220
gcagctgtcg	ggtatcaatg	ctgtgttcta	ctactcaacg	agcatcttcg	agaaggcagg	2280
tgtgcagcag	cctgtgtacg	ccaccatcgg	ctccggtatc	gtcaaacacgg	ccttcaactgt	2340
ggtgtcgtcg	tttgtttag	agcgagctgg	acgacggacc	ctgcacctca	ttggcctggc	2400
tggcatggca	ggctgtgctg	tgctcatgac	catcgccctg	gccttgctgg	aacggctgcc	2460
ttggatgtcc	tatctgagca	tcgtggccat	ctttggcttt	gtggccttct	ttgaagtagg	2520
ccctggtcct	attccatggt	tcattgtggc	cgagctgttc	agccaggggc	cccgtcctgc	2580
tgctattgct	gtggctggct	tctccaactg	gacctcaaac	ttcattgtgg	gcatgtgctt	2640
ccagtatgtg	gagcaactgt	gcgggcccta	cgcttctcatc	atcttcacgg	tgctcctcgt	2700
gctcttcttc	atcttcacct	acttcaaagt	ccctgagacc	aaaggccgaa	ccttcgatga	2760
gatcgcttcc	ggcttccggc	aggggggtgc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	2820
cttccacct	ctgggggcg	actcccaagt	gaccggtgcc	atggtgagca	agggcgagga	2880
gctgttcacc	ggggtggtgc	ccatcctggt	cgagctggac	ggcgacgtaa	acggccacaa	2940
gttcagcgtg	tccggcgagg	gcgagggcga	tgccacctac	ggcaagctga	ccctgaagtt	3000
catctgcacc	accggcaagc	tgcccgtgcc	ctggcccacc	ctcgtgacca	ccctgaccta	3060
cggcgtgcag	tgcttcagcc	gctaccccga	ccacatgaag	cagcacgact	tcttcaagtc	3120
cgccatgcc	gaaggctacg	tccaggagcg	caccatcttc	ttcaaggacg	acggcaacta	3180
caagaccgc	gccgaggtga	agttcgaggg	cgacaccctg	gtgaaccgca	tcgagctgaa	3240
gggcatcgac	ttcaaggagg	acggcaacat	cctggggcac	aagctggagt	acaactacaa	3300
cagccacaac	gtctatatca	tggccgacaa	gcagaagaac	ggcatcaagg	tgaacttcaa	3360
gatccgccac	aacatcgagg	acggcagcgt	gcagctcgcc	gaccactacc	agcagaacac	3420
ccccatcggc	gacggccccg	tgctgctgcc	cgacaaccac	tacctgagca	cccagtcgc	3480
cctgagcaaa	gaccccaacg	agaagcgcga	tcacatggtc	ctgctggagt	tcgtgaccgc	3540
cgccgggatc	actctcggca	tggacgagct	gtacaagtaa	agcggccatc	aagcttatcg	3600
ggccgctcta	gagtatccct	cgactctaga	gtcgaccctg	gcggcctcga	ggacgggggtg	3660

aactacgcct	gaggatccga	tctttttccc	tctgccaaaa	attatgggga	catcatgaag	3720
ccccttgagc	atctgacttc	tggctaataa	aggaaattta	ttttcattgc	aatagtgtgt	3780
tggaatTTTT	tgtgtctctc	actcgggaagc	aattcgttga	tctgaatttc	gaccacccat	3840
aataccatt	accctggtag	ataagtagca	tggcgggtta	atcattaact	acaaggaacc	3900
cctagtgatg	gagttggcca	ctccctctct	gcgcgctcgc	tcgctcactg	aggccgggcg	3960
accaaaggtc	gcccgacgcc	cgggctttgc	ccgggcggcc	tcagtgagcg	agcgagcgcg	4020
cagccttaat	taacctaatt	cactggccgt	cgTTTTTaaa	cgTcgtgact	gggaaaacc	4080
tggcgttacc	caacttaatc	gccttgacgc	acatccccct	ttcgccagct	ggcgtaatat	4140
cgaagaggcc	cgcaccgatc	gcccttccca	acagttgctc	agcctgaatg	gcgaatggga	4200
cgcgcctgt	agcggcgcat	taagcgcggc	gggtgtgggtg	gttacgcgca	gcgtgaccgc	4260
tacacttgcc	agcgccttag	cgcccgtctc	tttcgctttc	ttcccttctt	ttctcgccac	4320
gttcgccggc	tttccccgtc	aagctctaaa	tcgggggctc	cctttagggt	tccgatttag	4380
tgctttacgg	cacctcgacc	caaaaaact	tgattagggt	gatggttcac	gtagtgggcc	4440
atcgccctga	tagacggttt	ttcgcccttt	gacgttggag	tccacgttct	ttaatagtgg	4500
actcttgttc	caaactggaa	caacactcaa	ccctatctcg	gtctattctt	ttgatttata	4560
agggattttg	ccgatttcgg	cctattgggt	aaaaaatgag	ctgatttaac	aaaaatttaa	4620
cgcgaatTTT	aacaaaatat	taacgcttac	aatttaggtg	gcacttttct	gggaaatgtg	4680
cgcggaacc	ctatttgttt	atTTTTTctaa	atacattcaa	atatgtatcc	gctcatgaga	4740
caataaccct	gataaatgct	tcaataatat	tgaaaaagga	agagtatgag	tattcaacat	4800
ttccgtgtcg	cccttattcc	ctTTTTTtgcg	gcattttgcc	ttcctgtttt	tgctcaccca	4860
gaaacgctgg	tgaaagtaaa	agatgctgaa	gatcagttgg	gtgcacgagt	gggttacatc	4920
gaactggatc	tcaacagcgg	taagatcctt	gagagttttc	gccccgaaga	acgttttcca	4980
atgatgagca	cttttaaagt	tctgctatgt	ggcgcgggtat	tatcccgtat	tgacgcgggg	5040
caagagcaac	tcggctgccc	catacactat	tctcagaatg	acttggttga	gtactcacca	5100
gtcacagaaa	agcatcttac	ggatggcatg	acagtaagag	aattatgcag	tgctgccata	5160
accatgagtg	ataaactgct	ggccaactta	cttctgacaa	cgatcggagg	accgaaggag	5220
ctaaccgctt	ttttgcacaa	catgggggat	catgtaactc	gccttgatcg	ttgggaaccg	5280
gagctgaatg	aagccatacc	aaacgacgag	cgtgacacca	cgatgcctgt	agcaatggca	5340
acaacgttgc	gcaaactatt	aactggcgaa	ctacttactc	tagcttcccg	gcaacaatta	5400
atagactgga	tggaggcgga	taaagttgca	ggaccacttc	tgcgctcggc	ccttccggct	5460
ggctggTTTa	ttgctgataa	atctggagcc	ggtgagcgtg	ggTctcgcgg	tatcattgca	5520
gcactggggc	cagatggtaa	gccctcccgt	atcgtagtta	tctacacgac	ggggagtcag	5580

gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag gtgcctcact gattaagcat	5640
tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga ttgatttaaa acttcatttt	5700
taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa	5760
cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga	5820
gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacia aaaaaccacc gctaccagcg	5880
gtggtttggt tgccggatca agagctacca actctttttc cgaaggtaac tggcttcage	5940
agagcgcaga taccaatac tgttcttcta gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag	6000
aactctgtag caccgcctac atacctcgt ctgctaatac tgttaccagt ggctgctgcc	6060
agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac gatagttacc ggataaggcg	6120
cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca gcttggagcg aacgacctac	6180
accgaactga gatactaca gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga	6240
aaggcggaca ggtatccgtt aagcggcagg gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt	6300
ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag	6360
cgtcgatttt tgtgatgctc gtcagggggg cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg	6420
gcctttttac ggttctctggc cttttgctgg cttttgctc acatgttctt tcttgcgtta	6480
tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac cgctcgcgcg	6540
agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag cggaagagcg cccaatacgc	6600
aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca gctggcacga caggtttccc	6660
gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga gttagctcac tcattaggca	6720
ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgtatgttgt gtggaattgt gagcggataa	6780
caatttcaca caggaaacag ctatgacat gattacgcca gatttaatta aggc	6834

<210> 81

<211> 130

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

<220>

<223> 5'ИКП

<400> 81

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgtcg ggcgaccttt	60
--	----

ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgcgcg cgcagagagg gaggggccaa ctccatcact	120
---	-----

aggggttcct	130
------------	-----

<210> 82

<211> 382

<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 82  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 83  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> промотор СВ

<400> 83  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 84  
<211> 717  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>



<223> eGFP

<400> 84

atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac	60
ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac	120
ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc	180
ctcgtgacca ccctgaccta cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag	240
cagcagcact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc	300
ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg	360
gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac	420
aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac	480
ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc	540
gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac	600
tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga tcacatggtc	660
ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaag	717

<210> 85

<211> 1959

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> кДНК hGlut1 и 3'НТУ

<400> 85

atggagccca gcagcaaga gctgacgggt cgcctcatgc tggccgtggg aggagcagtg	60
cttggctccc tgcagtttgg ctacaacact ggagtcatca atgccccca gaaggatgatc	120
gaggagttct acaaccagac atgggtccac cgctatgggg agagcatcct gccaccacg	180
ctcaccacgc tctggtcctt ctcagtggcc atcttttctg ttgggggcat gattggctcc	240
ttctctgtgg gccttttctg taaccgcttt ggccggcgga attcaatgct gatgatgaac	300
ctgctggcct tcgtgtccgc cgtgctcatg ggcttctcga aactgggcaa gtcctttgag	360
atgctgatcc tgggcccgtt catcatcggg gtgtactgtg gcctgaccac aggcttcgtg	420
cccatgtatg tgggtgaagt gtcaccaca gcccttcgtg gggccctggg caccctgcac	480
cagctgggca tcgtcgtcgg catcctcatc gcccaggtgt tcggcctgga ctccatcatg	540
ggcaacaagg acctgtggcc cctgctgctg agcatcatct tcatcccggc cctgctgcag	600
tgcatcgtgc tgcccttctg ccccagaggt ccccgcttcc tgctcatcaa ccgcaacgag	660
gagaaccggg ccaagagtgt gctaaagaag ctgcgcggga cagctgacgt gacccatgac	720

ctgcaggaga tgaaggaaga gagtcggcag atgatgcggg agaagaaggt caccatcctg	780
gagctgttcc gctccccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggt gctgcagctg	840
tcccagcagc tgtctggcat caacgctgtc ttctattact ccacgagcat cttcgagaag	900
gcgggggtgc agcagcctgt gtatgccacc attggctccg gtatcgtcaa cacggccttc	960
actgtcgtgt cgctgtttgt ggtggagcga gcaggccggc ggaccctgca cctcataggc	1020
ctcgctggca tggcgggttg tgccatactc atgaccatcg cgctagcact gctggagcag	1080
ctaccccgga tgtcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa	1140
gtgggtcctg gccccatccc atggttcatc gtggctgaac tcttcagcca ggggccacgt	1200
ccagctgcca ttgccgttgc aggcttctcc aactggacct caaatctcat tgtgggcatg	1260
tgcttccagt atgtggagca actgtgtggt ccctacgtct tcatcatctt cactgtgctc	1320
ctggttctgt tcttcatctt cacctacttc aaagttcctg agactaaagg ccggaccttc	1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggagccagcc aaagtgacaa gacacccgag	1440
gagctgttcc atcccctggg ggctgattcc caagtgtgag tcgccccaga tcaccagccc	1500
ggcctgctcc cagcagccct aaggatctct caggagcaca ggcagctgga tgagacttcc	1560
aaacctgaca gatgtcagcc gagccggggc tggggctcct ttctccagcc agcaatgatg	1620
tccagaagaa tattcaggac ttaacggctc caggatttta acaaaagcaa gactgttgct	1680
caaatctatt cagacaagca acaggtttta taatTTTTTT attactgatt ttgttatttt	1740
tatatcagcc tgagtctcct gtgccacat cccaggcttc accctgaatg gttccatgcc	1800
tgagggtgga gactaagccc tgtcgagaca cttgccttct tcaccagct aatctgtagg	1860
gctggacctg tgtcctaagg acacactaat cgaactatga actacaaagc ttctatccca	1920
ggaggtggct atggccaccc gttctgctgg cctggatct	1959

<210> 86

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> сигнал Poly A

<400> 86

gatctttttc cctctgcca aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact 60

tctggctaataaaggaatt tattttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc 120

tcactcg 127

<210> 87  
<211> 130  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> 3' ИКП

<400> 87  
aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 60  
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120  
gagcgcgag 130

<210> 88  
<211> 6885  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
<223> pAAV CB6 PI mGlut1-2A- EGFP

<400> 88  
cttaattagg ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctcg 60  
ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgagagagg gagtggccaa 120  
ctccatcact aggggttctt tgtagttaat gattaaccgg ccatgctact tatctaccag 180  
ggtaatgggg atcctctaga actatagcta gtcgacattg attattgact agttattaat 240  
agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 300  
ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgacct ccgccattg acgtcaataa 360  
tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 420  
atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta tcatatgcca agtacgccc 480  
ctattgacgt caatgacggg aaatggcccg cctggcatta tgcccagtac atgaccttat 540  
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgtcgagggc 600  
cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca ccccaattt tgtatttatt 660  
tattttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcggggggg gggggcgcgc gccaggcggg 720  
gcgggcgggg gcgagggcg gggcgggcg aggcggagag gtgcgggcggc agccaatcag 780  
agcggcgcgc tccgaaagtt tccttttatg gcgaggcggc ggcggcgggc gccctataaa 840  
aagcgaagcg cgcggcgggc gggagcaagc tttattgcgg tagtttatca cagttaaatt 900  
gctaacgcag tcagtgttc tgacacaaca gtctcgaact taagctgcag aagttggctcg 960

tgaggcactg	ggcaggtaag	tatcaagggt	acaagacagg	tttaaggaga	ccaatagaaa	1020
ctgggcttgt	cgagacagag	aagactcttg	cgtttctgat	aggcacctat	tggtcttact	1080
gacatccact	ttgcctttct	ctccacaggt	gtccactccc	agttcaatta	cagctcttaa	1140
ggctagagta	cttaatacga	ctcactatag	gctagcgcgc	cgaattcggc	acgaggaaaa	1200
aggcagctcc	gcgcgctctc	ccccaaagagc	agaggcttgc	ttgtagagtg	acgatctgag	1260
ctacggggtc	ttaagtgcgt	cagggcgtgg	aggtctggcg	ggagacgcat	agttacagcg	1320
cgcccgttct	ccgtctcgca	gccggcacag	ctagagcttc	gagcgcagcg	cggccatgga	1380
tcccagcagc	aagaaggatg	cgggccgcct	catgttggct	gtgggaggag	cagtgcctcg	1440
atcactgcag	ttcggctata	acactgggtg	catcaacgcc	ccccagaagg	ttattgagga	1500
gttctacaat	caaacatgga	accaccgcta	cggagagccc	atcccatcca	ccacactcac	1560
cacgctttgg	tctctctccg	tggccatctt	ctctgtcggg	ggcatgattg	gttccttctc	1620
tgtcggcctc	tttgtaatac	gctttggcag	gcggaactcc	atgctgatga	tgaacctggt	1680
ggcctttgtg	gctgctgtgc	ttatgggctt	ctccaaactg	ggcaagtcc	ttgagatgct	1740
gatcctgggc	cgcttcatca	tcgggtgtgta	ctgcggcctg	actactggct	ttgtgccc	1800
gtatgtggga	gaggtgtcac	ctacagctct	acgtggagcc	ctaggcacac	tgcaccagct	1860
gggaatcgtc	gttggcatcc	ttattgcca	gggttttggc	ttagactcca	tcatgggcaa	1920
tgcagacttg	tggcctctgc	tgctcagtgt	catcttcac	ccagccctgc	tacagtgtat	1980
cctgttgccc	ttctgccccg	agagcccccg	cttctgctc	atcaatcgta	acgaggagaa	2040
ccgggccaag	agtgtgctga	agaagcttcg	agggacagcc	gatgtgacc	gagacctgca	2100
ggagatgaaa	gaagagggtc	ggcagatgat	gcgggagaag	aaggtcacca	tcttgagct	2160
gttccgctca	cccgcctacc	gccagcccat	cctcatcgct	gtgggtgctgc	agctgtccca	2220
gcagctgtcg	ggtatcaatg	ctgtgttcta	ctactcaacg	agcatcttcg	agaaggcagg	2280
tgtgcagcag	cctgtgtacg	ccaccatcgg	ctccggtatc	gtcaacacgg	ccttactgt	2340
gggtgtcgtg	tttgtttag	agcgagctgg	acgacggacc	ctgcacctca	ttggcctggc	2400
tggcatggca	ggctgtgctg	tgctcatgac	catcgccctg	gccttgctgg	aacggctgcc	2460
ttggatgtcc	tatctgagca	tcgtggccat	ctttggcttt	gtggccttct	ttgaagtagg	2520
ccctggctct	attccatggt	tcattgtggc	cgagctgttc	agccaggggc	cccgtcctgc	2580
tgctattgct	gtggctggct	tctccaactg	gacctcaaac	ttcattgtgg	gcatgtgctt	2640
ccagtatgtg	gagcaactgt	gcggcccccta	cgtcttcac	atcttcacgg	tgctcctcgt	2700
gctcttcttc	atcttcacct	acttcaaagt	ccctgagacc	aaaggccgaa	ccttcgatga	2760
gateccttcc	ggcttccggc	aggggggtgc	cagccaaagt	gacaagacac	ccgaggagct	2820
cttccaccct	ctggggggcg	actcccaagt	gaccggtaat	tttgaccttc	ttaagcttgc	2880

gggagacgtc	gagtccaacc	ctgggcccgc	catggtgagc	aagggcgagg	agctgttcac	2940
cggggtggtg	cccatcctgg	tcgagctgga	cggcgacgta	aacggccaca	agttcagcgt	3000
gtccggcgag	ggcgagggcg	atgccaccta	cggcaagctg	accctgaagt	tcattctgcac	3060
caccggcaag	ctgcccgtgc	cctggcccac	cctcgtgacc	accctgacct	acggcgtgca	3120
gtgcttcagc	cgctaccccg	accacatgaa	gcagcacgac	ttcttcaagt	ccgccatgcc	3180
cgaaggctac	gtccaggagc	gcaccatctt	cttcaaggac	gacggcaact	acaagacccg	3240
cgccgaggtg	aagtctgagg	gcgacaccct	ggtgaaccgc	atcgagctga	agggcatcga	3300
cttcaaggag	gacggcaaca	tcctggggca	caagctggag	tacaactaca	acagccacaa	3360
cgtctatatac	atggccgaca	agcagaagaa	cggcatcaag	gtgaacttca	agatccgcca	3420
caacatcgag	gacggcagcg	tgcagctcgc	cgaccactac	cagcagaaca	ccccatcgg	3480
cgacggcccc	gtgctgctgc	ccgacaacca	ctacctgagc	accagtcctg	ccctgagcaa	3540
agacccaac	gagaagcgcg	atcacatggt	cctgctggag	ttcgtgaccg	ccgccgggat	3600
cactctcggc	atggacgagc	tgtacaagta	aagcggccat	caagcttatac	gggccgctct	3660
agagtatccc	tcgactctag	agtcgaccctg	ggggcctcgc	aggacgggggt	gaactacgcc	3720
tgaggatccg	atctttttcc	ctctgccaaa	aattatgggg	acatcatgaa	gccccttgag	3780
catctgactt	ctggctaata	aaggaaatth	atthctattg	caatagtgtg	ttggaatth	3840
ttgtgtctct	cactcggag	caattcgttg	atctgaatth	cgaccacca	taataccat	3900
taccctggta	gataagtagc	atggcgggtt	aatcattaac	tacaaggaac	ccctagtgat	3960
ggagttggcc	actccctctc	tgcgcgctcg	ctcgtcact	gaggccgggc	gaccaaaggt	4020
cgcccagcgc	ccgggctttg	cccgggcggc	ctcagtgagc	gagcgagcgc	gcagccttaa	4080
ttaacctaat	tcactggccg	tcgttttaca	acgtcgtgac	tgggaaaacc	ctggcgttac	4140
ccaacttaat	cgctttgcag	cacatcccc	tttcgccagc	tggcgtaata	gcgaagagggc	4200
ccgcaccgat	cgcccttccc	aacagttgcg	cagcctgaat	ggcgaatggg	acgcgccttg	4260
tagcggcgca	ttaagcgcgg	cgggtgtggt	ggttacgcgc	agcgtgaccg	ctacacttgc	4320
cagcgccta	gcgcccgcctc	ctttcgcttt	cttcccttcc	tttctcgcca	cgttcgccgg	4380
ctttccccgt	caagctctaa	atcgggggct	ccctttaggg	ttccgattta	gtgctttacg	4440
gcacctcgac	cccaaaaaac	ttgattaggg	tgatggttca	cgtagtgggc	catcgccctg	4500
atagacggtt	tttcgccctt	tgacgttggg	gtccacgttc	tttaatagtg	gactcttggt	4560
ccaaactgga	acaacactca	accctatctc	ggtctattct	tttgatttat	aagggattth	4620
gccgatttcg	gcctattggt	taaaaaatga	gctgatttaa	caaaaattta	acgcgaatth	4680
taacaaaata	ttaacgttta	caatthtaggt	ggcactthtc	ggggaaatgt	gcgcgggaacc	4740
cctatthggt	tatthtttcta	aatacattca	aatatgtatc	cgctcatgag	acaataaccc	4800

tgataaatgc	ttcaataata	ttgaaaaagg	aagagtatga	gtattcaaca	tttccgtgtc	4860
gcccttattc	ccttttttgc	ggcattttgc	cttctctgtt	ttgctcacc	agaaacgctg	4920
gtgaaagtaa	aagatgctga	agatcagttg	ggtgcacgag	tgggttacat	cgaactggat	4980
ctcaacagcg	gtaagatcct	tgagagtttt	cgccccgaag	aacgttttcc	aatgatgagc	5040
acttttaaag	ttctgctatg	tggcgcggtg	ttatcccgtg	ttgacgccgg	gcaagagcaa	5100
ctcggtcgcc	gcatacacta	ttctcagaat	gacttgggtg	agtactcacc	agtcacagaa	5160
aagcatctta	cggatggcat	gacagtaaga	gaattatgca	gtgctgccat	aaccatgagt	5220
gataacactg	cggccaactt	acttctgaca	acgatcggag	gaccgaagga	gctaaccgct	5280
tttttgcaca	acatggggga	tcatgtaact	cgccttgatc	gttgggaacc	ggagctgaat	5340
gaagccatac	caaacgacga	gcgtgacacc	acgatgcctg	tagcaatggc	aacaacgttg	5400
cgcaaactat	taactggcga	actacttact	ctagcttccc	ggcaacaatt	aatagactgg	5460
atggaggcgg	ataaagttgc	aggaccactt	ctgcgctcgg	cccttccggc	tggctggttt	5520
attgctgata	aatctggagc	cggtgagcgt	gggtctcgcg	gtatcattgc	agcactgggg	5580
ccagatggta	agccctcccg	tatcgtagtt	atctacacga	cggggagtca	ggcaactatg	5640
gatgaacgaa	atagacagat	cgctgagata	ggtgcctcac	tgattaagca	ttggtaactg	5700
tcagaccaag	tttactcata	tatactttag	attgatttaa	aacttcattt	ttaatttaaa	5760
aggatctagg	tgaagatcct	ttttgataat	ctcatgacca	aaatccctta	acgtgagttt	5820
tcgttccact	gagcgtcaga	ccccgtagaa	aagatcaaag	gatcttcttg	agatcctttt	5880
tttctgcgcg	taatctgctg	cttgcaaaca	aaaaaaccac	cgctaccagc	ggtggtttgt	5940
ttgccggatc	aagagctacc	aactcttttt	ccgaaggtaa	ctggcttcag	cagagcgcag	6000
ataccaaata	ctgttcttct	agtgtagccg	tagttaggcc	accacttcaa	gaactctgta	6060
gcaccgccta	catacctcgc	tctgctaate	ctgttaccag	tggctgctgc	cagtggcgat	6120
aagtcgtgtc	ttaccggggt	ggactcaaga	cgatagttac	cggataaggc	gcagcggctg	6180
ggctgaacgg	ggggttcgtg	cacacagccc	agcttggagc	gaacgacctg	caccgaactg	6240
agatacctac	agcgtgagct	atgagaaagc	gccacgcttc	ccgaaggag	aaaggcggac	6300
aggatccgg	taagcggcag	ggtcggaaaca	ggagagcgca	cgaggagct	tccaggggga	6360
aacgcctggt	atctttatag	tctgtcggg	tttcgccacc	tctgacttga	gcgtcgat	6420
ttgtgatgct	cgtcaggggg	gcggagccta	tggaaaaacg	ccagcaacgc	ggccttttta	6480
cggttcctgg	ccttttgctg	gccttttgct	cacatgttct	ttcctgcggt	atcccctgat	6540
tctgtggata	accgtattac	cgcctttgag	tgagctgata	ccgctcgccg	cagccgaacg	6600
accgagcgc	gcgagtcagt	gagcgaggaa	gcggaagagc	gcccataacg	caaaccgctt	6660
ctccccgcgc	gttggccgat	tcattaatgc	agctggcacg	acaggtttcc	cgactggaaa	6720

gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctccattaggc accccaggct 6780  
ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata acaatttcac 6840  
acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc agatttaatt aaggc 6885

<210> 89  
<211> 130  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> 5'ИКП

<400> 89  
ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgctc ggcgacctt 60  
ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgacagagagg gaggggccaa ctccatcact 120  
aggggttcct 130

<210> 90  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>  
<223> энхансер ЦМВ IE

<400> 90  
ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagtcc cgcggttacat aacttacggg aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcca 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgtatt ac 382

<210> 91  
<211> 382  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> промотор СВ

<400> 91

ctagtcgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 60  
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac 120  
cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa 180  
tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 240  
tacaatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 300  
ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 360  
acgtattagt catcgctatt ac 382

<210> 92

<211> 717

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический  
полинуклеотид

<220>

<223> eGFP

<400> 92

atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac 60  
ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac 120  
ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc 180  
ctcgtgacca ccctgaccta cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag 240  
cagcacgact tcttcaagtc cgccatgcc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc 300  
ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg 360  
gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctgggggac 420  
aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac 480  
ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc 540  
gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac 600  
tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga tcacatggtc 660  
ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaag 717

<210> 93

<211> 1476

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>



<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>

<223> кДНК mGlut1 и 3'НТУ

<400> 93

```
atggatccca gcagcaaga ggtgacgggc cgcctcatgt tggctgtggg aggagcagtg      60
ctcggatcac tgcagttcgg ctataaact ggtgtcatca acgcccccca gaaggttatt      120
gaggagttct acaatcaaac atggaaccac cgctacggag agcccatccc atccaccaca      180
ctcaccacgc tttggtctct ctccgtggcc atcttctctg tcgggggcat gattggttcc      240
ttctctgtcg gcctctttgt taatcgcttt ggcaggcgga actccatgct gatgatgaac      300
ctgttggcct ttgtggctgc tgtgcttatg ggcttctcca aactgggcaa gtcctttgag      360
atgctgatcc tgggccgctt catcatcggg gtgtactgcg gcctgactac tggctttgtg      420
cccatgtatg tgggagaggt gtcacctaca gctctacgtg gagccctagg cacactgcac      480
cagctgggaa tcgtcgttgg catccttatt gcccagggtg ttggcttaga ctccatcatg      540
ggcaatgcag acttgtggcc tctgctgctc agtgtcatct tcatcccagc cctgctacag      600
tgtatcctgt tgcccttctg ccccgagagc ccccgcttcc tgctcatcaa tcgtaacgag      660
gagaaccggg ccaagagtgt gctgaagaag cttcgagggg cagccgatgt gaccgagac      720
ctgcaggaga tgaagaaga gggtcggcag atgatgcggg agaagaaggt caccatcttg      780
gagctgttcc gtcacccgc ctaccgccag cccatcctca tcgctgtggg gctgcagctg      840
tcccagcagc tgtcgggtat caatgctgtg ttctactact caacgagcat cttcgagaag      900
gcagggtgtc agcagcctgt gtacgccacc atcggctccg gtatcgtcaa cacggccttc      960
actgtgggtg cgctgtttgt tgtagagcga gctggacgac ggaccctgca cctcattggc     1020
ctggctggca tggcaggctg tgctgtgctc atgaccatcg ccctggcctt gctggaacgg     1080
ctgccttgga tgcctatct gagcatcgtg gccatctttg gctttgtggc cttctttgaa     1140
gtaggccttg gtcctattcc atggttcatt gtggccgagc tgttcagcca ggggccccgt     1200
cctgctgcta ttgctgtggc tggcttctcc aactggacct caaacttcat tgtgggcatg     1260
tgcttcagat atgtggagca actgtgcggc ccctacgtct tcatcatctt cacggtgctc     1320
ctcgtgctct tcttcatctt cacctacttc aaagtccttg agaccaaagg ccgaaccttc     1380
gatgagatcg cttccggctt ccggcagggg ggtgccagcc aaagtgacaa gacacccgag     1440
gagctcttcc accctctggg ggcggactcc caagtg                                     1476
```

<210> 94

<211> 127

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> сигнал Poly A

<400> 94  
 gatctttttc cctctgссаа ааattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact 60  
 tctggctaат ааaggaaatt татттtcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc 120  
 tcactcg 127

<210> 95  
 <211> 130  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> 3' ИКП

<400> 95  
 aggaaccсct agtgatggag ttggccactc cctctctgсg cgctcgctcg ctactgagg 60  
 ccgggсgacc ааaggtcсc cgacgcccсg gctttgcccсg ggcggcctca gtgagcгagc 120  
 gagcгсgсag 130

<210> 96  
 <211> 2208  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полинуклеотид

<220>  
 <223> ДНК AAV9

<400> 96  
 atggctgссg atggttatct tccagattgg ctсgaggaca accttagtga aggaattсgс 60  
 gagtggtggg ctttгaaacc tggagcccct caaccсaagg caaatcaaca acatcaagac 120  
 aacгctсgag gtcttgтgct tccgggttac ааataccttg gaccсggсaa сggactсgac 180  
 аagggggгagc сggтcaacгc агсagacгсg гсggсcctсg агсacгacaа ggcctacгac 240  
 cagcagctca aggссggгa caaccсgtac ctcaagtaca accacгссga сgссgagttc 300  
 caggagсggc тcaagaага tacгtctttt gggggсaacc тсgggсgagc агtcttссag 360  
 гсcaaaaага ggcttcttга acctcttggt ctgggtгagg аagсggгtaa gacгgгctcct 420  
 ggaaагага ggcctгtaga гсagтctcct caggaaaccгg actcctcгc gggтattggc 480  
 аaatсgggtg cacagcccгc таaaaагага ctcaatttсg гtcagactгg сgacacagag 540

tcagtcccag accctcaacc aatcggagaa cctccccgag ccccctcagg tgtgggatct 600  
cttacaatgg cttcaggtgg tggcgcacca gtggcagaca ataacgaagg tgccgatgga 660  
gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccatt ggctggggga cagagtcatt 720  
accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca atcacctcta caagcaaattc 780  
tccaacagca catctggagg atcttcaa at gacaacgcct acttcgggta cagcaccccc 840  
tgggggtatt ttgacttcaa cagattccac tgccacttct caccacgtga ctggcagcga 900  
ctcatcaaca acaactgggg attccggcct aagcgactca acttcaagct cttcaacatt 960  
caggtcaaag aggttacgga caacaatgga gtcaagacca tcgccaataa ccttaccagc 1020  
acgggccagg tcttcacgga ctcagactat cagctcccgt acgtgctcgg gtcggctcac 1080  
gagggctgcc tcccgcggtt cccagcggac gttttcatga ttctcagta cgggtatctg 1140  
acgcttaatg atggaagcca ggccgtgggt cgttcgtcct tttactgcct ggaatatttc 1200  
ccgtcgaaa tgctaagaac gggtacaac ttccagttca gctacgagtt tgagaacgta 1260  
cctttccata gcagctacgc tcacagccaa agcctggacc gactaatgaa tccactcatt 1320  
gaccaatact tgtactatct ctcaaagact attaacgggt ctggacagaa tcaacaaacg 1380  
ctaaaattca gtgtggccgg acccagcaac atggctgtcc agggaagaaa ctacatacct 1440  
ggaccagct accgacaaca acgtgtctca accactgtga ctcaaaaca caacagcgaa 1500  
tttgcttggc ctggagcttc ttcttgggct ctcaatggac gtaatagctt gatgaatcct 1560  
ggacctgcta tggccagcca caaagaagga gaggaccggt tctttccttt gtctggatct 1620  
ttaatttttg gcaacaagg aactggaaga gacaacgtgg atgaggaca agtcatgata 1680  
accaacgaag aagaaattaa aactactaac ccggtagcaa cggagtccta tggacaagtg 1740  
gccacaaacc accagagtgc ccaagcacag gcgcagaccg gctgggttca aaaccaagga 1800  
atacttccgg gtatggtttg gcaggacaga gatgtgtacc tgcaaggacc catttgggccc 1860  
aaaattcttc acacggacgg caactttcac ctttctccgc tgatgggagg gtttggaatg 1920  
aagcaccgct ctctcagat cctcatcaaa aacacacctg tacctgcgga tctccaacg 1980  
gccttcaaca aggacaagct gaactctttc atcaccagct attctactgg ccaagtcagc 2040  
gtggagatcg agtgggagct gcagaaggaa aacagcaagc gctggaacct ggagatccag 2100  
tacacttcca actattacaa gtctaataat gttgaatttg ctgttaatac tgaagggtga 2160  
tatagtgaac cccgccccat tggcaccaga tacctgactc gtaatctg 2208

<210> 97

<211> 736

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>

<223> белок AAV9

<400> 97

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro  
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly  
145 150 155 160

Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr  
165 170 175

Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro  
180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly  
195 200 205

Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser  
210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile



485

490

495

Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn  
 500 505 510

Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys  
 515 520 525

Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly  
 530 535 540

Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile  
 545 550 555 560

Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser  
 565 570 575

Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln  
 580 585 590

Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln  
 595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His  
 610 615 620

Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met  
 625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala  
 645 650 655

Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr  
 660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
 675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn  
 690 695 700

Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val  
 705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
 725 730 735

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Рекомбинантный аденоассоциированный вектор (rAAV), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая содержит трансген, кодирующий Glut1.

2. Рекомбинантный AAV по п. 1, дополнительно содержащий промотор бета-актина курицы, причем rAAV способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

3. Рекомбинантный AAV по п. 2, отличающийся тем, что трансген способен экспрессироваться в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга.

4. Рекомбинантный AAV по п. 2, отличающийся тем, что промотор бета-актина курицы выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO 31, 38, 45, 54, 62 и 70.

5. Рекомбинантный AAV по п. 1, отличающийся тем, что AAV представляет собой AAV8 или AAV9.

6. Рекомбинантный AAV по п. 1, отличающийся тем, что Glut1 содержит SEQ ID NO 78 или 79.

7. Рекомбинантный AAV по п. 1, дополнительно содержащий элементы микроРНК, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO 48, 56, 59, 64 и 73.

8. Рекомбинантный AAV по п. 1, в котором рекомбинантный вектор дополнительно содержит инвертированные концевые повторы (ИКП), фланкирующие элементы микроРНК.

9. Композиция, содержащая рекомбинантный AAV по п. 1.

10. Композиция по п. 9, дополнительно содержащая фармацевтический носитель.

11. Набор, содержащий емкость, которая содержит композицию по п. 9.

12. Набор по п. 11, отличающийся тем, что емкость представляет собой шприц.

13. Способ восстановления транспорта Glut1 в гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества рекомбинантного вектора AAV по п. 1.

14. Способ лечения синдрома дефицита Glut1 у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту эффективного количества рекомбинантного AAV-вектора по п. 1.

15. Способ облегчения у субъекта по меньшей мере одного из симптомов, связанных с синдромом дефицита Glut1, выбранных из группы, состоящей из гипогликорахии, приобретенной микроцефалии, атаксической и дистонической моторной дисфункции, причем способ включает введение субъекту эффективного количества рекомбинантного AAV-вектора по п. 1.

16. Способ по п. 13, п. 14 или п. 15, отличающийся тем, что рекомбинантный AAV дополнительно содержит промотор бета-актина курицы, причем rAAV способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что трансген способен экспрессироваться в эндотелиальных клетках, выстилающих микрососуды мозга.

18. Способ по п. 16, отличающийся тем, что промотор бета-актина курицы выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO 31, 38, 45, 54, 62 и 70.

19. Способ по п. 13, п. 14 или п. 15, отличающийся тем, что AAV представляет собой AAV8 или AAV9.

20. Способ по п. 13, п. 14 или п. 15, отличающийся тем, что Glut1 содержит SEQ ID NO 78 или 79.

21. Способ по п. 13, п. 14 или п. 15, отличающийся тем, что рекомбинантный AAV дополнительно содержит элементы микроРНК, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO 48, 56, 59, 64 и 73.

22. Способ по п. 13, п. 14 или п. 15, отличающийся тем, что рекомбинантный вектор дополнительно содержит инвертированные концевые повторы (ИКП), фланкирующие элементы микроРНК.

23. Способ по п. 13, п. 14 или п. 15, отличающийся тем, что рекомбинантный AAV содержится в композиции, дополнительно содержащей фармацевтический носитель.



Конструкции EGFP-2A-Glut1

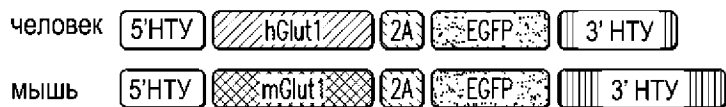


Название конструкции

рAAV CB6 PI EGFP-2A-hGlut1  
рAAV CB6 PI EGFP-2A-mGlut1

**ФИГ. 1А**

Конструкции Glut1-2A-EGFP



рAAV CB6 PI hGlut1-2A-EGFP  
рAAV CB6 PI mGlut1-2A-EGFP

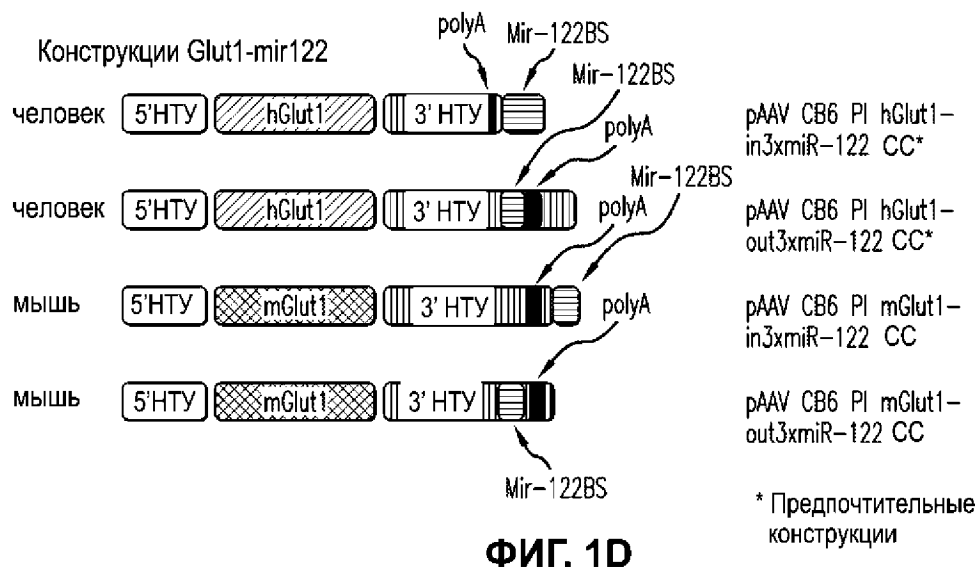
**ФИГ. 1В**

Конструкции нативного Glut1

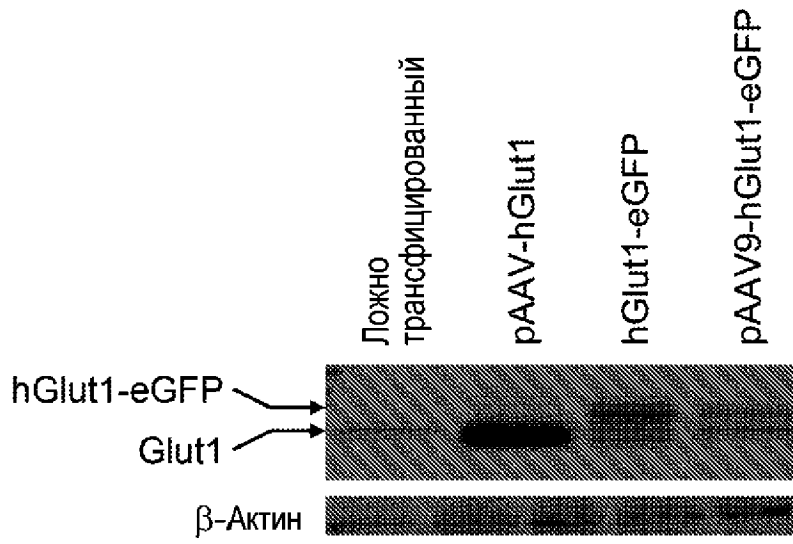


рAAV CB6 PI hGlut1\*  
рAAV CB6 PI mGlut1

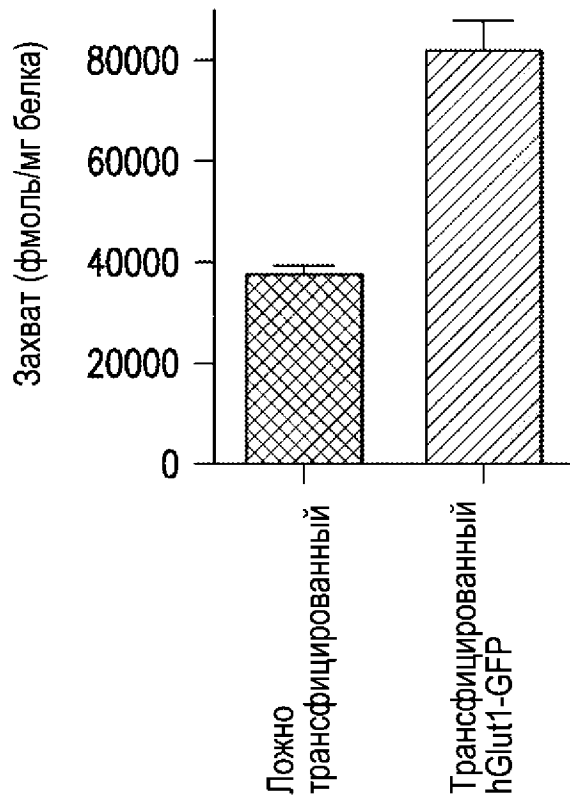
**ФИГ. 1С**



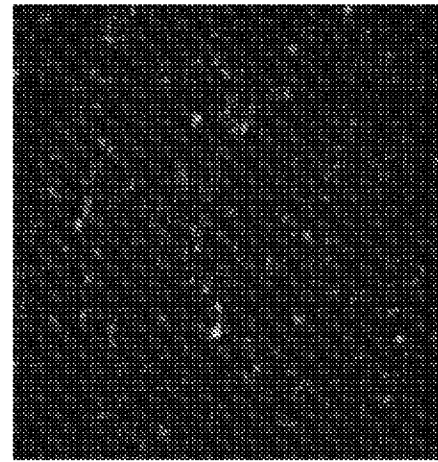
**ФИГ. 1D**



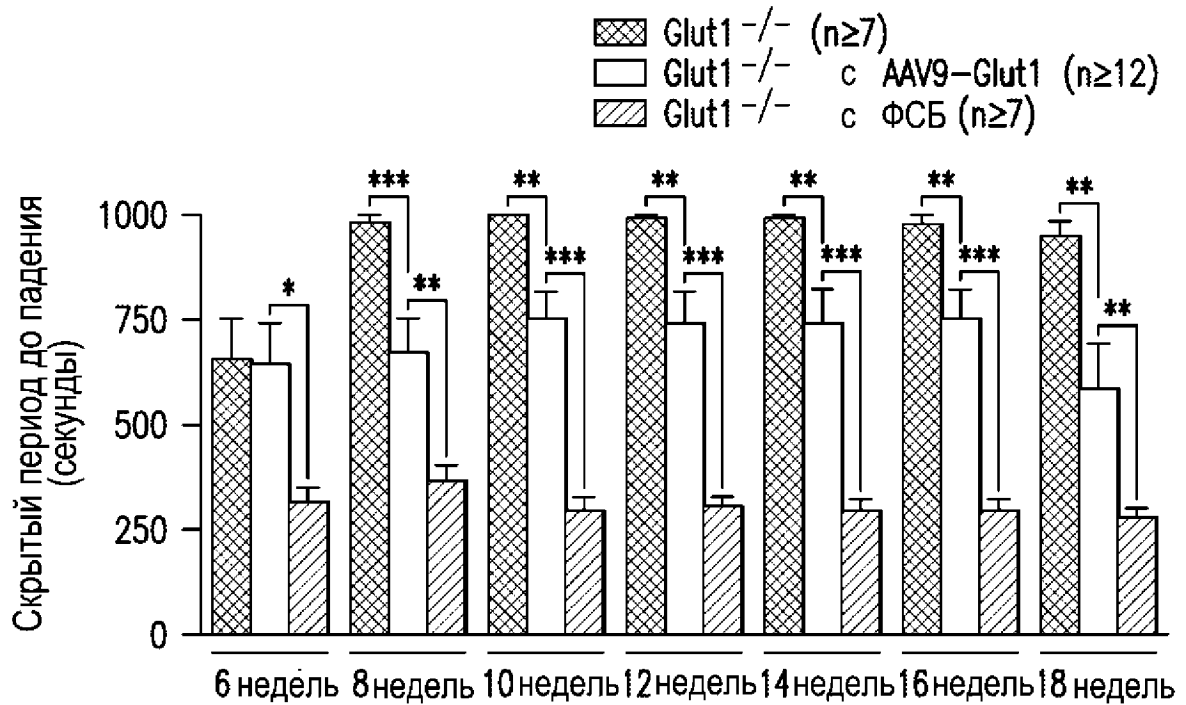
ФИГ. 2А



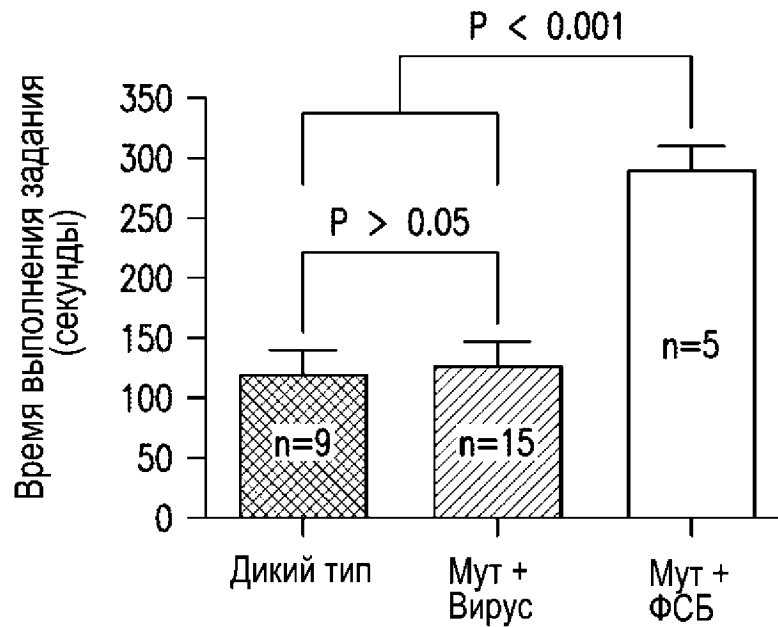
ФИГ. 2В



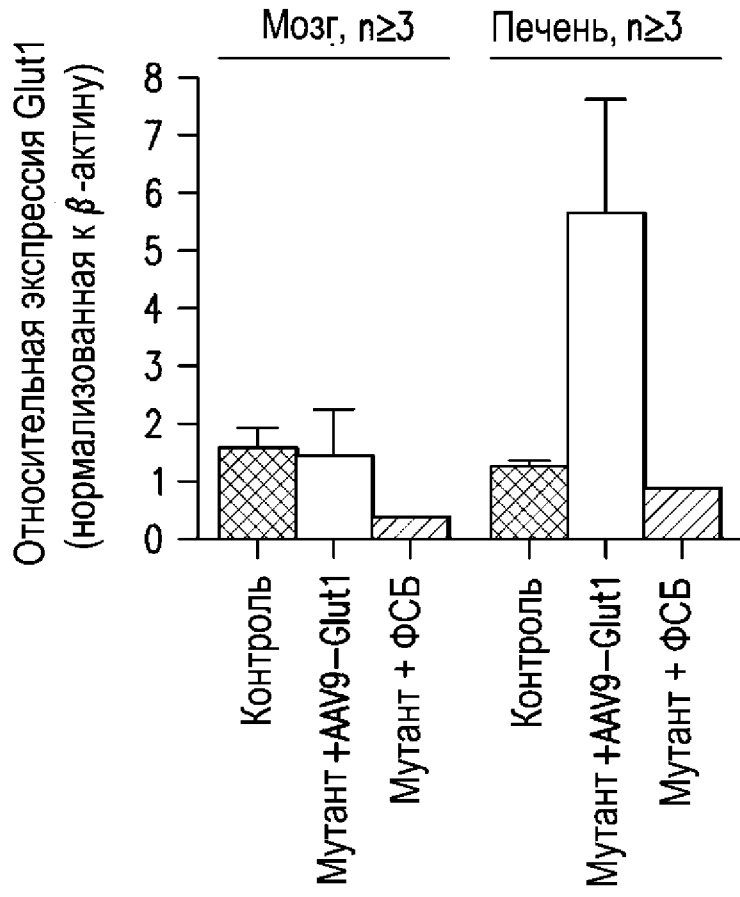
ФИГ. 2С



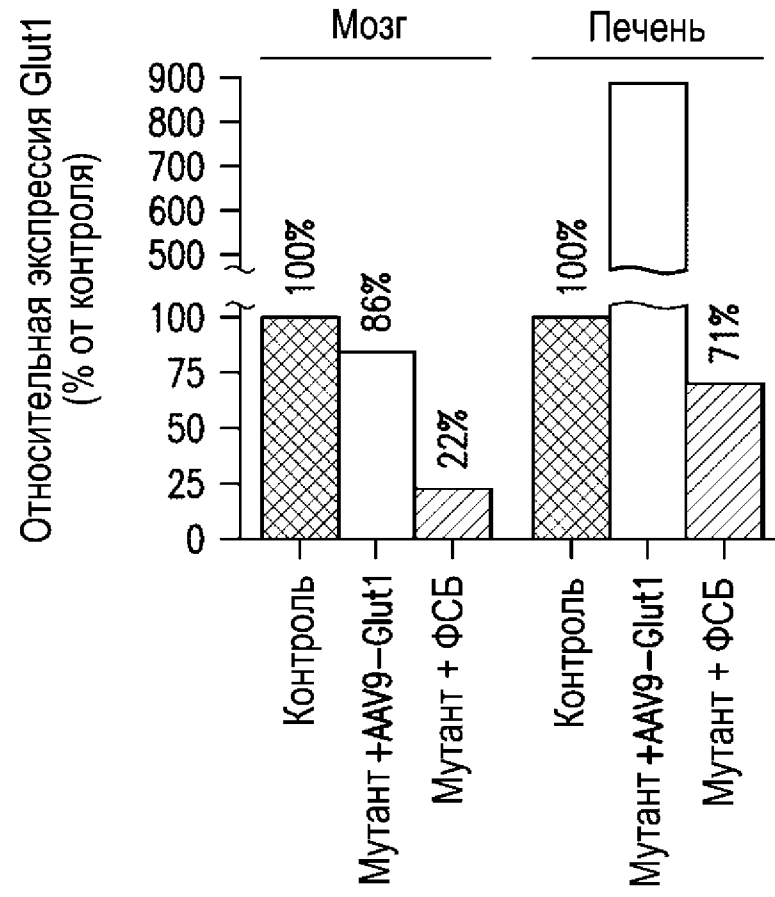
ФИГ. 3А



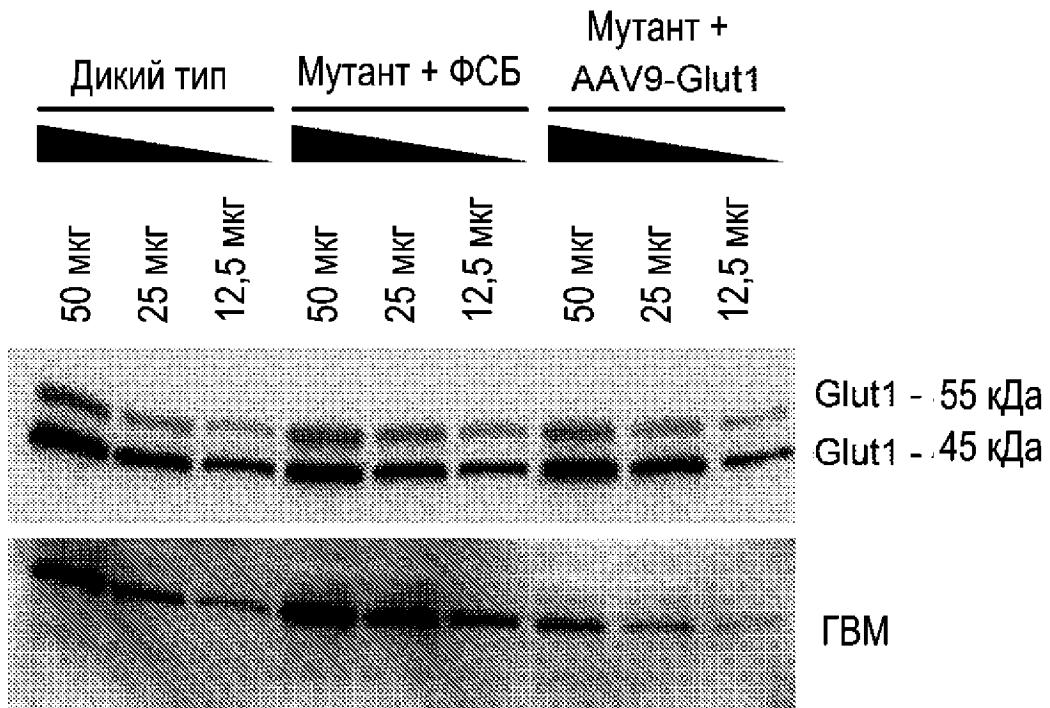
ФИГ. 3В



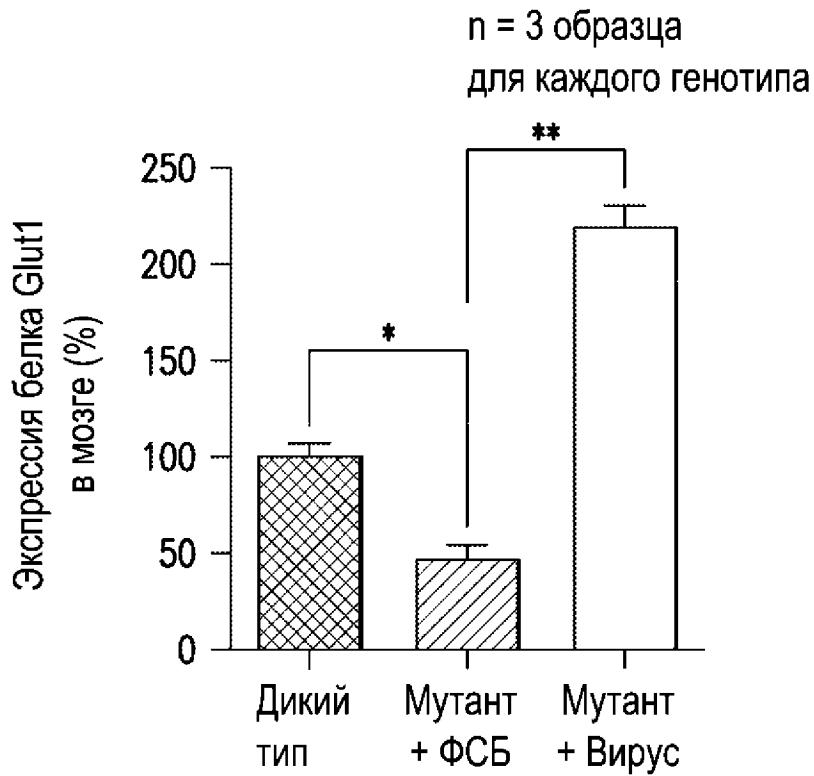
ФИГ. 4А



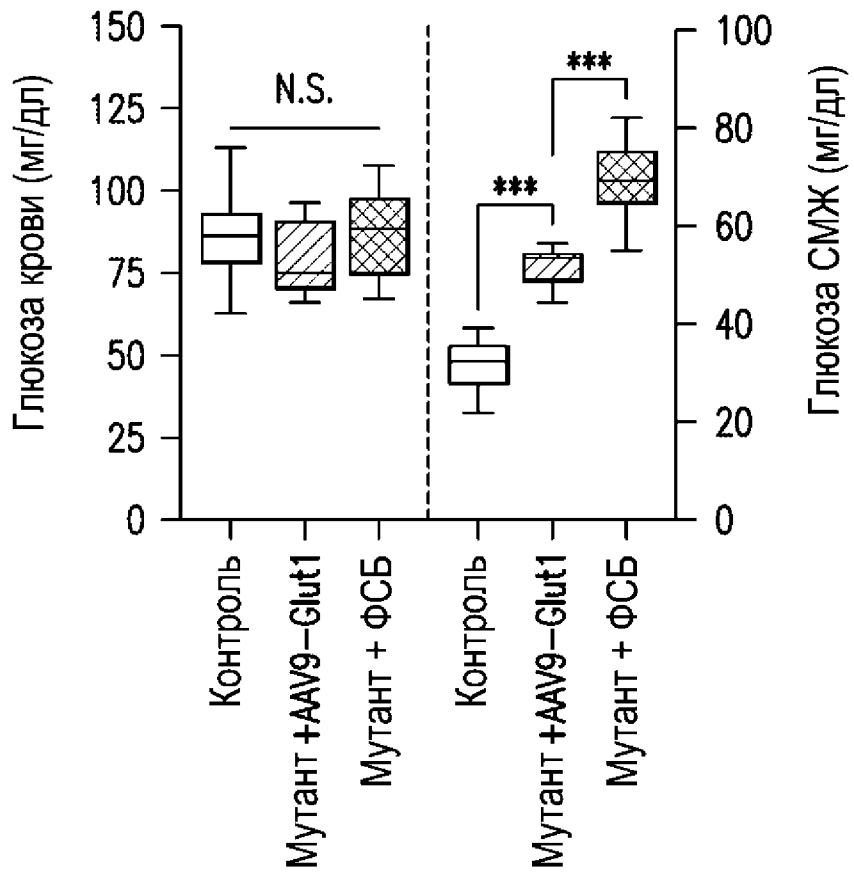
ФИГ. 4В



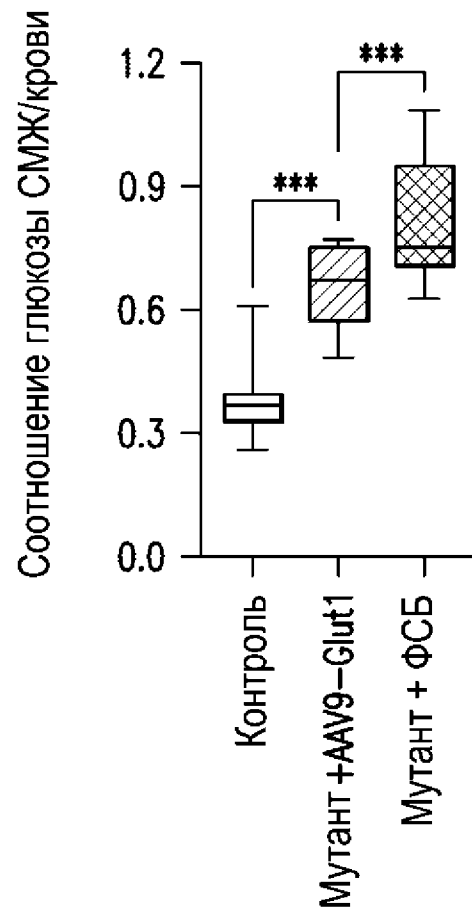
ФИГ. 5А



ФИГ. 5В



ФИГ. 5С



ФИГ. 5D