

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

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

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.19

(21) Номер заявки
201891138

(22) Дата подачи заявки
2016.11.11

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

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

(31) 62/255,323

(32) 2015.11.13

(33) US

(43) 2018.12.28

(86) PCT/US2016/061688

(87) WO 2017/083764 2017.05.18

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

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

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

(56) US-A1-2015071883

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

US-A1-2013017997

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

B1

036944

036944

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

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

Список последовательностей

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

Уровень техники

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

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

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

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

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

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

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

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

Краткое описание сущности изобретения

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

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

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

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

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

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

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

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

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов первая нуклеотидная последова-

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Краткое описание графических материалов

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Подробное описание сущности изобретения

Введение

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

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

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

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

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

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

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

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

Определения

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Выравнивание может включать введение пробелов в последовательностях, которые должны быть выровнены. Кроме того, для последовательностей, которые содержат либо больше или меньше аминокислотных остатков, чем выровненная последовательность, выравнивание может включать введение пробелов в выровненной последовательности, чтобы обеспечить выравнивание.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Линкер, замещающий В-домен Фактора VIII

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

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

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

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

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

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

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

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат В-доменный линкер типа О8, включая аминокислоты SFSQNSRHQAYRYRRG (SEQ ID NO: 32) из В-домена фактора VIII дикого типа свиньи (Toschi et al., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 12:517 (2010)). В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

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

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

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

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

CS04 полинуклеотиды с измененными кодонами

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

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

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

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

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

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

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

CS01 полинуклеотиды с измененными кодонами

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

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

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

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

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

CS23 полинуклеотиды с измененными кодонами

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

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

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

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

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

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

Полинуклеотиды с измененными кодонами, кодирующие одноцепочечный белок Фактора VIII

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

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

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

В некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность идентична CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26).

В некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность идентична CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27).

- 25 -

миды, фазмиды, искусственные хромосомы и тому подобное.

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

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

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

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

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

Неограничивающие примеры векторов для прокариотической экспрессии включают плазмиды, такие как pRSET, pET, pBAD и т.д., где промоторы, используемые в прокариотических экспрессирующих векторах, содержат lac, trc, trp, gcsA, araBAD и т.д. Примеры векторов для эукариотической экспрессии включают: (i) для экспрессии в дрожжах векторы, такие как pAO, pPIC, pYES, pMET, с использованием промоторов, таких как AOX1, GAP, GAL1, AUG1 и т.д.; (ii) для экспрессии в клетках насекомых векторы, такие как pMT, pAc5, pIB, pMIB, pBAC и т.д., с использованием промоторов, таких как PH, p10, MT, Ac5, OpIE2, gp64, polh и т.д. и (iii) для экспрессии в клетках млекопитающих векторы, такие как pSVL, pCMV, pRc/RSV, pcDNA3, pBPV и т.д., и векторы, полученные из вирусных систем, таких как вирус осповакцины, аденоассоциированные вирусы, вирусы герпеса, ретровирусы и т.д., с использованием промоторов таких как CMV, SV40, EF-1, UbC, RSV, ADV, BPV и β -актин.

Примеры

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Culture Media for GMP FIX and FLT1 Clinical Vector, Mol Ther., Oct 6. (2015) doi: 10.1038/mt.2015.187. [Epub перед печатью]), чье содержание полностью включено в данное описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей. Суспензированные клетки HEK293 использовали для трансфекции плазмидами с использованием соответствующей векторной плазмиды FVIII, хелперной плазмиды pXX6-80 (несущей аденовирусные хелперные гены) и упаковочной плазмиды pGSK2/8 (вносящей гены гер2 и сар8). Чтобы изолировать конструкции AAV8, клеточный осадок из одного литра культуры обрабатывали с использованием градиентов йодиксанола, как описано в Grieger et al. (2015, Supra). Процедура привела к получению векторных препаратов, называемых vCS01, vCS04, vCS08, vCS10, vCS11 и vCH25. Векторы были количественно оценены с помощью qPCR, используя универсальную процедуру qPCR, с использованием инвертированных концевых повторов AAV2 (Aurnhammer, Human Gene Therapy Methods: Part B 23:18-28 (2012)). Контрольная векторная плазида, несущая инвертированные концевые повторы AAV2, использовалась для получения стандартной кривой. Результирующая конструкция VCS04 представлена как SEQ ID NO: 8 на фиг. 7A-7C.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

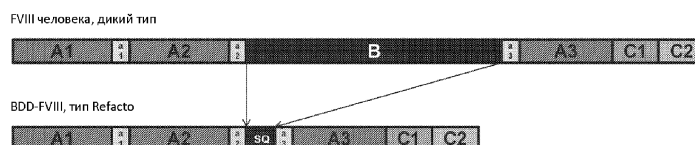
20. Способ лечения гемофилии А, включающий введение пациенту частицы аденоассоциированного вируса (AAV) по п.17.

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

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

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

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



Фиг. 1

CS04-FL-NA

atgcagattgagctgagcaccctgcttcttccctgtgcctgctgaggttctgcttctctgcccaccagga
gatactacctgggggctgtggagcttcttctgggactacatgcagctgacctgggggagctgctgt
ggatgccaggttcccaccagagtgcccaaatcttccattcaacacctctgtggtctacaagaag
acctcttctgtggagttcactgaccacctgttcaacattgcccacccagggccacctggatgggac
tccctgggaccacccattcaggctgaggtgtatgacactgtggtcatcaccctcaagaacatggcctc
ccacctgtgagcctgcatgctgtgggggtcagctactggaaggcctctgagggggctgagttatgat
gaccagacctcccagaggagaaaggagatgacaaagtgttccctgggggagccacacctatgtgt
ggcaggttcccaaggagaatggcccatggcctctgaccacctctgacctactcctaccttctc
tcatgtggacctgttcaaggacctcaactctggactgattggggccctgctggtgtgacggaggggc
tccctggccaaagagaagaccagacctgacaaagtctattctcctgttctgtctctttgatgagg
gcaagagctggcactctgaaaccaagaactcctctgatgcaggacagggatgctgctctgcccagggc
ctggcccaagatgacacctgtgaatggctatgtgaacaggagcctgacctggactcattggctgccc
aggaatctgtctactggcatgtgattggcatggggacacccctgaggtgacctccatttctcctgg
agggccacaccttctcctggtcaggaaaccagacagggccagcctggagatcagcccatcactcctc
cactgcccagacctgctgatggacctcggacagtctcctgctgttctgcccacatcagctccccaccag
catgatggcatggagcctatgtcaaggtggacagctgacctgaggagccacagctcaggatgaaga
acaatgaggaggctgaggactatgatgatgacctgactgactctgagatggatgtggtccgtcttga
tgtgacacacagcccatccttctcattcagatcaggctctgtggccaaagaaacaccccaagactctga
cactacattgctgctgaggaggaggactgggactatgcccactggtcctggccctgatgacagga
gctacaagagccagtagctcaacaattggccacagaggattggacgcaagtacaagaagttaggtt
catggcctacatgatgaaaccttcaagaccaggaggccattcagcatgagctggcatcctggggc
ccactcctglatggggaggltgggggacacccctgctcatcatcttcaagaaccaggcctccaggccct
acaacatctaccacatggcatcactgatgtcaggccctgtacagccgaggctgccaagggggt
gaaacacctcaaggacttccccattctgctggggagatcttcaagtacaagtggactgtcactgtg
gaggatggacccaaccaatctgacccagggtgacctcaccagatactactccagcttctgtgacatgg
aggggacctggcctctggcctgattggccactgctcatctgctacaaggagtctgtggaccagag
gggaaaccagatcatgtctgacaaagggaatgtgattctgttctctgtcttctgtgagaaaggagc
tggtacctgactgagaacattcagccttctcctgcccacccctgctgggggtgagctggaggacctg
agttccaggccagcaacatcatgacctccatcaatggctatgtgttggacagcctccagcttctgt
ctggcctgatgaggtggcctactggtacattcttcttattggggccacagactgacttctcttctgt
ttcttctgtgctacaccttcaaacacaagatggtgtatgaggacacccctgacctcttccattct
ctggggagactgtgttcatgagcatggagaacctggcctgtggattctgggagcccacacctctga
cttccgcaacaggggcatgactgacctgctcaaaagtctcctcctgtgacaagaacactggggactac
tatgaggacagctatgaggacatctctgacctgctcagcaagaacaatgccattgagccagga
gcttcagccagaatccacctgtcctgaaacgcccacagaggagatcaccaggaccacctccagct
tgaccaggaggagattgactatgatgacacatttctgtggagatgaagaaggaggactttgacatc
tatgacgaggacgagaaccagagcccaaggagcttccagaagaagaccaggcactacttcatgtctg
ctgtggagcctgttgggactatggcatgagctccagccccaagtctcctcaggaaacagggccagct
tggcctctgtgccacagttcaagaaagtggctctccaagagttcactgatggcagcttcccccagccc
ctgtacagaggggagctgaatgagcacctgggactcctggggccatcatcagggtgaggtgagg
acaacatcatgtgagcttccgcaaccaggcctccaggccctacagcttctacagctcctcctcatcag
ctatgagcaggaccagaggcagggggctgagccacgcaagaacttctgaaacccaatgaaacaaag
acctacttctggaaagtccagaccacatggcccccaccaaggatgagtttgactgcaaggcctggg

(Продолжение)

Фиг. 2А

cctacttctctgatgtggacctggagaaggatgtgacctctggcctgattggccacctcctggctg
ccacaccaacacctgaacctgtccatggaaggcaagtgactgtgcaggagtttggcctcttcttcc
accatcttctgatgaaaccaagagctggctacttcaactgagaacatggagcgcaactgcagggcccat
gcaacattcagatggaggaccaccttcaaaagaaactaccgcttccatgccatcaatggctacat
catggacacctgctctgggcttgtcattggccaggaccagaggatcaggtggtacctgcttctatg
ggctccaatgagaacattcactccatccacttctctgggcatgtcttcaactgtgcgaagaaggagg
agtaacaagatggcctgtacaaccttcaacctggggtcttctgagactgtggagatgctgacctcaa
agctggcatctggagggtggagtgctcattggggagcacctgcatgctggcatgagacctgttct
ctggtctacagcaacaagtggcagacccctgggaatggcctctggccacatcagggacttccaga
tcaactgctctggccagtatggccagtgggcccccaagctggccaggctccactactctggatccat
caatgctggagcaccaaggagccattcagctggatcaaagtggacctgctggcccccattgatcatc
catggcatcaagaccagggggcccaggcagaagttctccagcctgtacatcagccagttcatcatca
tgtacagcctggatggcaagaatggcagacctacagaggcaactccactggaacactcatggtctt
ctttggcaatgtggacagctctggcatcaagcacacatcttcaaccccccaatcatcgccagatac
atcaggctgcacccacccactacagcatccgcagcacctcaggatggagctgaggtgtgagc
tgaactcctgcagcatgcccctgggcatggagagcaaggccatttctgatgccagatcactgctc
cagctacttcaaccaatgttttgccacctggagcccgaaggccaggctgcactccagggaagg
agcaatgctggaggccccaggtcaacaacccaaaggagtggtgcaagggtgagcttccagaagacca
tgaaggctcactgggtgacacccagggggtcaagagcctgctcaccagcatgtatgtgaaggagtt
cctgatcagctccagccaggtggccaccagtggaacctcttcttccagaatggcaagggtcaagggt
ttccagggaacaccagacagcttccCctgtggtgaacagcctggacccccccctcctgacagat
acctgaggattcaccaccagagctgggtccaccagattgacctgaggatggaggctcctgggatgtga
ggccaggacctgtactga (SEQ ID NO:1)

Фиг. 2В

CS04-FL-AA

MQIELSTCFLLCLLRFCSATRRYYLGAVELSWDYMOSDLGELPVDAR' FPRVPKSPFFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAKPRPFWMLLGTIQAENVYDTVITLKNMASHFVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFFGGSHYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDECKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPRMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HRKSVYWHVIMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMLDLGQFLLFCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHFKTW
 VHYIAEEEDWDYAPLVLPDDRYSYKSYLNLNGPQIRGRYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGDILLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFILPGEIFKYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMRDLASGLIGPELLICYKESVDQSGNQIMSDKRNVLFSVFDENR
 SWYLTEINIQFLPNPAGVQLEDPFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLS
 VFFSGYTFKHMYVEDTLTLFFPSGETVFMSENPGWLILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGD
 YYEDSYEDI SAYLLSKNNAI EPRFSQNPV LKRRHQREITRTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSPQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNRAQSGSVQPKKVVVFQEFDTGSGFTQ
 PLYRGELNEHLGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEDQKQGAEPKRFVKNFT
 KTYFVKVQHMHMPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLCHTNTNLNPAHQVQTVQEFALF
 FTIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRIRWYLLS
 MGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTL
 FLVYSNKCQTFPLGMASGHIRDQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEFFSWIKVDLLAFMI
 IHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGGIKHNIIFNPPIAR
 YIRLHPHYSIRSTLRMELMGCDLNSCMLPMESKAISDAQITASSYFTNMFATWSPSKARLHLQG
 RSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTKMKTGVTTQGVKSLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGKVK
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIRHFQSWWHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:2)

Фиг. 3

CS04-HC-NA

gcc

accaggagat actacctggg ggctgtggag cttctctggg actacatgca gctcgacctg
 ggggagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaaatccct cccattcaac
 acctctgtgg tctacaagaa gacctcttt gtggagtcca ctgaccacct gtccaacatt
 gccaaaccca ggccaccctg gatgggactc ctgggaccca ccatcaggc tgaggtgtat
 gacactgtgg tcatcaccct caagaacatg gcctccacc ctgtgagcct gcatgctgtg
 ggggtcagct actggaaggc ctctgagggg gctgagtatg atgaccagag ctcccagagg
 gagaaggagg atgacaaagt gttccctggg ggcagccaca cctatgtgtg gcaggctctc
 aaggagaatg gccccatggc ctctgaccca ctctgctga cctactccta ccttctcat
 gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg ccctgctggt gtgcaggagg
 ggctccctgg ccaaaagaaa gacccagacc ctgcacaagt tcatctctct gtttgctgtc
 tttgatgagg gcaagagctg gcaactctga accaagaact cctgatgca ggcaggggat
 gctgcctctg ccaggggcctg gcccaagatg cacactgtga atggctatgt gaacaggagg
 ctgacctggac tcatggctg ccacaggaaa tctgtctact ggcatgtgat tggcatgggg
 acaaccctg aggtgcactc catttctctg gagggccaca ccttctggt caggaaaccac
 agacaggcca gcttgagat cagcccatc accttctcca ctgcccagac cctgctgatg
 gacctcgga agttcctgct gttctgccac atcagctccc accagcatga tggcatggag
 gcctatgtca aggtggacag ctgacctgag gagccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
 gaggtctgag actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt ccgctttgat
 gatgacaaca gcccatcctt cattcagatc aggtctgtgg ccaagaaaca cccaagacc
 tgggtgcact acattgtctg tgaggaggag gactgggact atgccccact ggtcctggcc
 cctgatgaca ggagctacaa gagccagtac ctcaacaatg gccacagag gattggagcc
 aagtacaaga aagtcagggt catggcctac actgatgaaa ccttcaagac caggaggagg
 attcagcatg agtctggcat cctgggccca ctctgtatg gggaggtggg ggacaccctg
 ctcatcatct tcaagaacca ggctccagg ccctacaaca tctaccaca tggcatcact
 gatgtcaggc cctgtacag ccgaggctg ccaaggggg tgaacaacct caaggacttc
 cccattctgc ctggggagat ctcaagtac aagtggactg tcactgtgga ggatggacca
 accaaatctg accccagggt cctcaccaga tactactcca gctttgtgaa catggagagg
 gacctggcct ctggcctgat tggccactg ctcatctgct acaaggagtc tgtggaccag
 aggggaaacc agatcatgtc tgacaaggag aatgtgattc tgttctctgt ctttgatgag
 aacaggagct ggtacctgac tgagaacatt cagcgttcc tggccaacc tgcctgggtg
 cagctggagg accctgagtt ccaggccagc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg
 tttgacagcc tccagcttct tgtctgctg catgaggtgg cctactggta cattcttct
 attggggccc agactgactt ctttctgtc ttcttctctg gctacacct caaacacaag
 atggtgtatg aggacacct gacctcttc ccattctctg gggagactgt gttcatgagc
 atggagaacc ctggcctgtg gattctggga tgccacaact ctgacttccg caacaggggc
 atgactgccc tgctcaaagt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggag
 agctatgagg acatctctgc ctacctgtc agcaagaaca atgccattga gccagg
 (SEQ ID NO:3)

Фиг. 4

CS04-LC-NA

```

g agatcaccag gaccacccctc
cagttctgacc aggaggagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaaagag
gacttttgaca tctatgacga ggacgagaac cagagcccaa ggagcttcca gaagaaagacc
aggcactact tcaattgctgc tgtggagcgc ctgtgggact atggcactgag ctccagccccc
catgtcctca ggaacagggc ccagtcctggc tctgtgccac agttcaagaa agtgggtcttc
caagagttca ctgatggcag cttcacccag cccctgtaca gaggggagct gaatgagcac
ctgggactcc tggggccata catcagggtc gaggtggagg acaacatcat ggtgaccttc
cgcaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tacagctccc tcatcagcta tgaggaggac
cagaggcagg gggctgagcc acgcaagaac tttgtgaaac ccaatgaaac caagacctac
ttctggaaag tccagcacca catggccccc accaaggatg agtttgactg caaggccttg
gcctacttct ctgatgtgga cctgggaaag gatgtgcact ctggcctgat tggcccactc
ctggtctgcc acaccaacac cctgaacctt gcccatggaa ggcaagtgaac tgtgcaggag
tttgccctct tcttcacccat ctttgatgaa accaagagct ggtacttcac tgagaacatg
gagcgcaact gcaggggccc atgcaacatt cagatggagg accccacctt caaagagaac
taccgcttcc atgccatcaa tggctacatc atggacaccc tgcctgggct tgtcatggcc
caggaccaga ggatcagggt gtacctgctt tctatgggct ccaatgagaa cacttcaacc
atccacttct ctgggcatgt cttcactgtg cgcaagaagg aggagtacaa gatggccctg
tacaacctct accctggggt ctttgagact gtggagatgc tggccctcaa agctggctac
tggagggtgg agtgccctcat tggggagcac ctgcatgctg gcactgagcac cctgttctctg
gtctacagca acaagtgcga gaccocccctg ggaatggcct ctggcccatc cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtatggccag tggggcccca agctggccag gctccactac
cttggtatcca tcaatgcctg gaggaccaag gaggcatcca gctggatcaa agtggacctg
ctggccccc tgaatcatca tggcatcaag acccaggggg ccaggcgagaa gttctccagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggatg gcaagaaatg gcagacctac
agaggcaact ccactggaac actcatggtc ttctttggca atgtggacag ctctggcctc
aagcacaaca tcttcaaccc cccaatcacc gccagataca tcaggctgca cccacccacc
tacagcatcc gcagcacctc caggatggag ctgatgggct gtgacctgaa ctctgcagc
atgcccctgg gcactggagag caaggccatt tctgatgccc agatcactgc ctccagctac
ttcaccaca tgtttgccac ctggagccca agcaaggcca ggcctgcacct ccagggaagg
agcaatgcct ggaggcccca ggtcaaacac ccaaggaggt ggcctgcagg ggaacttccag
aagaccatga aggtcactgg ggtgaccacc cagggggtca agagcctgct caccagcatg
tatgtgaagg agttcctgat cagctccagc caggatggcc accagtggac cctcttcttc
cagaatggca aggtcaaggt gttccagggc aaccaggaca gcttccccc tgtggtgaac
agcctggacc ccccccctc gaccagatac ctgaggatcc accccagag ctgggtccac
cagattgccc tgaggatgga ggtcctggga tgtgaggccc aggacctgta c
(SEQ ID NO:4)

```

Фиг. 5

BDL001 - agc ttctctcaga atccacctgt cctgaagaga caccagaga (SEQ ID NO:5)

BDL004 - agc ttcagccaga atccacctgt cctgaaacgc caccagagg (SEQ ID NO:6)

BDL023 - agc ttcagccaga acccccccgt cctgaagagg caccagagg (SEQ ID NO:7)

Фиг. 6

CS04-AV-NA

```

1   tcgcgcgttt cggatgatga cgtgaaaacc tctgacacat gcagctccc gagacgggtca
61  cagcttctct gtaagcggat gcgggagca gacaagccc tcaggggcgg tcagggggtg
121 ttggcgggtg tcggggcttg ctttaactat cggcatcaga gcagattgta ctgaggagtgc
181 accatatgag gtgtgaaata ccgcacagat gcgtgaagg aaaataccgc atcaggcgcc
241 attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aaggggcgatc ggtgcgggce tctctgctat
301 tacgccagct ggcgaagggt ggaatgtctg caaggcgatt aagtttggta acgccagggt
361 tttcccagtc acgacgttgt aaaaagcagg ccagtgaaat cctcgagatt taactgctat
421 tggccaactcc ctctctgcgc gctcgtctgc tcaactgagg cgggcgacaa aaggtcgccc
481 gacgcgcggg ctttgcccgc ggggcctcag tgagcgagcg agcgcgagca gagggagtg
541 ccaactccat cactagggtt tcttgagttt aaactctgct gacgatttga cgttgggctg
601 caggctcagg gcactgggag gatgttgagt aagatggaaa actactgatg acccttgcag
661 agacagagta ttaggacatg tttgaacagg ggcggggcga tcaggcaggta gctctagagg
721 atccccgtct gtctgacatc ttctgtagag gagtgctccg ataactaat ctccctaggc
781 aaggttcata tttgtgtagg ttacttatcc tctttttgtt gactaagta ataactagaa
841 tcagcagggt ttgagtcagc ttggcaggga tcagcagcct gggttggaag gagggggtat
901 aaaaacccct tcaccaggag aagccgtcac acagactagg cgcgccaccg ccaccatgca
961 gattgagctg agcacctgct tcttctgtgt cctgctgagg ttctgcttct ctgcaccag
1021 gagatactac ctgggggctg tggagctttc ttgggaactac atgcagctct accctggggga
1081 gctgcctgtg gatgccaggt tcccaccagg agtgcccaaa tctctcccat tcaacacctc
1141 tgtggtctac aagaagaccc tctttgtgga gttcactgac cactgtttca acattgcca
1201 acccaggcca cctggatgg gactcctggg acccaccatt caggctgagg tgtatgacac
1261 tgtggctcat accctcaaga acatggcctc ccaccctgtg agcctgcatg ctgtgggggt
1321 cagctactgg aaggcctctg agggggctga gtatgatgac cagacctccc agagggagaa
1381 ggaggatgac aaagtgttcc ctgggggcag ccacacctat gttgtggcag tccctcaagg
1441 gaatggcccc atggcctctg acccactctg cctgacctac tctacacttt ctcatgtgga
1501 cctgggtcaa gacctcaact ctggactgat tggggccctg ctggtgtgca gggagggtct
1561 cctgggcaaa gagaagaccc agaccctgca caagttcatt ctctgtttg ctgtctttga
1621 tgagggcaag agctggcact ctgaaaccaa gaactccctg atgcaggaca gggatgctgc
1681 ctctgcccag gcctggccca agatgcacac tgtgaatggc tatgtgaaca gtagcctgcc
1741 tggactcatt ggtgccaca ggaatctgt ctaactggcat gtagttgga tggggacaac
1801 cctgagagtg cactccattt tctggaggg ccacaccttc ctggtcagga accacagaca
1861 ggccagcctg gagatcagcc ccatcacctt cctcactgce cagacctgce tgatggacct
1921 cggacagttc ctgctgttct gccacatcag ctcccaccag catgatggca tggaggccta
1981 tgtcaagggt gacagctgac ctgaggagcc acagctcagg atgaagaaca atgaggagcc
2041 tgaggactat gatgatgacc tgaactgact tgagatggat gttgctcgct ttgatgatga
2101 caacagccca tcttctatcc agatcaggtc tgtggccaa gaaacaccca agacctgggt
2161 gcactacatt gctgctgagg agggagactg ggaactatgcc ccactggtcc tggcccttga
2221 tgacaggagc tacaagagcc agtacctcaa caatggccca cagaggattg gacgcaagta
2281 caaagaagtc aggttcatgg cctacactga tgaacacctc aagaccaggg aggcacctca
2341 gcatgagtcct ggcactcctg gccactcct gtatggggag gttggggaca cctgctcat
2401 catcttcaag aaccaggcct ccaggcccta caacatctac ccacatggca tcactgatgt
2461 caggccctctg tacagccgca ggcgtccaaa ggggggtgaa cactccaagg acttcccat

```

Фиг. 7A

```

2521 tctgcctggg gagatcttca agtacaagt gactgtcact gtggaggatg gaccaaccaa
2581 atctgacccc aggtgectca ccagatacta ctccagrttt gtgaacatgg agagggacct
2641 ggccctctggc ctgattggcc cactgctcat ctgtacaag gagtctgtgg accagagggg
2701 aaaccagatc atgtctgaca agaggaaatgt gatctctgtc tctgtctttg atgagaacag
2761 gagctgggtac ctgactgaga acattcagcg cttcctgccc aacctgctg gggtgcagct
2821 ggaggaccct gagttccagg ccagacaacat catgcactcc atcaatggct atgtgtttga
2881 cagcctccag ctttctgtct gcoctgcata ggtggcctac tggtaacatc ttctatttgg
2941 ggcccagact gacttctctt ctgtctcttt ctctggctac accttcaaac acaagatggt
3001 gtatgaggac accctgaccc tcttccatt ctctggggag actgtgttca tgagcatgga
3061 gaaccctggc ctgtggattc tgggatgcca caactctgac ttccgcaaca gggcatgac
3121 tgccctgtct aaagtctcct cctgtgacaa gaacactggg gactactatg aggcagcta
3181 tgaggacatc totgcctacc tgctcagcaa gaacaatgcc attgagccca ggagcttcag
3241 ccagaatcca cctgtcttga aacgccacca gagggagatc accaggacca ccttccagtc
3301 tgaccaggag gagattgact atgatgacac catttctgtg gagatgaaga aagaggactt
3361 tgacatctat gacgaggacg agaaccagag cccaaggagc ttccagaaga agaccaaggc
3421 ctacttcatt gctgctgtgg agcgctgtgt ggaactatgg atgagctcca gccccatgt
3481 cctcaggaac agggcccagt ctggctctgt gccacagttc aagaagtgg tcttccaa
3541 gtteactgat ggcagcttca cccagccctc gtacagaggg gagctgaatg agcacctggg
3601 actcctgggc ccatacatca gggctgaggt ggaggacaac atcatggta ccttccgcaa
3661 ccaggcctcc agggccctaca gcttctacag ctccctcatc agctatgag aggaccagag
3721 gcaaggggct gagccacgca agaactttgt gaaacccaal gaaaccaaga cctacttctg
3781 gaaagtccag caccacatgg cccccaccaa ggaatgagtt gactgcaagg cctgggctca
3841 cttctctgat gtggacctgg aagaagatgt gcaactctgg ctgattggcc cactcctggt
3901 ctgcccaccc aacacccctga accctgcccc tggaaaggcaa gtgactgtgc aggaatttgc
3961 cctcttcttc accatctttg atgaacccaa gagctggatc ttactgaga acatggagcg
4021 caactgcagg gccccatgca acattcagat ggaggacccc accttcaag agaactaccg
4081 cttccatgcc atcaatggct acatcatgga cacctgctct ggggttgtca tggcccagg
4141 ccagaggatc aggtggtacc tgccttctat gggctccaat gagaacatc actccatcca
4201 cttctctggg catgtcttca ctgtgcgcaa gaaggaggag tacaagatg cctgttaca
4261 cctctaccct ggggtctttg agactgtgga gatgctgccc tccaaagctg gcatctggag
4321 ggtggagtg ctcattgggg agcacctgca tgcgtgcatg agcacctgt tctgtgtota
4381 cagcaaacag tgcagacccc cctgggaat ggcctctggc caatcaggg acttccagat
4441 cactgctctt ggccagtatg gccagtgggc cccaagctg gccaggtctc actactctg
4501 atccatcaat gcctggagca ccaaggagcc attcagctgg atcaaatgg acctgctggc
4561 ccccatgac atccatggca tcaagaccca gggggccagg cagaagtctc ccagcctgta
4621 catcagccag ttcatcatca tgtacagcct ggaatggcaa aatggcaga cctacagag
4681 caactccact ggaacactca tggctctttt tggcaatgtg gacagctctg gcatcaagca
4741 caacatcttc aaccccccaa tcatcgccag atacatcagg ctgcacocca cccactacag
4801 catccgagc accctcagga tggagctgat gggctgtag ctgaactctc gacagctgcc
4861 cctgggcatg gagagcaagg ccatttctga tgcaccagat actgcctcca gctacttacc
4921 caacatgttt gccacctgga gcccaagcaa ggcacagctg cactccagg gaaggagcaa
4981 tgcttggagg ccccaggcca acaacccaaa ggagtggctg caggtggact tccagaagac

```

Фиг. 7В

```

5041 catgaaggtc actgggggtga ccccccaggg ggtcaagagc ctgctcacca gcatgtatgt
5101 gaaggagttc ctgatcagct ccagccagga tggccaccag tgaacctct tcttccagaa
5161 tggcaaggtc aaggtgttcc agggcaacca ggacagcttc acccctgtgg tgaacagcct
5221 ggaccccccc ctcctgacca gatacctgag gattcacccc cagagctggg tccaccagat
5281 tgccctgagg atggaggtcc tgggatgtga ggcaccaggc ctgtactgat gacgagcgcc
5341 cgctcttagt agcagtatcg ataataaagg atctttattt tcaatagatc tgtgtgttgg
5401 ttttttgtgt gtttaattaag ctgcgaaagg aacctcagt gatggagttg gccactccct
5461 ctctgcgcgc tgcctgcctc actgagggcg ggcgaccaa ggtcgcccga cgcctgggct
5521 ttgcccgggc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtgccc aagacgattt
5581 aaatgacaa cttggcgtaa tcatggctat agctgttctc tgttgaaaat tgttatccgc
5641 tcacaattcc acacaacata cagagccgga gcataaagt taaagcctgg ggtgcctaatt
5701 gagtgagcta actcacatta attgogttgc gctcactgcc cgctttccag tccggaaacc
5761 tgtcgtgccca gctgcattaa tgaatcgccc aacgcgcggg gagaggcggt ttgcgtattg
5821 ggcgctcttc cgcttctctg ctcactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg ctgcggcgag
5881 cgytatcagc tcactcaaa gcggtaatat gtttatccac agaactcagg gataaccag
5941 gaagaaacat gtgagcaaaa ggcacagaaa aggcacggaa ccgttaaaa ggcggcttgc
6001 tggcggtttt ccataggctc cgcctccctg acgagcatca caaaaaatga cgtcagatc
6061 agaggtggcg aaaccggaca ggaactaaaa gataccaggc gtttccccc ggaagctccc
6121 tctgtgcctc tctgttccg accctgcgcg ttaccggata cctgtccgcc ttctccctt
6181 cgggaaagct ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggctg
6241 ttgcctccaa gctgggctgt gtgcacgaac ccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat
6301 ccggtaaacta tctgtttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag
6361 ccaactggtaa caggatttag agagcgaggt atgtaggcgg tgcacagag ttcttgaagt
6421 ggtggcctaa ctacgctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc
6481 cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaaaaaacc accgctggta
6541 gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag
6601 atcctttgat cttttctacg ggtctgacg ctcagtggaa cgaaaactca cgttaaggga
6661 ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ccttttaaat taaaaaatga
6721 gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac caatgcttaa
6781 tcagtggagg acctatctca gcatctgtc tatttcttcc atccatagtt gctgactcc
6841 cgtcgtgtga gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt gctgcaatga
6901 taccgcgaga cccacgctca cgggtccag atttatcagc aataaacagg ccagccggaa
6961 gggccgagcg cagaagtgtt cctgcaactt tatccgcctc catccagctt attaatgttt
7021 gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt ggcgaacgtt gttgcaattg
7081 ctacaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc ttcatcagc tccggttccc
7141 aacgatcaag gcgagttaca tgatccccc tgttgtgcaa aaaagcgggt agctccttcg
7201 gtctccgat cgttgtcaga agtaagtgg ccgcagtggt atcaactcat gttatggcag
7261 cactgcataa ttctcttaet gtcatgccat cgttaagatg cttttctgtg actggtgagt
7321 actcaaccaa gtcattctga gaatagtgta tgcggcgacc gagtgtctct tgcgccgct
7381 caatacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaaa agtgcctatc attggaaaaac
7441 gttctctggg gcgaaaaact tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tcatgttaac
7501 ccaactcgtc acccaactga tcttccagat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag
7561 caaaaacagg aaggcaaaat gccgcaaaa agggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa
7621 tactcatact cttctttttt caatattatt gaagcattta ccagggttat tgtctcatga
7681 gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg gcacacttcc
7741 cccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa
7801 ataggcgtat cagcaggccc tttcgtc (SEQ ID NO:8)

```

Фиг. 7С

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGGAGATAC
TACCTGGGGGCTGTGGAGCTTCTTGGGACTACATGCAGCTGACCTGGGGGAGCTGCCTGTGGATGCGCAGG
TTCGCCACCCAGATGCCCAANTCCTTCCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAGAAGACCCCTTTGTGGAG
TTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGCCACCTGGATGGGACTCCTGGGACCCACCATTTAG
GCTGAGGTGTATGACACTGTGGTTCATCACCCCTCAAGAACATGGCCTCCACCCCTGTGAGCCTGCATGCTGTG
GGGCTCAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGGGCTGAGTATGATGACCAGACCTCCAGAGGGAGAGGAGGAT
GACAAAGTGTTCCTGGGGGAGCCACACCTATGTGTGGCAGGTCCCTCAAGGAGAATGSCCCCATGGCCTCT
GACCCACTCTGCCTGACCTACTCCTACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATT
GGGGCCTGCTGGTGTGCAGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCCTGCACAAAGTTTCATTCTC
CTGTTTGTCTGCTTTTGTAGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAACCCAAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGAT
GCTGCCTCTGCCAGGGGCTGGCCAAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGGCTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCATCCATT
TTCTGTAGGGGCCACACCTTCTGTGGTCAAGAACACAGACAGGGCCAGCCTGGAGATCAGGCCCATCACCCTC
CTCACTGCCACAGCCCTGCTGATGGACTCGGACAGTTCTGCTGTTCTGCCACATCAGCTCCCAACAGCAT
GATGGCATGGAGGCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCACAGCTCAGGATGAAGAACATGAG
GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGTGGTCCGCTTGTATGATGACCAACAGC
CCATCCTTCAITTCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGAAACACCCCAAGACCTGGGTGCATACATTGCTGCTGAG
GAGGAGGACTGGGACTATGCCCACTGGCTCTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAGAGGCCAGTACCTCAAC
AATGGCCCAAGAGGATTGGAGCAAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCTACACTGATGAACCTTCAAG
ACCAGGAGGGCCATTTCAGCATGAGTCTGGCATCTGGGCCCACTCCTGTATGGGAGGTTGGGGGACACCTGT
CTCATCATCTTCAAGAACAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAAGGCC
CTGTACAGCCGAGGCTGCCAAAGGGGTTGAAACACCTCAAGGACTTCCCAATTCTGCTGGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAATCTGACCCAGGCTGCCTCACCAGATACCTAC
TCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCACTGCTCATCTGTACAAAGGAG
TCTGTGGACCAAGGGGAAACAGATCATCTGTGACAAAGGAATGTGATTCTGTTCTCTGTCTTTGATGAG
AACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTCAGCCCTCCTGCCCAACCTGCTGGGTGGCAGCTGGAGGAC
CCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTCTGTCT
TGCTGCTGATGAGGTGGCTACTGCTACATCTCTTTCTATTGGGSCCAGACTGACTTCCCTTCTGCTCTCTTC
TCTGGCTACACCTTCAACACAAGATGGTGTATGAGGACACCCGACCCCTCTTCCCATCTCTGCGGAGAGCT
GTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCTGGCCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGC
ATGACTGCCCTGCTCAAGTCTCCTCCTGTGACAAAGAACACTGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGAC
ATCTCTGCTTACCTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGGCCAGGGAGATCAACAGGACCACCCCTCAAGTCT
GACCAAGGAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGAC
GAGGACGAGAACAGAGCCCAAGGAGCTTCCAGAAAGAACAGGACCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGGCC
CTGTGGGACTATGGCATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGSCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAG
TTCAAGAAAGTGGTCTTCCAAGAGTTCACTGATGSCAGCTTCACCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAAT
GAGCACCTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGACAACATCATGTGACCTTCCGCAAC
CAGGCCCTCAGGCCCTCAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAAGAGGCCAGGGGCTGAG
CCACGCAAGAACTTTGTGAACCCATGAACCCAGAGCTACTTCTGGAAGTCCAGCACCATGGCCCC

(Продолжение)

Фиг. 8А

ACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCCTGGGCCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAGGATGTGCACCTCT
GGCCTGATTGGCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCTGAAACCTTGCCCATGGAGGCAAGTGACTGTG
CAGGAGTTTGCCCTCTCTTCACCATCTTTGATGAACCAAGAGCTGGTACTTCACTGAGAAACATGGAGCGC
AAGTGCAGGGCCCCATGTGACATTCAGATGGAGGACCCACCTTCAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATC
AATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCCTGGCTTGTCTATGGCCCAAGGACCAAGGATCAGTGGTACCTGCTT
TCTATGGGCTCCAAATGAGAACATTCACCTCCATCCTCTCTGGGCATGCTCTTCACTGTGCCAGGAAGGAG
GAGTACAAGATGGCCCTGTACAACCTCTACCCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAGCT
GGCATCTGGAGGTTGGAGTGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCCCTGTTCTCTCTAC
AGCAACAAGTGGCAGAGCCCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCCTGGAGCACCAAG
GAGGCATTACAGCTGGATCAAGTGGAGCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAGGGGGCC
AGGCAGAGGTTCTCCAGGCTGTACATCAGCCAGTTTCATCATCATGTACAGCCTGGATGGCAAGAAATGGCAC
ACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCAC
AACATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTGCACCCCAACCACTACAGCATCCCGAGCACCC
CTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACCTCTGACAGCATGCCCTGGGCATGGAGAGCAGCAAGCAT
TCTGATGCCAGATCACTGCCTCCAGCTACTTCAACAACATGTTTGGCCACTGGAGCCCAAGCAGGGCCAG
CTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAATGCCTGGAGGGCCAGGTCAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGAC
TTCCAGAAGACCATGAAGTCACTGGGCTGACCAACCCAGGGGCTCAAGAGCCTGCTCACACGATGTATGTG
AAGGAGTTCTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCACTGGAGCCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGGTCAAG
GTGTTCTCAGGGCAACCAAGGACAGCTTCAACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCTCTGACCATGAT
CTCAGGATTCAACCCAGAGCTGGTCCACAGATGCCCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGTGAGGCCACG
GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:9)

Фиг. 8В

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-AA

MQIELSTCFFLCLLRFCSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELFVDARFPPRPVKSFPFNTSVVYK
TLFVEFTDHLFNIAKPRPPWMGLLGPTIQAEVYDVTVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYD
DQTSQREKEDDKVFPGSGHTYVNVQVLKENGFMASDELCTYSYLSHVVDLVKDLNSGLIGALLVCREG
SLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGVYVNRSLPGLIGCH
RKSZYVHWI GMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIFTLAQTLLMDLGQFLLFCHISSHQ
HDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTSEMVDVRFDDDNSPSFTQIRSVAKHKPKTWV
HYIAAEEEDWDYAPLVLAPDDRSYKSQYLNNGPQIRGRYKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILG
PLLYGEVGDTLIIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFIILPGEIFKYKWTVTIV
EDGPTKSDPRCLTRYISSFVNMERDLASGLIGPLLICTYKESVDQRGNQIMSDKRNVLISFVFDENRS
WYLTENIQRLPNPAGVQLEDPEFOASNIHMSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLSV
FFSGYTFKHMYVEDTLTLPFFSGETVFMSENPNGLWLIGCHNSDFRNRMGTALLKVSSCDKNTGDY
YEDSYEDISAYLLSKNNAIEPREITRTTQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDEENQSPRSFQK
KTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVPPQFKVVFQEPDGSFTQPLRYRGLNEHLGLIG
PYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLSIYBEDQRCQAEPRKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTK
DEFPCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAGHRQVTVQEFALFFITFDETKSWFTEN
MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGSENENIHSIHFSGH
VFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGELHAGMSTLFLVYSNKCQTPLGMA
SGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAFMIHGIKTQGARQKFS
LYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGSIKHNIFNPPIIARYIRLHPHTHYSIRSL
RMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSYTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPEKW
LQVDFQKTMKVTVTTQGVKSLTSMYKVELISSQDGHQWTLFFQNGVKYFQGNQDSFTPVVNS
LDFPLLTRYLRIHQSVWHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:10)

Фиг. 9

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTCTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCCAAACTCTCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCACTGACCACCTGTCAACATTGCCAAACCCAGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCAATCACCTCAAGAACATG
 GCCTCCACCCCTGTGAGCTGCATGCTGTGGGGTCAAGTACTGGAAGGCCCTCTGAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAAGACCTCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGGGCAGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCCTCAAGGAGAATGGCCCATGGCCTCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCTGCACAAGTTCATTCTCTGTGTGCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAPACCAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCTGGCCAAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCTCTGGTCAGGAACACAGACAGGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCTCACTGCCAGACCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATGAGTCCCAACAGCATGATGGCATGGAGGCCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAAACAGCCCATCTTCATTAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGAAA
 AGGGCAAGACCTGGGTGCATACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCATGCTGCTC
 CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCACAGAGGATTGGAGCGC
 AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTATGGCCTACACTGATGAACCTTCAAGACAGGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCTGGGGCCACTCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCTGCTCATCATCTC
 AAGAACCAGGCCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTAGGCCCCCTGTAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCTGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGGGGAAACAGATCATGTCTGACAAAGGGAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACAATCAGCGCTTCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGACCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCATGAGGTGGCCTACFGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTGCTGCTACCTTCAAAACAGAAATGGTG
 TATGAGGACACCTGACCTCTTCCCATTTCTGTTGGGAGACTGTGTTCTGAGCATGGAGAACCTT
 GGCTCTGGGATTTCTGGGATGCCACAACCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAAA
 GTCTCTCTGTGACAAGAACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAAATGCCATTGAGCCAGGAGCTTCAGCCAGAAATCCAGACACCCAGCAGACC
 AGGGAGATCACCAGGACACCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGACACCACTTTCT
 GTGGAGATGAAGAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCAAGGAGCTTC

(Продолжение)

Фиг. 10А

CAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGCATGAGCTCC
 AGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTC
 CAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAGCACCTGGGA
 CTCTCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGCAACCCAGGCC
 TCCAGGCCCTACAGCTTTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAAGAGGCAAGGGGCTGAG
 CCACGCAAGAACTTTGTGAACCCCAATGAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCATG
 GCCCCACCAAGGATGAGTTTGAAGTGCAGGGCTGGGCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
 GATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCTGCTGCTGCCACACCAACACCTGAACCTGGCCAT
 GGAAGGCAAGTGAAGTGTGAGGAGTTGGCCTCTCTTCAACCATCTTTGATGAACCAAGAGCTGG
 TACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCATGCAACATTAGATGGAGGACCCACCT
 TTCAAAGAGAATACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCTGGGCTTGTCT
 ATGGCCAGGACCAAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTCTATGGGCTCCAAATGAGAACAATCACTCC
 ATCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGATACAAAGATGGCCCTGTACAACT
 CTCTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGTGGAG
 TGCCTCATTTGGGGAGCACTGCTGCTGCTGAGGACCTGTTCTGCTGCTACAGCAACAAGTGC
 CAGACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCTCTGGCCAGTAT
 GGCCAGTGGGCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGGAGCACCAAG
 GAGCCATTGAGTGGATCAAGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAG
 GGGCCAGGCAGAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTTCATCATCATGTACAGCTGGATGGC
 AAGAAATGGCAGACTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGCTCTCTTTGGCAATGTGGAC
 AGCTCTGGCATCAAGCAACAATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTGCACCCC
 ACCCACTACAGCATCCGCAAGCACCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACCTCTGCAGC
 ATGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTCTGATGCCAGATCACTGCTCCAGCTACTTCAACC
 AACATGTTTGGCACTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAGGGAATGCCTGG
 AGGCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAGGTCACT
 GGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTCTCTGATCAGC
 TCCAGCCAGGATGGCCACCACTGGACCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGGTCAAGGTGTTCCAGGGC
 AACCAGGACAGCTTCAACCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCTGACCAAGATACCTGAGG
 ATTCACCCCAAGAGCTGGGTCCACAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGTGAGGCCCAAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:11)

Фиг. 10В

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-AA

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPFPRVKSFFNTSVVYKK
 TLFVEFTDHLFNIAPRPPMGLLGPTIQAEVYDVTVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYD
 DQTSQREKEDDKVFPGSSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREG
 SLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCH
 RKSVMHVIMCTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMLDGLQFLLFCHISSHG
 HDGMEAYVVKVDSCEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSPIQIRSAVKKHPTKW
 HYIAAEEEDWDYAPLVLAFFDDRSYKSYLNNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILG
 PLLYGEVGDILLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFFILFGEIFKYKWTVTV
 EDGPTKSDPRCLTRYSSSFVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVLFSVFDENRS
 WYLITENIQRFPLNPACVQLEDPEFQASNIHMSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTFDLSV
 FFSGYTFKHKMVEDTLTLFFSGETVFMSEMPGLMWILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTG DY
 YEDSYEDISAYLLSKNNATEPRSFQNSRHPSTREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYD
 EDENQSPRSFQKKTIRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVPPQFKKVVFEETDGSFTQPLY
 RGELEHLLGPGYIRAEVEDNIMVIFRNQASRPYSFYSSLSIYEEEDQRQGAEPKKNFVKPNETKTY
 FWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAGRQVTVQEFALFFT
 FDET KSWYFTENMERNCRAPCNTQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLFGLVMAQDQRIWYLLSMGS
 NENTHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTFLV
 YSNKQCTPLGMASGHIRDFQITASGGYQGWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIHG
 IKTGQARQKFSYLSIQFIIMYSLDCKKQWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGSIKHNIPNPPIIARYIR
 LHPHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSYFTNMFATWSPSKARLHLQGRSN
 AWRPQVNNPKEWLQVDFQKIMKVIQVTTQGVKSLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGVKVVFQ
 GNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIFHQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:12)

Фиг. 11

CS01-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGCTGTGGAACCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCAGAGTGCCCAAGTCCCTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTGACCACTGTTC AACATTGCAAAACCCAGACCACTCGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCAATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTTCAGAGAATG
 GCATCCCACTCTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAGCCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCTGGGGGATCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGCATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCCTCTGTTTGTCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAACAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTCTCTGGAGGGACACACCTTCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCTGTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCCACAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACTCTCCATCCTTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAGAA
 CAGCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAAATTTGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTATGGGCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCTGTCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTGAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGTCTATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAAATGTGATCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCTTGCCCCAC
 CCTGTCTGGGTGCAACTGGAAGACCCGTGAGTTCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATCTTTCT
 ATTGGGGCACAACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCATTTCTTGGGAAACTGTGTTCAATGAGCATGGGAGAACCCCT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTGACTTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCATGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGCCCAAGAGCTTCTCTCAGAAATCCACCTGTCTGGAAGAGA
 CACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGA
 TCATTCCAGAAAGACAAAGCACTACTTCAATGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATG
 TCTTCTCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG
 GTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAGCAC

(Продолжение)

Фиг. 12А

CTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTGAGAAAC
 CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGG
 GCTGAGCCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCACCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCCTGAACCT
 GCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 TCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAAGAC
 CCCACCTTCAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGG
 CTTGTCTATGGCCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTCTTATGGGATCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGAGAAAGAGGAGGAATACAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAATGCCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCTGTTCCCTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGACTTCCAGATCACTGCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCA
 ACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAG
 ACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
 GATGGCAAGATGGCAGACATACAGAGGCCAATCCACTGGCACCCCTCATGCTCTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCTTCCCATCATTCAGAGATACATCAGGCTG
 CACCCACCCCACTACTCAATCAGATCAACCTCAGGATGGAATGATGGGATGTGACCTGAACCTC
 TGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTAC
 TTCAACCAACATGTTGCCACCTGGTACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAGCAAT
 GCCTGGAGACCCAGGTCAACAAACCCAAAGGAATGGGTGCAAGTGGACTTCCAGAGACAAATGAAA
 GTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGTCAAGTCTCTGCTCACTCAATGTATGTGAAGGACTTCTG
 ATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCACTGGACACTCTTCTTCCAGAAATGGCAAACTCAAGGTGTT
 CAGGGCAACAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTCTGACAAGATAC
 CTGAGAAATCACCCACAGTCTTGGTCCACAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGAG
 GCACAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:13)

Фиг. 12В

CS08-FL-NA

ATGCAGATCGAAGTGAAGCACTTGGTCTTCTCTGTGTCTCTCTGCGCTTTTGCTTCTCCGCCACAAGG
 AGATACTATCTCGGTGCCGTGGAGCTCAGCTGGGACTACATGCAGAGCGACTTGGGTGAACCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTTCCACCCCGCGTGCACCAAGAGTTTCCCGTTCAACACCAAGTGTCTGTACAAG
 AAAACCTCTCTCGTGGAAATTCACCGACCACTGTTCACATCGCCAAACCCGCGCTTCCCTGGATG
 GGGCTGCTCGGCCCGAGCATCCAGGCTGAGGTCTATGACACGGTGGTGATTAACCTCAAGAACATG
 GCTAGCCACCCGGTGAGCCTGCACGCGGTGGGCGTGTCTATTGGAAAGCGTCCGAGGGTGGCGAG
 TACGATGACAGACTTTCACAGCGGAGAGGAGGACGACAAAGTGTTCGCCGGGGTTCACACACC
 TATGCTCGGCAGGTCTTGAAGGAGAAATGGTCTATGGCTTCGACCCATTGTGCTCACTACTCT
 TACCTAAGCCATGTGGATCTCGTCAAGGACCTGAACTCGGGGCTGATCGGCGCCCTGCTCGTGTGC
 CGGGAGGGCTCACTGGCCCAAGGAGAAGACCCAAACTCTGCACAAGTTTATCCTGCTGTTCGCGGTA
 TTCGACGAGGGGAAGTCTTGGCACTCCGAGACCAAGAACAGCTGATGCAGGACCCGCGACGCGACC
 TCGGCCGCTGCGTGGCCAAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTTAACAGGAGCTTACCCGGCCTG
 ATCGGCTGCCACCGCAAACTCGGTCTACTGGCATGTGATCGGAATGGGCACAAACCCGAGGTCCAC
 AGTATCTTCTCGAGGGGCCACACTTCTCGTTCGGGAATCACCGCCAGGCCAGCTTGGAGATCAGC
 CCATACACTTCTTGACGCGCGCAGACCTTACTCATGGATCTCGGCCAGTCTCTCTGTCTCTGCCAC
 ATTTCTGTCACACGACGATGGGATGGAAGCATATGTGAAAGTGGACTCTGCCCGAGGAACCC
 CAGCTTAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCCGAGGACTACGACGATGACCTTACCGATTGAGAAATG
 GACGTAGTACGCTTTGACGACGACAACTCTCCATCTTATACAGATTTCGCTCCGTCGCCAAGAA
 CACCTTAAGACTTGGGTGCACTACATCGCGGCCGAGGAGGAGGACTGGGATATGCTCCCTGGTG
 CTGGCCCCGACGACCGCAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAATAACGGGGCCCGAGGCATCGGCCGG
 AAGTACAAGAAAGTGCAGTTTATGGCTTACACGGACGAGACCTTCAAGACCCGGGAGGCTATCCAG
 CATGAGAGCGGCATCTTGGGGCCCTCTCTGTACGGCGAAGTTGGAGACACACTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCGAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCAACGGCATTAACCGATGTCCGGCCGTTGTAC
 AGCCGACGGCTGCCAAGGGCGTGAAGCACTGAAGGACTTTCGGATCTGCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTGACCTGGAGGATGGGCCGACCAAGAGCGATCCGCGCTGCTTGACCCGCT
 TACTACTCCAGCTTTGTCAATATGGAGCGCGACCTCGCTAGCGGCTTGTATGGCCCTCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGTCCGTGACACAGAGGGGAATCAGATCATGATGACAAGAGGAACGTGATCTCTG
 TTCTCCGTGTTGACGAAAAACCGAGCTGGTATCTCACCGAGAAATATCCAGCGCTTCTTGCCCAAC
 CCGGCCGTTGTGACGCTGGAGGACCCGAGTTTCAGGCCAGCAACATCATGCATTTATCAACGGGA
 TATGTGTTTGTATCCCTGCACTCTTCAGTGTGCTGCAAGAGTCCGCTACTGGTATATCTCCTCAGC
 ATTGGGGCACAGACCGACTTCTTGAGCGTGTCTTCTCCGGGTATACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGATACCTTGACCTGTTCCTTTAGCGGCCAAACCGTGTATATGTCTATGGAGAACCC
 GGGCTCTGGATCCTTGGCTGCCATAACTCCGACTTCCGCAACCGCGGAATGACCGCGCTCTGAAA
 GTGTCAGTTTGTACAAGAACACCGCGACTATTACGAGGACAGTTACGAGGACATCTCTGCGTAC
 CTCTTAGCAAGAAATACGCCATCGAGCAAGATCTTCAAGCCAGAACCCCAAGTGTCTGAGAGG
 CATCAGCGGGAGATCACCGCACGACCTGCACTCGGATCAGGAGGAGATTGATTACGACGACAG
 ATCAGTGTGGAGATGAAGAAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGATGAAAACAGTCCCTCGG
 TCCTTCCAAAAGAACCCGGCACTACTTCATCGCCGCTGTGGAACCGCTGTGGGACTATGGAATG

(Продолжение)

Фиг. 13А

TCTTCTAGCCCTCACGTTTGTAGGAACCGGCCAGTCGGGCGAGCGTGCCCCAGTTCAGAAAGTG
 GTGTTCCAGAGGTTACCGGAGCGCTCCTTACCCAGCCACTTTACCGGGCGAGCTCAATGAACAT
 CTGGGCCCTGCTGGGACCTACATCAGGGCTGAGTGGAGGACACATCATGGTGACATTCCGGAAT
 CAGGCCAGCAGACCATACAGTTTCTACAGTTCACTCATCTCCTACGAGGAGGCCAGGCCAGGGG
 GCTGAACCCCGTAAGAACTTCTGAAGCCAAACGAAACAAAGACCTACTTCTGGAAGTCCAGCAC
 CACATGGCCACTACCAAGGACGAGTTCGATTGCAAGGCCCTGGGCCACTTCTCCGACGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACAGCGCCCTGATTGGCCCTCTGCTGGTGTGTACACGAAACACACTCAACCT
 GCACAGCGGGCGGAGGTCACGTGTGAGGAATTCGCCCTGTCTTTACCATCTTGTATGAGACGAAG
 TCCTGGTATTTACCGAAACATGGAGGAACTGCCGCCACCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
 CCGACATTCAGGAGAACTACCGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGC
 CTCGTGATGGCCCAAGACCAGCGTATCCGCTGGTATCTGCTGTGCGATGGGCTCCAACGAGAACATC
 CATAGTATCCACTTCAGCGGGCATGTCTTACCGGTGAGGAAAAGGAGGAGTACAAGATGGCACTG
 TACAACCTCTATCCCGCGCTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCCTCCAAGGCCGGCATCTGGAGA
 GTGGAATGCCTGATCGGCGAGCACCTCCACGCTGGGATGTCCACGCTGTCTCTCGTTTACAGCAAT
 AAGTGCCAGACCCCTCTGGGCAATGGCGAGCGGCCACATCCGGCACTTCCAGATTACAGCCAGCGGC
 CAGTACGGTCAGTGGGCTCCAAGCTGGCCCGCTGCACTACTCCGGATCCATCAACGCCCTGGTCC
 ACCAAGGAACCGTTCTCTGGATCAAAGTAGACCTGCTAGCCCCCATGATCATTCACGGCATCAAG
 ACACAAGGCCGCCGACAGAAGTTCTCGAGCCTCTATATCTCCCACTCATCATCATGTATAGCCCTG
 GACGGAAGAAAGTGGCAGACTTACCGCGGAAACTGCACAGGACCCCTGATGGTATTTCTCGGTAAC
 GTGGACAGCTCCGGAATCAAGCACAACTCTTCAACCCACCCATTTATCGCCCGCTACATCCGCCCTG
 CACCCCACTCACTATAGCATTAGGTCCACCTCGCAATGGAGCTCATGGGCTGTGACCTGAACAGC
 TGTAGCATGCCCTCGCATGGAGTCTAAGGCGATCTCCGACGCACAGATAACCGCATCATCTCTAC
 TTTACCAACATGTTGCTACCTGGTCCCCCTCCAAGGCCGACTCCAACCTGCAAGGGAGATCCAAC
 GCGTGGCGGCCACAGGTCAACAAATCCCAAGGAGTGGCTGCAAGTGGACTTTCAGAAAACTATGAAG
 GTCAACCGGAGTGACCAACAGGAGGTGAAGTCTCTGCTGACAGCATGTACGTGAAGGAGTTCCTTC
 ATCTCCAGTTCCGAGGATGGCCACCACTGGACGTTGTCTTCCAAACCGTAAAGTCAAGTCTCTC
 CAAGGGAACAGGACAGCTTACACCCCTGCTGAACCTCCCTGGACCCCGCTTCTCACTAGATAC
 CTCCGCATCCACCTCAGAGCTGGGTGCACAGATTGCCCTGGGCATGGAGGTTCTGGGTTGTGA
 GCCCAGGACCTGTACTAA (SEQ ID NO:14)

Фиг. 13В

CS10-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTCTCCACCTGCTTCTTTCTCTGCCTTCTTCGCTTCTGCTTTTCTGCCACACGC
 AGGTACTATTTGGGAGCAGTGGAACTGAGCTGGGATTACATGCAGAGTGACCTTGGTGAACCTTCCT
 GTGGACGCTCGTTTTCCACCTAGAGTTCCCAAGTCCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTCTACAAG
 AAAACGCTGTTTGTGGAGTTCAGTGACCACTCTTCAACATTGCCAAACCAAGACCCCTTGGATG
 GGATTGCTGGGACCCACAATACAAGCAGAAGTCTACGACACGGTGGTATTACCTTGAAGAACATG
 GCGTCACACCTGTTTCACTTACGCTGTGTTGGGTGAGTTATTGGAAAGCCTCAGAGGGTGGCGAA
 TACGATGATCAAACCGCCAGAGGGAGAAGGAAGATGACAAGTCTTTCCTGGGGGTAGCCATACC
 TATGTTTGGCAGGTGCTGAAAGAGAATGGGCCATATGGCCTCTGATCCCTTGTGCTTCACATACCTCT
 TACCTGAGTCACGTCGACTGGTGAAGACCTGAATAGCGGTCTGATTGGTGCACCTGTTGTTTGT
 AGAGAGGGGAGTTTGGCCAAAGGAGAAAACCTCAGACTCTCCACAAGTTTATCCTCCTGTTTGTGCTG
 TTCGACGAGGGCAAGTCTTGGCACCTGTAACAAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGAGATGCTGCA
 TCTGCAAGGGCTTGGCCAAAATGCACACAGTGAACGGCTATGTGAATCGATCACTGCCAGGACTG
 ATAGGCTGTCTATCGCAAGTCAGTGTATTGGCACGTTATCGGATGGGAACAACTCCAGAAGTGCAC
 AGCATCTTCCTTGGGGCCACACTTTCCTGGTTCGGAAATCATAGACAGGCCAGCCTTGAGATCAGC
 CCAATCACCTTTCTGACTGCCCAAACCTTGTGATGGATCTGGGACAGTTCTCTCTGTTTGTTCAC
 ATCTCTCCCAACCAATGACGGGATGGAGGCTTATGTGAAGTTCGATAGCTGTCCGGAGGAACCA
 CAACTGAGGATGAAGAACAACGAAGAGGCGAGGACTATGACGACGATCTGACTGACAGTGAATG
 GACGTGGTTCCGTTTCGACGATGACAATTCTCCTTCATTTATCCAGATCCGTTCCGTGGCCAAAG
 CACCCCAAGACTTGGGTTTATTACATCGCTGCTGAGGAGGAGGATTGGGACTACGCGCCCTTGGTG
 TTGGCCCCAGACGATCGCTCATACAGAGCCAGTACCTTAACAATGGTCCACAAGGATCGGCCGG
 AAGTACAAGAAGTTAGATTTATGGCTTATACCGACGAGACTTTTAAACTAGGGAAGCAATTGAG
 CATGAAGTGGCATTCTTGGACCCCTGCTGTATGGCGAGTTGGCGACACCTGCTGATTATCTTT
 AAGAACCAGGCAAGCCGGCCCTACAACTCTACCCGCACGCATAAACGATGTACGACCCCTGTAC
 AGTCCGAGACTTCTTAAAGGGGTGAACACCTGAAGGACTTCCCAATTTCTGCCCGGGGAGATCTTC
 AAGTATAAATGGACCGTGACGTTGAGGATGGTCCCAAAAGTCCGATCCGAGATGCCCTTACCCGA
 TATTATCCAGCTTCTGTGAACATGGAAAGGACCTGGCCAGCGGGCTGATTGGCCCACTGCTGATT
 TGTTCAAAGGAGTCTGTGATCAAGAGGAAACCAATTAATGAGCGACAAACGTAACGTCATCTCTG
 TTCAGCGTCTTTGATGAGAATAGAAGCTGGTACCTCACAGAAAATATTACGCGGTTTCTGCCTAAC
 CCCGAGGCGTCCAGCTGGAAGATCCCGAGTTCCAAGCCTCAAACATCATGCATAGCATCAACGGA
 TACGTATTCGATAGCCTGCAGCTGTCCGCTGTCTCCATGAAGTGGCATATTGTTACATCTCTGAGT
 ATCGGGGCGCAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTTTCTGGAATACAGCTTCAAACACAAAATGGTC
 TATGAAGATACCCCTGACTCTGTTTCCATTCTCAGGAGAGACAGTCTTTATGAGTATGGAAAAATCCT
 GGACTGTGGATCTCGGCTGTCACAATTCTGATTTTCGGAACAGAGGCATGACAGCCCTGCTTAA
 GTGAGCTCATGCGACAAGAACACCGGTGATTACTACGAAGATAGCTATGAGGACATCAGTGCCTAT
 TTGCTCTCCAAGAACAAACGCTATCGAGCCACGGTCTTTCACTCAGAATCCTCCGTTCTGAAGCGG
 CATCAGCGCGAAATAACAGCACAAACCTTCAGTCAGACCAAGAGGAAATCGACTACGATGATACG
 ATCTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGATTTCGACATTTACGACGAGGACGAGAATCAGTCCCCAAGG
 AGCTTTCAGAAGAAAACAAGACATAATTCATTGCCCGCGTGGAGCGACTGTGGGACTAGCGCATG

(Продолжение)

Фиг. 14А

TCTAGCTCTCCGATGTACTTAGAAATAGGGCACAAAGCGGATCCGTGCCTCAGTTTAAAGAAAGTT
 GTCTTTCAGGAGTTTACAGATGGCTCCTTCACCCAGCCCTTGTATCGCGGGAACTCAATGAACAC
 CTGGGCTCCTGGGTCTTATATTAGGGCCGAAGTCGAGGACAATATCATGGTGACCTTTAGGAAC
 CAGGCATCTAGACCTTACTCTTCTACTCCTCCCTGATATCCTATGAGGAGGACCAGCGGCAAGGC
 GCTGAGCCTCGGAAGAACTTTGTGAAGCCAAATGAAACCAAAACATACTTTTGGAAAGTTCAGCAC
 CACATGGCTCCACGAAGGACGAATTTGACTGTAAAGCCTGGGCTTACTTCTCAGATGTAGATCTC
 GAGAAGACCTGCACCTCAGGGCTCATTTGGTCCCCTCCTGGTCTGTATATACTAATACCCCTCAATCCA
 GCACACGGACGTGAGTTAACCGTCCAGGAATTTGCCCTGTCTTACCATTTTCGATGAGACTAAA
 TCCTGGTACTTTACCGAAAACATGGAGAGGAATTCAGAGCCCCATGCAACATCCAGATGGAGGAC
 CCTACCTTCAAGAGAACTATCGCTTCCATGCCATTACGGTTACATTTATGGATACTCTCCAGGA
 CTTGTGATGGCACAGGATCAGCGGATAAGATGGTATCTGTTGAGCATGGGCTCCACAGAGAATATT
 CACAGCATCCATTTCTCCGGTCACGTGTTTACAGTGAGAAAGAAAGAGTACAAGATGGCTCTG
 TATAATCTCTATCCAGGCGTATTGAAAACGGTGGAGATGTTGCCTAGCAAGGCCGGCATTTGGCGA
 GTAGAATGCCTTATCGGGGAACATCTGCATGCCGGAATGAGCACGCTCTTCTGGTGTATAGTAAC
 AAGTGCCAGACTCCGCTGGGCAATGGCATCTGGCCATATACGGGACTTCAGATTACGGGTACGGGG
 CAGTATGGGCAGTGGGCACCCAACTTGCAGCATGCACATTCAGGCTCTATCAATGCATGGTCC
 ACCAAGGAACCTTCTCTGGATTAAAGTGGACCTTTTGGCGCCATGATAATCCATGGGATCAAA
 ACCCAGGGCGCTCGTCAGAAATTTCTCATCTACATCTCTCAGTTTCAATAATGTATTACCTG
 GATGGGAAGAAATGGCAGACTTACAGAGGAAACAGCACCGGGACGCTGATGGTGTTCTTTGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAACACAACTTCTCAATCTCCCATTTATGGCCGTTATATTAGCATG
 CATCCCACTCACTACTCTATACGCAGCACACTTAGGATGGAGCTCATGGGATGCGACCTGAACAGT
 TGTAGTATGCCCTTGGGATGGAGTCCAAAGCTATAAGCGACGCACAATTTACAGCTAGCTCTAC
 TTTACGAATATGTTCCGCACGTGGAGCCCAAGCAAAGCCCGGCTGCATTTGCAGGGTCGGAGTAAT
 GCTTTGGCGCCACAGGTGAATAACCTTAAGGAATGGTTGCAAGTAGATTTCCAGAAACTATGAAG
 GTAACCGGCGTCACTACACAGGGAGTCAAGTCCCTCTTGACCTCTATGTACGTCAAGGATTCGTG
 ATTAGCAGCAGTCAAGATGGGCACCAATGGACACTGTTCTTCCAGAAATGGGAAGTTAAAGTATTT
 CAGGTAACCAAGACTCCTTTACACCTGTGGTGAATAGCCTCGACCCACCCCTGCTGACACAGTAC
 CTCGCAATCCACCTCAGTCTTGGGTGCATCAAAATGGCCTCGGAATGGAGGTGTTGGGATGCGAA
 GCTCAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO:15)

Фиг. 14B

CS11-FL-NA

ATGCAGATCGAACTCTCTACTTGTCTTCTTCTGTGCCTTCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACTCGC
 CGATATTACCTCGGGGCGGTGGAGTTGAGTTGGGACTACATGCAATCAGATCTGGGCGAACTCCCT
 GTGGATGCCGATTTCCACCGCGGTGCCAAAGTCTTTCCCATTTAATACTTCTGTGGGTACAAAG
 AAGACATTTGTTGTGGAGTTTACCAGATCACCTGTTCAACATCGCCAAACCGCGGCCCATGAGATG
 GGTCTGCTTGGGCCCAACCATTCAGCGGAGGTCTATGATACAGTGGTGATAACGCTTAAGAACATG
 GCGAGCCACCCAGTGTCTCTGCTATGCCGTTGGTGATCATATTGGAAGGCCAGCGAAGGAGCGGAG
 TACGATGACCAAGACTCTCAGAGAGAGAAGGAAGACGATAAGGTTTTCCTGGCGGAATCATACA
 TATGTATGGCAGGTCTGAAAGAGAATGGGCCGATGGCTTCTGACCCCTTTGTCTTACCTATAGT
 TATCTGAGCCACGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACAGTGGTCTGATTGGGGCTCTGCTTGTGTT
 AGAGAGGGTAGCTTGGCTAAGGAGAAAACCAACACTCCATAAGTTTCAATTTTGTCTGTTCGCGGTG
 TTCCACGAGGGAAGAGTTGGCACAGCGAACAAGAAATTTCACTGATGCAAGACAGGACGCCGCT
 TCCGCAAGGGCTTGGCCTAAGATGCAATACGGTGAATGGGTATGTGAACCGGAGCTTCCCGGGGCTG
 ATCGGGTGGCATCGCAAGTCTGTTTACTGGCACGTCAATGGAATGGGGACAACGCCAGAGGTACAT
 AGTATATTTCTTGAAGGCCACAGCTTCTCGTACGGAAACCCAGAGGCTTCCCTGGAGATAAGC
 CCCATTACCTTTCTGACCGCTCAGACTCTGCTGATGGACCTTGGCCAGTTTCTCCTGTTCTGCCAT
 ATTAGCAGCCACAGCACGCGGTATGGAAGCATACGTGAAAGTCGATAGCTGTCTTGGAGAGCT
 CAGCTCAGAATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAAGACTATGACGATGACCTTACAGATTCCGAGATG
 GACGTGGTGCGCTTTGACGACGATAACAGTCTTAGTTTCATTCAAATCAGATCCGTAGCCAAAAAG
 CATCAAAGACATGGGTGCATTACATTGCAGCCGAAGAGGAGGATTGGGATTATGCGCCCTTGT
 CTGGCTCCAGATGACAGGAGCTATAAGTCCAGTACTTGAACAACGGGCCACAGCGAATCGGTAGA
 AAAATATAAGAGGTAAGATTATGGCCTACACTGACGAAACATTTAAAACCAAGGGAAGCTATCCAA
 CACGAATCTGGAATTTCTCGGCCCTCTGCTCTACGGTGAGGTGGGGGACACCTTGTGATCATTTTC
 AAAATCAGGCATCCAGGCCTTACAACATATACCCCATGGCATCACCGATGTCGCCCGCTGTAT
 TCCAGAAGACTCCCCAAGGGAGTGAAACATCTGAAAGATTTTCCATCCTGCCGGGCGAGATCTTT
 AAATACAAATGGACTGTGACTGTAGAGGACGGGCTACAAAATCAGACCCACGGTGCTGACAAAGG
 TATTACAGTAGCTTCGTCAACATGGAACGCGACCTCGCCAGCGGACTCATTTGGCCACTGTTGATC
 TGTACAAAGAGTCAAGTGGATCAGAGGGGAAATCAGATCATGAGCGATAAGAGAAACCTTTATCCTG
 TTTAGTGTCTTCGACGGAACCGGTCTTGGTACCTTACTGAGAACATCCAGAGGTCTCTGCCGAAT
 CCGGCTGGCGTTGAGTCGAGGACCCAGAGTTCCAGGCCAGTAATATAATGCACTCAATCAACGGT
 TATGTGTTGATAGCCTGACGCTGAGCGCTGCTCCACAGGTAGCTTATGGTACATATTGTCC
 ATCGGGGCTCAGACCGATTTTCTGTCCGTGTTCTTTAGCGGGTATACCTTTAAACATAAAATGGTC
 TATGAAGACACCTGACCTGTTCCCATTTCCGGTGAGACTGTGTTCCATGCTCATGGAGAACCCCA
 GGGCTGTGGATCTGGGGTGTACAATAGTGACTTTAGGAATCGGGGAATGACGGCACTGCTGAAG
 GTGAGTTCTTGGGATAAAAATACAGGAGATTACTATGAGGATAGTTACGAGGATATCAGTGCCTAT
 CTGCTTTCAAAAACAACGCAATTGAGCCCCGCTTCTCTACAAAACCCCGGTGCTGAAGCGC
 CACCAGCGCAAAATACCCGGACAACCTTGACGTCCGACCGAGGGAATCGATTATGACGATACT
 ATCAGTGTAGAAATGAAAAGGAGGATTTTGATATTACGACGAGACGAGAACCAGTCTCCGCGA

(Продолжение)

Фиг. 15A

AGTTTTCAGAAGAAAACGCGACACTACTTTATAGCTGCCGTGGAACGACTCTGGGATTATGGCATG
 TCCTCCAGCCCTCATGTCCTTAGGAATCGAGCGCAGAGTGGCTCTGTGCCTCAGTTCAAAAAGGTT
 GTGTTCCAGGAATTCACCGACGGTCAATTACCCAGCCGCTGTACAGAGCGCAACTCAACGAACAC
 CTTGGGCTGCTTGGGCCATATATTGAGCAGAGGTGGAAGATAATATCATGGTAACCTTTAGAAAC
 CAGGCGTCAAGACCCCTATTCCCTTCTACAGTTCTCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAAGACAGCGGA
 GCTGAACCCAGGAAGAACTTTGTGAAACCTAATGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTCAGCAC
 CATATGGCCCCAACTAAAGATGAATTCGATTGCAAGGCCCTGGGCTATTTCAGCGACGTGGATCTC
 GAAAAGGATGTGCACAGCGGGTTGATCGGACCGCTTTTGGTGTGCCACACAAATACCCTCAATCCT
 GCCCACGGGCGGCAGGTCAAGTTCAAGAGTTGCACCTCTTCTTACAATATTTGACGAGACAAAG
 TCATGGTATTTTACAGAGAATATGGAGAGAAATTTGTCGCGCACCTTGCAACATTGAGTGGAGGAC
 CCCACATTTAAGGAGAATTACAGATTTTCATGCTATCAATGGGTACATTATGGTACTCTGCTGGT
 CTGGTCATGGCCAGGATCAGCGCATTAAGGTGGTACTTGCTGAGCATGGGATCTAATGAGAAATATA
 CACAGCATTCACCTTCAGTGGCCACGTTTTTACTGTTAGAAAGAAGGAGGAGTACAAAATGGCGCTC
 TACAACCTTTACCCGGGTGTGTTGAGACAGTGGAGATGCTGCCAAGCAAGGAGGACCTGGAGG
 GTTGAGTGTCTTATTGGGGAGCATCTGCATGCTGGAATGTCCACCCTCTTCTTGTGTACGCAAT
 AAGTGGCAGACACCGCTTGGCATGGCCAGCGGCCACATTAGGGACTTTCAGATAACTGCCAGTGGGA
 CAGTACGGCCAGTGGGCTCCCAAGCTTGCAAGACTCCACTACTCCGGAAGCATAAACCGATGGAGC
 ACCAAGGAACCTTCTCTTGGATTAAAGTGGACCTGCTGGCGCCAAATGATCATTACCGCATAAAA
 ACCCAAGGGGCACGACAGAAATTTTCATCTTTGTATATTAGTCAGTTTATCATCATGTACAGCTTG
 GATGGAAGAAGTGGCAGACGTACAGGGGCATTTACAGGAACACTTATGGTGTCTTTTGGGAAT
 GTCGATTCCAGCGGGATCAACATAACATCTTCAATCCTCCTATTATCGCCGATATATCCGCGCTG
 CACCCCTACGCATTACTTCCATCAGGTCCACATTGAGAATGGAACGTAGTGGGGTGCACCTGAATAGT
 TGTAGTATGCCACTGGGCATGGAGTCTAAAGCCATCAGCGATGCACAGATCACTGCCAGCTCTTAC
 TCCACCAACATGTTTCAACTTGGTCCCCCTCTAAAGCTCGCTGCATCTGCAGGGACGCTCAAAAT
 GCTTGGCGACCAAGGTGAACAATCCAAAAGAGTGGCTCCAGGTGCACTTTCAGAAAGACAATGAAG
 GTAACAGGAGTGACAACCCAGGGTGTAAAAGCCCTCCTTACGAGTATGTACGTTAAGGAGTTCTG
 ATTTCTAGCTCCAGGACGGACACAGTGGACTCTGTCTTCCAGAACGGCAAGTGAAGGTATTT
 CAGGAAACCAAGGATTCTTTTACCCCGGTAGTGAATAGCCTGGATCCACCGTGTGACCCCGCTAT
 CTGAGAATTTCATCCAAATCCTGGGTGCATCAGATTGCCCTCCGGATGGAAGTGTCTGGCTGTGAA
 GCTCAGGATCTGTATTAG (SEQ ID NO:16)

Фиг. 15В

CS40-FL-NA

ATGCAAAATAGAGCTCTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTTTTGCATTCTGCTTTAGTGCCACCAGA
 AGATACTACCTGGGTGCAGTGGAACTGTATGGGACTATATGCAAAAGTATCTCGGTGAGCTGCCT
 GTGGACGCAAGATTTCCTCCTAGAGTGCACAAATCTTTTCCATTCAACACCTCAGTCGTGTACAAA
 AAGACTCTGTTTGTAGAAATTCACGGATCACCTTTTCAACATCGCTAAGCCAGGCCACCCCTGGATG
 GGTCTGCTAGGTCTACCATCCAGGCTGAGGTTTATGATACAGTGGTCATTACACTTAAGAACATG
 GCTTCCCATCCTGTCAGTCTTCATGCTGTTGGTGTATCCTACTGGAAGCTTCTGAGGGAGCTGAA
 TATGATGATCAGACCAAGTCAAAGGGAGAAAGAGATGATAAAGTCTTCCCTGGTGAAGCCATACA
 TATGCTTGGCAGGTCTTGAAGAGAAATGGTCCAATGGCCTCTGACCCACTGTGCTTACCTTACTCA
 TATCTTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAGGCCCTCATTGGAGCCCTACTAGTATGT
 AGAGAAGGGAGTCTGGCCAGGAAAGACACAGACCTTGACACAAATTTATACTACTTTTGTGCTGTA
 TTTGATGAAGGGAAAAGTTGGCACTCAGAAACAAGAACTCCTTGATGCAGGATAGGGATGCTGCA
 TCTGCTCGGGCTGGCCTAAAATGCACACAGTCAATGGTTATGTAAACAGGTCTCTGCCAGGTCTG
 ATTGGATGCCACAGGAAATCAGTCTATTGGCATGTGATTGGAATGGGCACCACTCTGAAAGTGCAC
 TCAATATTCTCGAAGGTACACATTCTTGTGAGGAACCATCGCCAGGCGTCTTGGAAATCTCG
 CCAATAACTTTTCTTACTGCTCAAAACACTCTTGATGGACCTTGGACAGTTTCTACTGTTTGTGCTAT
 ATCTCTTCCCACCAACATGATGGCATGGAAGCTTATGTCAAAGTAGACAGCTGTCCAGAGGAACCC
 CAACCTACGAATGAAAAATAATGAAGAAGCGGAAGACTATGATGATGATCTTACTGATTCTGAAATG
 GATGTGGTCAGGTTTGTATGATGACAACTCTCCTTCCTTTATCCAAATTGCTCAGTTGCCAAGAAAG
 CATCTAAAACCTTGGGTACATTACATTGCTGCTGAAGAGGAGGACTGGGACTATGCTCCCTTAGTC
 CTCGCCCCCGATGACAGAAGTTATAAAAGTCAATATTTGAACAATGGCCCTCAGCGGATTGGTAGG
 AAGTACAAAAAAGTCCGATTATGGCATACACAGATGAAACCTTTAAGACTCGTGAAGCTATTTCAG
 CATGAATCAGGAATCTTGGGACCTTTACTTTATGGGGAAGTTGGAGACACACTGTTGATTATATTT
 AAGAATCAAGCAAGCAGACCATATAACATCTACCCCTCAGGGAATCACTGATGTCCGTCCTTTGTAT
 TCAAGGAGATTACCAAAAGGTGAAAACATTTGAAGGATTTTCCAATTTGCCAGGAGAAATATTC
 AAATATAAATGGACAGTCACTGTAGAAGATGGGCCAACTAAATCAGATCCTCGGTGCTGACCCGCT
 TATTACTCTAGTTTCGTTAATATGGAGAGAGATCTAGCTTCAGGACTCATTGGCCCTCTCCTCATC
 TGCTACAAAGAACTGTAGATCAAAGAGGAACCAAGATAATGTACAGACAAAGGAATGTCTATCCTG
 TTTTCTGTATTTGATGAGAACCGAAGCTGGTACCTCACAGAGAATATACAACGCTTTCTCCCAAT
 CCAGCTGAGGTGCAGCTTGAGGATCCAGAGTTCCAAGCTCCAACATCATGCACAGCATCAATGGC
 TATGTTTTTGATAGTTTGCAGTTGTCAGTTTGTGTCATGAGGTGGCATACTGGTACATTCTAAGC
 ATTGGAGCACAGACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTGATATACCTTCAAAACAAAAATGGTC
 TATGAAGACACACTCACCTTATCCATTCTCAGGAGAACTGTCTCATGTGATGGAAAACCCA
 GGTCTATGGATTCTGGGGTGCACAACTCAGACTTTTGGAAACAGAGGATGACCGCTTACTGAAG
 GTTTCTAGTTGTGACAAAGAACTGGTGATTATTACGAGGACAGTTATGAAGATATTTACGATAC
 TTGCTGAGTAAAAAATGCCATTGAACCAAGAAGCTTCTCCAGAATCCACAGTCTTGAACCGC
 CATCAACGGGAAATAACTCGTACTACTCTTTCAGTCAGATCAAGAGGAATTTGACTATGATGATAC
 ATATCAGTTGAAATGAAGAAGGAAGATTTTGACATTTATGATGAGGATGAAAATCAGAGCCCGCG
 AGCTTTCAAAAGAAAACACGACACTATTTTATGCTGCAGTGGAGAGGCTCTGGGATTATGGGATG

(Продолжение)

Фиг. 16А

AGTAGCTCCCCACATGTTCTAAGAAACAGGGCTCAGAGTGGCAGTGTCCCTCAGTTCAAGAAAGTT
 GTTTTCCAGGAATTTACTGATGGCTCCTTTACTCAGCCCTTATACCGTGGAGAACTAAATGAACAT
 TTGGGACTCCTGGGGCCATATATAAGAGCAGAAGTTGAAGATAATATCATGGTAACCTTCAGAAAT
 CAGGCCTCTCGTCCCTATTCTTCTATTCTAGCCTTATTCTTATGAGGAAGATCAGAGGCCAAGGA
 GCAGAACCTAGAAAAAATTTGTCAAGCCTAATGAAACCAAACTTACTTTTGGAAAGTGCAACAT
 CATATGGCACCCCACTAAAGATGAGTTTGACTGCAAAGCCTGGGCTTATTCTCTGATGTTGACCTG
 GAAAAAGATGTGCACTCAGGCCTGATPGACCCCTTCTGGTCTGCCACACTAACACACTGAACCCCT
 GCTCATGGGAGACAAGTGACAGTACAGGAATTGCTCTGTTTTTCCCATCTTTGATGAGACCAAA
 AGCTGGTACTTCACTGAAAAATATGGAAGAACTGCAGGGCTCCCTGCAATATCCAGATGGAAGAT
 CCCACTTTTAAAGAGAATTATCGCTTCCATGCAATCAATGGCTACATAATGGATACACTACCTGGC
 TTAGTAATGGCTCAGGATCAAAGGATTCGATGGTATCTGCTCAGCATGGGCAGCAATGAAAACATC
 CATTCATATCATTTTCAGTGGACATGTGTTCAGTGTACGAAAAAAGAGGAGTATAAAATGGCACTG
 TACAATCTCTATCCAGGTGTTTTTGAGACAGTGGAAATGTTACCATCCAAAGCTGGAATTTGGCGG
 GTGGAATGCCTTATTGGCGAGCATCTACATGCTGGGATGAGCACACTTTTTCTGGTGTACAGCAAT
 AAGTGTCAAGCTCCCTGGGAATGGCTTCTGGACACATTAGAGATTTTCAGATTACAGCTTCAGGA
 CAATATGGACAGTGGGCCCAAAGCTGGCCAGACTTCATTATCCGGATCAATCAATGCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCCTTTCTTGGATCAAGGTGGATCTGTTGGCACCATGATTATTACCGGCATCAAG
 ACCCAGGGTGGCCGTGAGAAGTTCTCCAGCCTCTACATCTCTCAGTTTATCATCATGTATAGTCTT
 GATGGGAAGAAGTGGCAGACTTATCGAGGAAATTCACCTGGAACCTTAATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGATTTCATCTGGGATAAAACACAATATTTTAAACCTCCAATTATTGCTCGATACATCCGTTTG
 CACCCAACCTCATTAGCATTCGCAGCACTCTTCGCATGGAGTTGATGGGCTGTGATTAAATAGT
 TGCAGCATGCCATTGGGAATGGAGAGTAAAGCAATATCAGATGCACAGATTACTGCTTCATCCTAC
 TTTACCAATATGTTTGGCACTGGTCTCTCTCAAAGCTCGACTTCACCTCCAAGGGAGGAGTAAAT
 GCCTGGAGACCTCAGGTGAATAATCCAAAGAGTGGCTGCAAGTGGACTTCAGAAGACAATGA
 GTACAGGAGTAACTACTCAGGGAGTAAATCTCTGCTTACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTCTCT
 ATCTCCAGCAGTCAAGATGGCCATCAGTGGACTCTCTTTTTTCAGATGGCAAAGTAAAGGTTTTT
 CAGGGAAATCAAGACTCCTTCACACCTGTGGTGAACCTCTAGACCCACCTTACTGACTCGCTAC
 CTTCGAATTCACCCCAAGAGTTGGGTGCACCAAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTCTGGGCTGCGAG
 GCACAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO:17)

Фиг. 16В

CH25-FL-NA

ATGCAGATCGAGCTGTCCACATGCTTTTTTCTGTGCCTGCTGCGGTTCTGCTTCAGCGCCACCCGG
 CGGTACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGTCTGGGACTACATGCAGAGCGACCTGGGCGAGCTGCC
 GTGGACGCGCGGTTCCCCCCCAGAGTGCCTAAGAGCTTCCCTTCAACACAGCGTGGTGTACAAG
 AAAACCTGTTCGTGGAGTTTCAACCGACACCTGTTCAACATCGCCAAGCCAGGGCCCCCTGGATG
 GGCTGTGGGCCCCCACCATCCAGGCGGAGGTGTACGACACCGTGGTGATCACCTGAAGAACAATG
 GCCAGCCACCCCGTGAGCTGACGCGCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGGCTCCGAGGGCGCCGAG
 TACGACGACGACGACGACGCGGGGAGAAGAGGACGACAAAGTCTTTCTGGCGGCGACGACAC
 TACGTGTGGCAGTCTCTGAAGAGAAAACGGCCCATGGCTCCGACCCCTGTGGCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACAGCGGGCTGATTGGGGCCCTGCTGTCTGC
 CGGGAGGCGAGCTGGCCAAAGAGAAAAACCCAGACCTGCACAAAGTTCATCTGCTGTTCGCGCTG
 TTGACGAGGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAAGCTGATGCAGGACCGGGACGCGCG
 TCTGCCAGAGCTTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGAAAGCTTGGCCGGCTG
 ATTGGCTGCCACCGGAAGAGCGGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCAACCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTTCTGGAAGGGCACACCTTTCTGGTGGGAACCAACCGGCGAGGCTGGAATTCAGC
 CCTATCACCTTCTGACCGCCAGACACTGTGTGAGCTTGGGCCAGTCTCTGCTGTTTTGCCAC
 ATCAGCTTCACCAAGCAGACGGCATGGAAAGCTTACGTGAAGTGGACTCCTGCCCGAGGAACCC
 CAGCTGGCGATGAAGAACAACGAGGAAGCCGAGGACTACGACGACGACCTGACCGACAGCGAGATG
 GACGTGGTGGGTTTGACGACGACAAACAGCCACGCTTCATCCAGATCAGAAGCGTGGCCAAAGAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCGCGCGAGGAAGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGAAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAATGGCCCCCAGCGGATCGGCCGG
 AAGTACAAGAAAGTGGGTTTCATGGCTTACACCGACGAGACCTTCAAGACCCGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGAGCGGATCTTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAAGTGGGCGACACACTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCGCGCCCTACAACATCTACCCCGACGGCATCACCGAGCTGCGGCCCTGTAC
 AGCAGGCGGCTGCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCATCTCTGCCCGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCGTGACCGTGGAGGACGGCCCCACCAAGAGCGACCCAGATGCTGACCGCG
 TACTACAGCAGCTTCTGAACATGGAACGGGACCTGGCTCCGGCTGATCGGACCTCTGCTGATC
 TGCTACAAAGAAAGOGTGGACCAGCGGGGCAACCAGATCATGAGCGACAAGCGGAACGTGATCCTG
 TTCAGCGTGTTCGATGAGAACCGGTCCTGGTATCTGACCGAGAAATCCAGCGGTTTCTGCCCCAAC
 CCTGCGGGGTGCAGCTGGAAAGATCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACCTCCATCAATGGC
 TACGTGTTGACAGCCTGCAGCTGTCCGTGTCTGACAGAGGTGGCTACTGGTACATCTTGAGC
 ATCGGCGCCGACGACGACTTCTTGAGCGTGTCTTCAGCGGCTACACCTTCAAGCACAGATGGTG
 TACGAGGACACCTGACCTGTTCCTTTTACGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAAAAACCC
 GGCCTGTGGATCCTGGCTGCCACAACAGCGACTTCCGGAACCGGGCATGACCGCCCTGTGTAAG
 GTGTCCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGATATCAGCGCTTAC
 CTGCTGTCCAAGAACACGCCATCGAGCCAGAAGCTTCAGCCAGAACCCCTGTGCTGAAGCGG
 CACCAGAGAGAGATCACCGGACCACTTGCAGTCCGACCAAGAGATCGATTACGACGACACC

(Продолжение)

Фиг. 17А

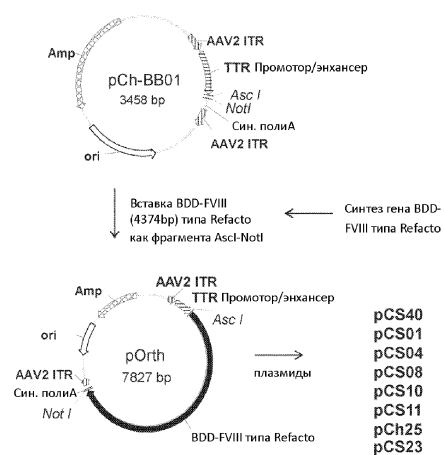
ATCAGCGTGGAGATGAAAAAGAAGATTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCGG
 TCCTTCCAGAGAAAAACCGGCACTACTTTATCGCCGCCGTGGAGCGGCTGTGGGACTACGGCATG
 AGCAGCAGCCCCACGTGCTGCGGAACCGGGCCAGAGCGGACAGGTGCCCCAGTTCAGAGAAAGTG
 GTGTTCAGGAATTACCCGACGGCAGCTTACCCAGCCCCGTGACCGGGGCGAGCTGAACGAGCAC
 CTGGGGCTGTGGGGCCCTACATCAGGGCCGAAGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGGAAT
 CAGGCCAGCAGACCTTACTCCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGAGGACCCAGCGGCAGGGC
 GCTGAACCCCGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAATGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGTGCAGCAC
 CACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCTACTTTCAGCGAGCTGGATCTG
 GAAAAGGACGTGCACTCTGGACTGATTGGCCCTCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCTTGAACCCC
 GCCCAGCGCCGGCAGGTGACCGTGCAGGAATTGCGCCCTGTTCTTCAACCATCTTCGACGAGACCAAG
 TCCTGGTACTTCAACGAGAATATGGAACGGAAGTGCAGAGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
 CCTACCTTCAAAGAGAACTACCGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCTTGGCTGGC
 CTGGTGTATGGCCAGGACAGAGGATCCGGTGGTATCTGCTGTCCATGGGCGACAACGAGAATATC
 CACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTTACCGCTGAGGAAGAAAGAGATACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCGGCATCTGGCGG
 GTGGAGTGTCTGATCGGCGAGCACCTGCATGCCGGGATGAGCACCTGTTCCTGGTGTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCCGGGACTTCCAGATCACCGCTCCGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCCGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGGCTTGGCTC
 ACCAAGAGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGTGGCCCCCTATGATCATCCACGGCATTAA
 ACCCAGGGCGCCAGGAGAACTTCAGCAGCCTGTACATCAGCAGTTCATCATCATGTACAGCCCTG
 GACGGCAAGAGTGGCAGACCTTACCGGGCAACAGCACCGGCACCTGTATGGTGTTCCTGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCCGGTACATCCGGCTG
 CACCCACCCACTACAGCATCAGATCCACCTTGCAGGTGGAAGTGTATGGGCTGCGACCTGAACTCC
 TGCAGCATGCTCTGGGCATGGAAAGCAAGGCCATCAGCGACGCCAGATCAAGCCAGCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTGCCACCTTGGTCCCCCTCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCCGGTCCAAC
 GCCTGGCGGCTCAGGTGAACAAACCCCAAGAAATGGCTGCAGGTGGACTTTCAGAAAACCATGAAG
 GTGACCGCGCTGACCAACCCAGGGCGGTGAAAAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGAGATTCTG
 ATCAGCAGCAGCCAGGACCGCCACCAAGTGGACCTGTTCCTTCAAGCGCAAGGTGAAAGTGTTC
 CAGGGCAACAGGACTCCTTCAACCCCGTGGTGAAGTCCCTGGACCCCCCTGCTGACCCGCTAC
 CTGCGGATCCACCCCAAGTCTTGGGTGCACAGATCGCCCTGAGGATGGAAGTGTGCGGATGTGAG
 GCCCAGGATCTGTACTGA (SEQ ID NO:18)

Фиг. 17В

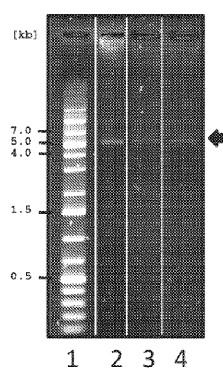
FVIII-FL-AA

mgielsteff lcllrfcfsa trryylgave lswdymqsd l gelpvdarfp prvpksfph
 tsvvvykktlf veftdhlfnl akprppwmg l lgtitqae v dtvvtlknm ashpvsihav
 gvsywkaseg aeyddqtsqr ekeddkvfpg gshtyvwqvl kengpmasdp lcltysylsh
 vdlvkdnsg ligallvcre gslakektqt lkhfillfav fdegkshwse tknslmqdrd
 aasaraupkm htvngyvnr lpgligchrk svywhvimg ttpvshsifl eghtflvrnh
 rqsaleispi tfltaqtllm dlqqlflfch isshqhdgme ayvkvdscpe epqlrmkne
 eaedyddlt dsemdvvrfd ddnspsfqi rsvakkhpk wvhyaeeee dwdyaplula
 pddrsyksqy lnnpgprigr kykkrvfmay tdtftkrea iqhesgilpg llygevgdtl
 liifknqasr pynliypghit dvrplysrll pkgvkhkdf pilpgeifky kwtvtvedgp
 tksdprcltr yyssfvnmr dlasgligpl licykesvdq rgnqimsdkr nvilfsvfde
 nrswylteni qrfilpnagv gledpefqas nimhsingyv fdlqlsvcl hevaywyls
 iqagtdflsv ffsqytfkhk mvyedtltlf pfsgetvfms menpglwilg chnsdfrnrq
 mtallkvssc dkntgdyed syedisayll sknaieprs fsqnsrhpst rqqkfnatti
 pendiektdp wfahrtmpmk ignvssdl mlrqsptph glslsdlqea kyetfsddps
 pgaidssnsl semthfrpql hhsqdmvftp esglqlrlne klgttaatl kklfdkvsst
 snnlistips dnlaagtdnt sslgppsmvp hydsgldtll fgkksplte sggplslsee
 nndskilles lmsqesswg knvssstesgr lfkgrahgp alltkdnalf kvslslktn
 ktsnnsatnr kthidgpsi ienspsvwgn ilesdtefk vtplihdrml mdknatairl
 nhmsnktts knmemvqqk egpippdaqn pdmsffkmlf lpesarwiqr thgknslnsg
 qgpspkqlvs lgpeksvegg nlfseknkv vkgfeftkdv glkemvfps rnlfltnldn
 lhenntnqe kkiqeeiekk etligenvvl pgihtvtgk nfmknlflls trqnvegsyd
 gayapvlqdf rslndstnr kktahfshk geeenleglg nqtqkiveky acttrisnt
 sqqnfvtqrs kralqkfrlp leetelekri ivddtstqws knmkhltpst ltqidyneke
 kgaitqspis dcltrshsip qanrsplpia kvssfpsi rpylrvlfqd nshlpaasy
 rkddsgvqes shflqgakk nlsaliltle mtgdqrevgs lqtsatnsvt ykkventvlp
 kpdlpktsqg vellpkvhiy qkdlftets ngspghldlv egslilqgteg aikwnearp
 qkvpflrvat essaktpski ldplawdny gtqipkeewk sqekspekta fkkkdtlsl
 nacesnhaia ainegnkpe ievtwakqr terlcsqnp vlkrhqreit rttlqsdgee
 idyddtisve mkkedfdiy edengsprsf qkkrhyfia averlwdygm sssphvlrnr
 aqsgsvpqfk kvvfgeftdg sftqplyrge lnehlgilpg yiraevadni mvtfrnqasr
 pysfysslis yeedqrggae prknfvkpne tktyfwkvqh hmaptkdefd ckawayfsdv
 dlekdvhsgl igpvlvchn tlnpahgrqv tvqefalfft ifdetkswyf tenmerncra
 pcniqmedpt fkenyrfhai ngyimdtlpg lvmaqdqrir wyllsmgsne nihsihfsg
 vftvrkkeey kmalynlypg vftvmlps kagiwrvecl igeihlagms tflfvsynkc
 qtplgmasgh irdfqitasg qyggwapkla rihysgsina wstkepfswi kvdlapmii
 hgiktqgarq kfsslyisqf iimysldgkk wqtyrgnstg tlmvffgnvd ssyikhnifn
 ppiaryirl hqthysirst lrmelmcdl nscsmplgme skaisdaqit assyftnmfa
 twspskarlh lqgrsawrp qvnpkewlq vdfqtkmkvt gvttgqvksl ltsmyvkefl
 isssqdghw tlfqngkvk vfggnqdsft pvvnslppl ltrylrihpq swvqhialrm
 evlgceaqdl y (SEQ ID NO:19)

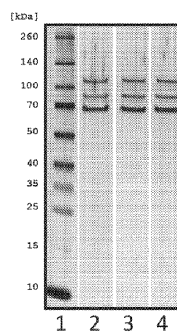
Фиг. 18



Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21

CS23-FL-NA

atgcagattgagctgagcacctgtcttctctgtgctgctgaggttctgtctctctgcccaccagg
 agatactacctgggcccgtggagctgagctgggactacatgcagttcagcctggcgagctgcct
 gtggacgcaggttccccccagagtgcccaagagcttcccttcaacacctcagtggtgtacaag
 aagacctgttctgtggagttcacgcacacctgttcaacatcgccaagcccaggccccctggatg
 ggctgtgctgggccccacatccagggcaggtgtacgacacctgggtgatcacctgaagaacatg
 gccagccccccgtgagcctgcacgccgtggcggtgagctactggaaggcctctgagggcgccgag
 tatgacgaccagaccagccaggggagaaggaggacgacaaggtgttccccggcgcgagccacac
 tacgtgtggcaggtgctgaaggagaaacggccccatggccagcgacccccctgtgctgacctacagc
 tacctgagccacgtggacctggtgaaggacctgaactctggcctgatcgggcgcctgtctggtgtgc
 agggagggcgacctggccaaggagaagaccagacctgcacaagtctcatcctgctgttcgcctgt
 ttcgatgagggaagagctggcacagcgagaccaagaacagcctgatgcaggacagggatgcgcgc
 tctgccagggcctggccccagatgcacacctggaacggctacgtgaacaggagcctgccccgcctg
 atcggtgtgccacaggaagtctgtgtactggcaogtgatcggtatgggcacccccccaggggtgcac
 agcatcttctgtggggccacaccttctgtgtgaggaaccaagggcagggcagcctggagatcagc
 cccatcaccttctgacggccagacctgctgtatggacctgggcccagttctctgttctgtgccac
 atcagcagccaccagcacgacggcatggaggcctacgtgaaggtggacagctgccccgaggagccc
 cagctgaggatgaagaacaacgaggaggccgaggactatgatgatgacctgaccgactctgagatg
 gacgtggtgaggtttgatgatgacaaacagccccagcttcatccagatcaggtctgtggccaagaag
 caccccaagacctgggtgcaactacatcgccgcgaggaggagagctgggactacgccccctgtgt
 ctggccccgcagcagagagctacaagagccagtaacctgaacaacggcccccaagagatcggcagg
 aagtacaagaaggtcagattcatggcctacacgcagcagacctcaagaccaggaggggcatccag
 cacgagctgtgcatctctgggccccctgtgtacggcgaggtggggcgacacctgctgatcatcttc
 aagaaccagggccagcagggcctacaacatctacccccacggcatcaccgatgtgaggccccctgac
 agcaggaggctgccccaaaggcggtgaagcacctgaaggacttccccatctctgcccggcgagatcttc
 aagtacaagtggaacctgacccgtggaggatggccccaccaagttctgaccccaggtgctgacagg
 tactacagcagcttctgtgaacatggagaggagacctggcctctggcctgatcgccccctgtctgatc
 tgcatacaaggagagcgtggaccagaggggcaacagatcatgtctgacaaaggaaacgtgatcctg
 ttctctgtgttcgatgagaacaggagctggtatctgaccggagacatccagaggttctctgcccac
 ccgcgcgcgtgcaactgtgaggacccccagttccaggccagcaacatcatgcacagcatcaacggc
 tacgtgttgcagacctgcagctgtctgtgtgctgcacaggtggcctactggtacatctctgagc
 atcggcgcccagaccgacttctgtctgtgttcttctgtgctacacctcaagcaaatagtggtg
 tacgaggaacacctgacctgttcccccttcagcgccgagagacctgttcatgagcatggagaacccc
 ggccctgtggatctctgggtgcccacaacagcgacttcaggaaacaggggcatgacccgcctgtgaaa
 gtcagcagctgcgacaagaacacccggcgactactacgaggacagctacgaggacatcagcgccctac
 ctgctgagcaagaacaacgccatcgagcccaggagcttcagccagaacccccccgtgctgaaggagg
 caccagaggagatcaccaggaccacctgcagagcgaccaggaggagatcgactatgatgacacc

(Продолжение)

Фиг. 22А

atcagcgtggagatgaagaaggaggacttcgacatctacgacgaggacgagaaccagagccccagg
 agcttccagagaagaacaggcactacttcatcgccgcgtggagaggtctgtgggactatggcatg
 agcagcagccccacgtgctgaggaacaggggcccagagcggcagcgtgccccagttcaagaagggtg
 gtgttccaggagttcacccagcgagcttccaccagccccctgtacagaggcgagctgaacagggcac
 ctgggcctgctgggccccctacatcagggccgaggtggaggacaacatcatggtgaccttcaggaaac
 caggccagcaggccccctacagcttctacagcagcctgatcagctacagaggaggaccagaggaggggc
 gccgagccccaggaagaacttctgtgaagcccaacgagaccaagaccttctctggaaggtgcagcac
 cacatggccccccaaggacaggttcgactgcaaggcctgggcctacttctctgatgtggacctg
 gagaaggacgtgcacagcgccctgatcgccccctgctggtgtgccacccaacacctgaaacccc
 gccaccgagcagggtgacctgcaaggagttcgccctgttcttcaacctcttcgacgagaccaag
 agctggtaacttcaccgagaacatggagaggaaactgcaaggccccctgcaacatccagatggaggac
 cccaccttcaaggagaactacaggttccacggccatcaacggctacatcatggacacctgcccggc
 ctggtgatggcccaggaccagaggatcaggtggtatctgctgagcatgggcagcaacgagaacatc
 cacagcatccacttcagcgccacgtgttccacctgaggagaaggaggaggtacaagatggccctg
 tacaacctgtaccggcggtgttcgagacctggagatgctgccagcaaggccggcatctggagg
 gtggagtgcctgatcggcgagcacctgcacgcggcatgagcacctgttctggtgacagcaac
 aagtgccagacccccctgggcatggccagcgccacatcagggaacttccagatcacgcctctgggc
 cagtcaggccagtgggcccccaagctggccaggtgcatcagcgcgagcatcaacgcctggagc
 accaaggagcccttcagctggatcaaggtggacctgctggccccatgatctcaacggcatcaag
 acccagggcgccaggcagaagttcagcagcctgtacatcagccagttcatcatcatgtacagcctg
 gacgcaagaagtgccagacctacaggggcaacagcaccggcactgatggtgttcttcggccaac
 gtggacagcagcgccatcaagcaacaactcttcaaccccccatcatgcccaggtacatcaggtg
 caccocccacctacagcatcaggagcacctcgcgagtggaactgatgggctgcgacctgaacagc
 tgcagcatgcccctgggcatggagagcaaggccatctctgacgcccagatcaacggccagcagctac
 ttaccaacatgttgcacacctggagccccagcaaggccaggtgcacctgcagggcaggagcaac
 gccctggagggccccaggtgaacaacccccaggagtggtgcaggtggacttccagaagaccatgaag
 gtgacggcgctgaccacccagggcggtgaaggacctgctgaccagcatgtacgtgaaggagttctgt
 atcagcagcagcagggacggccacccagtggaacctgttctccagaacggcaagtgaaggtgttc
 cagggcaacccaggaagcttcaacccccgtggtgaacagcctgggacccccctgtgacaggtgat
 ctgaggatccacccccagagctgggtgcaccagatcgccctgagaatggaagtgtgggtgctgag
 gccagggacctgtactga (SEQ ID NO: 20)

Фиг. 22В

CS23-FL-AA

MQIELSTCFCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMOSDLGELPVDAR' FPPRVKPSFPNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAKPRPFWMGLLGPTIQAEVYDVTVVITLKNMASHFVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFFGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVDEGKSWHSETKNLSMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HRKSVYWHVIGMGTTEPVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLMLDLGQFLLFCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNDNSPSTFIQIRSVAKKHPTW
 VHYIAAEEEDWDYAPLV LAPDDR SYKSQYLNNGPQRIGRKYKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGD TLLII FKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLI CYKESVDQQRGNQIMSDKRNVLFSVFDENR
 SWYLTENIQRF LNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLS
 VFFSGYTFKHKMVYEDTTLTFPFSGETVFMSMENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLKVS SCDKNTGD
 YYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNPPLVLRHOREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVQFKKVVFQEBTDGSGTQ
 PLYRGELNEHLGLLPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQQRGAEPKKNFVKPNET
 KTYFWKVQHMAFTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNFAGRQVTVQEFALF
 FTTFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYINDTLPLGLVMAQDQRIIRWYLLS
 MGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLP SKAGIWRVECLIGELHAGMSTL
 FLVYSNKCQTPLGMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAFMI
 IHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSGKIHNI FNPIIAR
 YIRLHPTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCMLPMESKASIDAQITASSYFTNMFWATWSPSKARLHLQG
 RSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGVKV
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRHFPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:21)

Фиг. 23

CS23-HC-NA

gcc
 accaggagat actacctggg cgcctgtggag ctgagctggg actacatgca gtctgacctg
 ggccgagctgc ctgtggacgc cagggttcccc cccagagtgc ccaagagctt ccccttcaac
 acctcagtggt tgtacaagaa gacctgttgc gtggagttca cccaccacct gtccaacatc
 gccaaagccca gggccccctg gatgggacct ctggggccca ccatccaggc cgaggtgtac
 gacaccctgg tgatcacctt gaagaacatg gccagccacc ccgtgagcct gcaagccctg
 ggcgtgagct actggaaggc ctctgagggc gccgagtatg acgaccagac cagccagagg
 gagaaggagg acgacaaggt gttccccggc gccagccaca cctacgtgtg gcaggtgtctg
 aaggagaacg gccccatggc cagcgacccc ctgtgcctga cctacagcta cctgagccac
 gtggacctgg tgaaggacct gaactctggc ctgacggcgc cctgtctggt gtgcaggag
 ggccagcctgg ccaaggagaa gaccagagac ctgcacaaat tcactctgct gttcgcctgt
 ttogatgagg gcaagagctg gcacagcgag accaagaaca gcctgatgca ggacagggat
 gccgcctctg ccagggcctg gcccaagatg cacaccgtga acggctacgt gcacaggagc
 ctgccccggc tgatcgctg ccacaggaag tctgtgtact ggcacgtgat cggcatgggc
 accacccccg aggtgcacag catcttctct gaggggccca ccttctctgt gaggaaaccac
 aggcaggcca gcctggagat cagccccatc accttctga cggccagac cctgtctgat
 gacctgggcc agttctctgt gttctgccac atcagcagcc accagcacga cggcatggag
 gcctacgtga aggtggacag ctgccccgag gacccccagc tgaggatgaa gaacaacgag
 gaggccgagg actatgatga tgacctgacc gactctgaga tggacgtggt gaggtttgat
 gatgacaaca gccccagctt catccagatc aggtctgtgg ccaagaagca cccaagacc
 tgggtgcaat acatcgccgc cgaggaggag gactgggact acgccccctt ggtgctggcc
 cccgacgaca ggagctacaa gagccagtac ctgaacaacg gccccagag gatcggcagg
 aagtacaaga aggtcagatt catggcctac accgacgaga ccttcaagac caggaggagg
 atccagcagc agtctggcat cctgggcccc ctgctgtacg gcgaggtggg gcacaccctg
 ctgatcatct tcaagaacca ggcacgagc cctacaaca tctaccccca cggcatcacc
 gatgtgaggc cctgtacag caggaggctg cccaaggggc tgaagcacct gaaggacttc
 cccatcctgc cggcgagat ctccaagtac aagtgaccg tgacctgga ggtggcccc
 accaagtctg accccagggt cctgaccagg tactacagca gcttctgtga catggagagg
 gacctggcct ctggcctgat cggccccctg ctgatctgct acaaggagag cgtggaccag
 aggggcaacc agatcatgtc tgacaagagg aacgtgatcc tgttctctgt gttcgtatgag
 aacaggagct ggtatctgac cgagaacatc cagaggttcc tgcccaaccc cgccggcgtg
 cagctggagg accccaggtt ccaggccagc aacatcatgc acagcatcaa cggctacgtg
 ttccagagcc tgacagctgc tgtgtgcctg cacgaggtgg cctactgtga catcctgagc
 atcggcgccc agaccgactt cctgtctgtg ttcttctctg gctacacctt caagcacaag
 atggtgtacg aggacaccct gacctgttc ccttcacagc gcgagaccgt gttcatgagc
 atggagaacc cggccctgtg gatccctggc tgccacaaca gcgacttcag gaacaggggc
 atgaccgccc tgctgaaagt cagcagctgc gacaagaaca cggcgacta ctacaggagc
 agctacgagg acatcagcgc ctacctgtg agcaagaaca acgcatcga gccagg
 (SEQ ID NO:22)

Фиг. 24

CS23-LC-NA

```

g agatcaccag gaccacctg
cagagcgacc aggaggagat cgactatgat gacaccatca gcgtggagat gaagaaggag
gacttcgaca tctacgacga ggacgagaac cagagcccca ggagcttcca gaagaagacc
aggcactact tcatcgccgc cgtggagagg ctgtgggact atggcatgag cagcagcccc
cacgtgctga ggaacagggc ccagagcggc agcgtgcccc agttcaagaa ggtggtgttc
caggagtcca ccgacggcag cttcaccag cccctgtaca gaggcgagct gaacgagcac
ctgggacctgc tgggccccta catcagggcc gaggtggagg acaacatcat ggtgaccttc
aggaaccagg ccagcaggcc ctacagcttc tacagcagcc tgatcagcta cgaggaggac
cagaggcagg gcgccgagcc caggaagaac ttcgtgaagc ccaacgagac caagacctac
ttctggaagg tgcagcacca catggccccc accaaggacg agttcgactg caaggccttg
gectacttct ctgatgtgga cctggagaag gacgtgcaca gcggcctgat cggccccctg
ctggtgtgcc acaccaacac cctgaacccc gccacggca gccaggtgac cgtgcaggag
ttcgcctctgt tcttcacat cttcgacgag accaagagct ggtacttccac cgagaacatg
gagaggaact gcaggggccc ctgcaacatc cagatggagg accccacctt caaggagaac
tacaggttcc acgccatcaa cggtacatc atggacaccc tgcccggcct ggtgatggcc
caggaccaga ggtacagggt gtatctgctg agcatgggca gcaacgagaa catccacagc
atccacttca cgggccacgt gttcaccgtg aggaagaagg aggagtacaa gatggccctg
tacaacctgt accccggcgt gttcgagacc gtggagatgc tgcccagcaa ggcgggcctc
tgagggtgtg agtgccctgat cggcgagcac ctgcacggcg gcacgagcac cctgttctctg
gtgtacagca acaagtgcga gacccccctg ggcacggcca cggccacat cagggaacttc
cagatcaccg cctctggcca gtacggccag tggcccccca agctggccag gctgactac
agcggcagca tcaacgcctg gagcaccag gagcccttca gctggatcaa ggtggacctg
ctggccccc cgtatcatcca cggcatcaag acccaggggc ccaggcagaa gttcagcagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggacg gcaagaagtg gcagacctac
aggggcaaca gcacggcac cctgatgtgt ttcttcggca acgtggacag cagcggcctc
aagcacaca tcttcaaccc ccccatcatc gccaggtaca tcaggctgca cccacccac
tacagcatca ggagcacctc gcggatggaa ctgatggctg gcgacotgaa cagctgcagc
atgccccctg gcatggagag caaggccatc tctgacggcc agatcacgc cagcagctac
ttcaccaaca tgttcgccac ctggagcccc agcaaggcca ggctgcacct gcagggcagg
agcaacgcct ggagggccca ggtgaacaac cccaaggagt ggtgcaggt ggacttccag
aagaccatga aggtgaccgg cgtgacccc cagggcgtga agacotgct gaccagcatg
tacgtgaagg agttcctgat cagcagcagc caggacggcc accagtgagc cctgttcttc
cagaacggca aagtgaagggt gttccagggc aaccaggaca gttcacccc cgtggtgac
agcctggacc cccccctgct gaccaggtat ctgaggatcc acccccagag ctgggtgac
cagatcggcc tgaatatgga agtgctggga tgcgagggcc aggacctgta c
(SEQ ID NO:23)

```

Фиг. 25

CS01-HC-NA

```

gcc
accaggagat actacctggg ggctgtggaa ctttcttggg actacatgca gctgacctg
ggagagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaagtcctt cccattcaac
acctctgtgg tctacaagaa gacactcttt gtggaaatca ctgaccacct gttcaacatt
gcaaaaccca gaccacctg gatgggactc ctgggaccca ccatcaggc tgaggtgtat
gacactgtgg tcatcacctt caagaacatg gcacccacc ctgtgtctct gcactgtgtg
ggagtctcat actgaaagc ctctgaaggg gctgagtatg atgacagac atcccagaga
gagaagagg atgacaagggt gttccctggg ggaatcaca cctatgtgtg gcaagtcttc
aaggagaatg gaccatggc atctgaccca ctctgcctga catactccta cctttctcat
gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cactgctggt gtgcagggaa
ggatccctgg ccaaggagaa aaccagaca ctgcacaagt tcaattctct gtttctgtc
tttgatgagg gcaagtcttg gcaacttgaa acaaaagact cctgatgca agacagggt
gtgctctctg ccaggggcatg gcccaagatg cacactgtga atggctatgt gaacagatca
ctgacctggac tcattggctg ccacaggaaa tctgtctact ggcatgtgat tggcatgggg
acaaccccc aagtgcactc cattttcttg gagggacaca ccttctggt caggaaaccac
agacaagcct ctctggagat ctctccatc acccttctca ctgcacagac actgctgatg
gaccttggac agttcctgct gttctgccac atctcttccc accagcatga tggcatggaa
gcctatgtca aggtggactc atgcccctgag gaaccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
gaggctgagg actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt cagatttgat
gatgacaact ctccatcctt cattcagatc aggtctgttg caaagaaaca ccccaagaca
tggtgtgcat acattgctgc tgagggaagag gactgggact atgcaccact ggtcctggcc
cctgatgaca ggagctacaa gtctcagtac ctcaacaatg gccacaaag aattggaaga
aagtacaaga aagttagatt catggccctac actgatgaaa ccttcaagac aagagaaggc
attcagcatg agtctggcat tctgggacca ctctgtatg gggaggtggg agacacctg
ctcatcatct tcaagaacca ggccctccagg cctacaaca tctaccaca tggcatcact
gatgtcaggc cctgtacag caggagactg ccaaaagggg tgaacacct caaggacttc
ccattctgc ctggagagat cttcaagtac aagtggactg tcactgtgga ggatggacca
acaaagtctg accccagggt cctcaccaga tactactcct cttttgtgaa catggagaga
gacctggcat ctggactgat tggaccactg ctcatctgct acaaggagt tgtggaccag
agaggcaacc agatcatgtc tgacaagaga aatgtgattc tgttctctgt ctttgatgag
aacagatcat ggtacctgac tgagaacatt cagagattcc tgcccaaccc tgctgggggt
caactggaa agcctgagtt ccaggcaagc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg
tttgactctc tccagcttcc tgtctgctg catgaggtgg cctactggta cattcttct
attggggcac aaactgactt ctttctgtc ttcttctctg gataacacct caagcacaag
attggtgatg aggacacctt gacactcttc ccattctctg gggaaactgt gttcatgagc
atggagaacc ctggactgtg gattctggga tggcacaact ctgacttcag aaacagggga
atgactgcac tgcataaagt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
tcttatgagg acatctctgc ctacctctgc agcaagaaca atgccattga gccacaga
(SEQ ID NO:24)

```

Фиг. 26

CS01-LC-NA

g agatcaccag gacaaccctc
cagtcctgacc aggaagagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaaggag
gactttgaca tctatgatga ggacgagAAC cagtcctccaa gatcattcca gaagaagaca
agacactact tcattgtctgc tgtggaaaga ctgtgggact atggcatgtc ttcctctccc
catgtcctca ggaacagggc acagtcctggc tctgtggcac agttcaagaa agtggctctc
caggagttca ctgatggctc attcaccag cccctgtaca gagggaact gaatgagcac
ctgggactcc tgggaccata catcagggct gaggtggaag acaacatcat ggtgacattc
agaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tactcttccc tcatacagta tgaggaaagac
cagagacaag gggctgagcc aagaagaac tttgtgaaac ccaatgaaac caagacctac
ttctggaaag tccagaccac catggcacc accaaggatg agtttgactg caaggcctgg
gcatacttct ctgatgtgga cctggagaaa gatgtgact ctggcctgat tggccactc
ctggtctgccc acaccaacac cctgaaccct gcacatggaa ggcaagtgc tgtgcaggag
tttggcctct tcttaccat ctttgatgaa accaagtcac ggtacttcac tgagaacatg
gagagaaact gcagagcacc atgcaacatt cagatggaag accccacctt caaggagaac
tacaggttcc atgccatcaa tggctacatc atggacacc tgcctgggct tgtcatggca
caggaccaga gaatcagatg gtacctgctt tctatgggat ccaatgagaa cattcactcc
atccacttct ctgggcatgt cttcactgtg agaaagaagg aggaatacaa gatggccctg
tacaacctct accctggggt ctttgagact gtggagatgc tggcctccaa agctggcate
tgagggttg aatgcctcat tggggagcac ctgcatgctg gcatgtcaac cctgtctctg
gtctacagca acaagtgccca gacaccctg ggaatggcct ctggccacat cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtatggccag tgggcacca aactggccag gctccactac
tctggctcca tcaatgcatg gtcaaccaag gagcattct ctggatcaa ggtggacctg
ctggcaccac tgatcattca tggcatcaag acacaggggg caagacagaa attctcctct
ctgtacatct cacagttcat catcatgtac tctctggatg gcaagaagtg gcagacatac
agaggcaact ccactggcac cctcatggtc ttctttggca atgtggacag ccttgccatc
aagcacaca tcttcaaccc tcccatcatt gccagatata tcaggctgca cccaccaccac
tactcaatca gtaaacacct caggatggaa ctgatgggat gtgacctgaa ctctcctca
atgcccctgg gaattggag caaggccatt tctgatgcc agatcactgc atctcttacc
ttcacaca gttttggcac ctggtcaca tcaaaagcca ggctgcact ccagggaaga
agcaatgctt ggagacccca ggtcaacaac ccaaaggaat ggctgcaagt ggacttccag
aagacaatga aagtcaactg ggtgacaacc cagggggtca agtctctgct cacttcaatg
tatgtgaagg atttctgat ctcttctca caggatggcc accagtggac actctctctc
cagaatggca aagtcaagggt gttccagggc aaccaggact ctttcacacc tgtggtgaa
tcaactggacc cccccctct gacaagatc ctgagaattc acccccagtc ttgggtccac
cagattggcc tgagaatgga agtctggga tgtgaggcac aagacctgta c
(SEQ ID NO:25)

Фиг. 27

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

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTTCTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGGAGATAC
TACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTACATGCACTCTGACCTGGGAGAGCTGCCTGTGGATGCCAGG
TTCCACCCAGAGTGGCCAAAGTCCCTTCCCATCAAGACCTCTGTGGTCTACAAAGAAAGACACTCTTTGTGGAA
TTCACTGACCACCTGTTCAACATTTGCAAAACCCAGAACCCCTGGATGGGACTCCTGGGACCCACCATTCAG
GCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCTATCACCTCAAGAACATGGCATCCCACTGCTGTCTGTGATGCTGTG
GCATCTCATACTGGAAGCCCTCTGAAAGGGCTGAGTATGATGAACACATCCCAAGAGAGAAACAGGAT
GACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACCTATGTGTGGCAAGTCCCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCT
GACCCACTCTGCTGACATACTCTCACTCTCTCTCATGTGGGACTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGAT
GGGGCACTGCTGGTGTGAGGGGAAGGATCCCTGGCCAAAGGAGAAACCCAGACACTGCACAAAGTTCTATCTC
CTGTTTGTCTCTTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGAT
GCTGCCCTCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCAACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACT
ATTGGCTGCCACAGGAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAAACCCCTGAAGTGCATCTCCATT
TTCTGGAGGGACACACCTTCTCTGGTCAAGAACACAGACAAAGCTCTCTGGAGATCTCTCCCATGACCTTC
CTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGCTGTCTGCCACATCTCTTCCACACGAT
GTGGCATGGAAAGCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACACAGCTCAGGATGAAGAACATGAG
GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGGTGGTCAAGTTTGTGATGACAACTCT
CCATCCCTTCACTGACTGAGGTCTGTGGCAAGAACACCCCAAGACATGGGTGCATCACTTGTCTGTGAG
GAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTCTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAAC
AATGGCCCAAGAAATTTGGAAGAAAGTACAAGAAAGTCAAGTTCAATGGCTTCACTGATGAACCTTCAAG
ACAGAGAAGCCATTTCAGATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCCTGTATGGGAAGTGGGAGACACCTGT
CTCATCTCTTCAAGAACAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTAACCACATGGCATCACTGATGTCAAGGCC
CTGTACAGCAGGAGACTGCCAAAGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCCAAGGTGCTCACCAGATACTAC
TCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGGGACCACTGCTCATCTGCTACAAAGGAG
TCTGTGGACCAAGAGGGCAACAGATCATGTCTGACAAAGAAATGTGATTCTGTCTCTGTCTTTGATGAG
AACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCAACCCCTGCTGGGGTGGCACTGGAGAG
CCTGAGTCCAGGCAAGCACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTGTTTGGTCTCTCCAGCTTTCTGTCT
TGCTGATGAGGTGGCTACTGCTACATCTTTCTATTGGGACACAACTGACTTCTTTCTGTCTCTCTCT
TCTGGATACACCTTCAAGCACAGATGGTGTATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCCATTTCTCTGGGAAACT
GTGTTCTATGAGCATGGAGAACCTGGACTGTGGATTCTGGGATGCCAACCTGACTTCAGAACACAGGGGA
ATGACTGCATGCTCAAAGTCTCTCTCTGTGACAAAGCACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGAC
ATCTCTGCCTACCTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGGCCAGAGAGATCACAGGACAACCTCCAGTCT
GACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGAT
GAGGACGAGAACAGTCTCCAGATCATTCAGAAAGACAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGA
CTGTGGGACTATGGCATGTCTCTCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGGGCAGCTCTGGCTCTGTGCCACAG
TTCAAGAAAGTGGTCTTCCAGGAGTCTCACTGATGGCTATTCAACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACATGAAT
GAGCACTGGGACTCCTGGGAACATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACACATCATGGTGCATTCAGAAAC
CAGGCCCTCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTCTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACAGACAGAGGGGCTGAG
CCAGAAAGAACTTTGTGAACCCCAATGAACCCAGACCTACTCTGTGAAGTCCAGCACCATGACACCTC

(Продолжение)

Фиг. 28А

ACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAAGATGTGCACCTCT
GGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACCCCTGAACCCCTGCACATGGAGGCAAGTGACTGTG
CAGGAGTTTGGCCCTCTTCTTACCATCTTTGATGAAACCAAGTCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGA
AATCTGCAGAGCACCATTGCACATTCAGATGGAGAGCCCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCATGGCCATC
AATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGGCTTTGTCATGGCACAGGACCAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTT
TCTATGGGATCCAAATGAGAACATTCATCCATCCACTTCTCTGGCATGCTCTTCACTGTGAGAAAGAGGAG
GARTACAAGATGGCCCTGTACAACCTCTACCCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCT
GGCATCTGGAGGGTGGAAATGCCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCCTGTTCTCTGGTCTAC
AGCAACAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCAACCAAG
GAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAGACACAGGGGGCA
AGACAGAAATTCCTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTGGATGGCAAGAGTGGCAG
ACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCAC
AACATCTTCAACCCCTCCCATCATTTGCCAGATACATCAGGCTGCACCCCAACCCACTACTCAATCAGATCAACC
CTCAGATGGAACTGATGGGATGTGACCTGAACTCTGCTCAATGCCCTTGGAAATGGAGAGCAAGGCCATT
TCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCTTACTTCACCAACATGTTTGGCCACCTGGTCAACATCAAAAGCCAGG
CTGCACCTCCAGGGAGAGCAATGCCTGGAGACCCAGGTCAACCAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGAC
TTCCAGAGACAATGAAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGATGTG
AAGGAGTTCTTGATCTCTTCTCTCAGAGATGGCCACAGTGGACACTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAG
GTGTTCCAGGGCAACCAAGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTGTCAGCAATAC
CTGAGAATTCACCCCACTCTGGGTCCACAGATGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGAGGCACAA
GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:26)

Фиг. 28В

CS01Δ(772-1667) - CS01-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTCTTTGGGACTACATGCAGTCTGCACCTGGGAGAGCTGCCCT
CTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCCAAGTCTTCCCATTCACACACCTCTGTGGTCTACAAAG
AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTGACCACTGTTCACCATTCGCAAAACCCAGACCACTCTGGATG
GGACTCTTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCTATCACCTCAAGAACATG
GCATCCCACTGTGTCTCTGCATGCTGTGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
TATGATGACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTGATTCTCCTGTTTGTCTGTC
TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAAACCCCTGAAGTGAC
TCCATTTTCTTGGAGGGACACACTTCTCTGGTCAGGAACCAAGACCAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATCACCTTCTCTACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGCTTCTTGCAC
ATCTCTTCCACCAAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAGATTGATGATGACAACCTCTCCATCTTCAATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAACAAGAAATGGAAGA
AAGTACAAGAAAGTCAGATTATGGCTTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAAGCCATTGAG
CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATCTCTGCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTGCTCTCACCAGA
TACTACTCCTCTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAAGAGAGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTGCCCCAAC
CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCTGATGAGGTGGCTACTGGTACATTCTTTCT
ATTGGGGCACAACTGACTTCTTTCTGTCTTCTCTCTGATACACCTTCAAGCACAGATGGTG
TATGAGGACACCTTGACACTCTTCCATCTCTGGGGAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCT
GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACCTGCTCAA
GTCTCTCTCTGTGACAAGAACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCAGAAAGCTTCTCTCAGAAATTCAGACACCCCAAGCACC
AGGGAGATCACCAAGACAACTCCAGTCTGACCAAGAGAGATTGACTATGATGACACCAATTTCT
CTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACAGTCTCCAAGATCATTC

(Продолжение)

Фиг. 29А

CAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATGTCTTCC
TCTCCCATGTCTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAGAAAGTGGTCTTC
CAGGAGTTCAGTATGGCTCATTCACCCAGCCCCGTACAGAGGGGAACGAAATGAGCACCTGGGA
CTCTTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGAAACAGGCC
TCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGGGCTGAG
CCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAGTCCAGCACCATATG
GCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCGTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAA
GATGTGCACCTTGGCCTGATTGGCCCACTTCCTGGTCTGCCACCAACACCCCTGAACCCCTGCACAT
GGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTACCATCTTTGATGAAACCAAGTCATGG
TACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAAGACCCACCC
TTCAAGGAGAATCAGAGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGGCTTGTCT
ATGGCACAGGACCAAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAACATTCACCTC
ATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCCCTGTACAAAC
CTCTACCCCTGGGCTCTTTGAGACTGTGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGGTGGAA
TGCCCTCATTTGGGAGCACCTGTCATGCTGGCATGTCAACCCCTGTCTCTGGTCTACAGCAACAAGTGC
CAGACACCCCTGGGAATGGCCCTTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCTTGGCCAGTAT
GGCCAGTGGGCACCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCAACCAAG
GAGCCATCTCTTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAGACACAG
GGGGCAAGACAGAAATTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTTATCATCATGTACTCTCTGGATGGC
AAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGAC
AGCTCTGGCATCAAGCAACAATCTTCAACCCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGGCTGCACCCC
ACCCACTACTCAATCAGATCAACCCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAACTCTGTCA
ATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTACTTCAAC
AATATGTTTGGCACCTGGTCAACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAGCAATGCCTGG
AGACCCAGGTCACAAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCAGAAGACAATGAAAGTCACT
GGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACTCAATGTATGTGAAGGAGTCTCTGATCTCT
TCTTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTTCTTCCAGAAAGGCAAGTCAAGGTGTTCCAGGGC
AACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTCTGACAAGATACCTGAGA
ATTCAACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAGATGGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGAGGCACAA
GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:27)

Фиг. 29В

CS23A (760-1667) - CS23-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACAGGAGATAC
TACCTTGGGCGCTGGAGCTGAGCTGGGACTACATCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCTCTGGACGCCAGG
TTCCXCCCAAGAGTGGCCCAAGAGCTTCCCTTCAACACCTCACTGGTGTACAAGAGAACCTGTTCTGGAG
TTCAACGACCACTGTTCAACATCGCCAAAGCCAGGCCCTGGATGGGCTGCTGGGCCCCACCATCCAG
GCCGAGGTGTACGACACCTGGTGATCACCTGAAAGAACATGGCCAGCCACCCCTGAGCTGTGACGCGCTG
GGCGTGAGCTACTGGAAGGCTCTGAGGGGCGCGAGTATGACGACCAAGACAGCCAGAGGGAGAGGAGGAC
GACAAGGTGTTCCCGGCGCGACGCCACCTACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCATGGCCAGC
GACCCCTGTGCTGACCTACAGCTACCTGAGCCAGCTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACCTTGGCTGATC
GGCGCCCTGCTGCTGTGTGAGGGAGGGGAGCTGGCCAAAGGAGAGACCCAGACCTGACAAAGTTCACTCTG
CTGTTGCGCGTGTTCATGAGGCAAGAGCTGGCACGCGAGACCAAGAACAGCTGATGACGACAGGGAT
GCCGCTTCTGCCAGGGCTTGGCCAAAGATGCACACCTGACGCGCTACGTGAACAGGAGCTGCGCCGCTG
ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGATGCTGACAGCTGATCGGCATGGGCACCAACCCCGAGGTGCRACAGCAT
TTCTTGGAGGGCCACACCTTCTCTGTGAGGAACCAAGGACGCGAGCTGAGATCAAGCCCATCACTTCT
CTGAACGCCCAAGACCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTCTGCTGCTTCTGCCACATCAGCAGCCACAGCAC
GACGCGATGGAGGCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCGAGGAGCCCCAGCTGAGGATGAAGAACACAGAG
GAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATGGACGTGGTGAAGTTTATGATGACACAGC
CCCAGCTTCAATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGACACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCCGCAG
GAGGAGGACTGGGACTACGCCGCCCTGGTGTGGGCCCGGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAAC
AACGCGCCCCAGAGGATCGGCAAGAAATACAAAGAGGTGAGATTCACTGGCTACACCCAGCAGAGCTTCAAG
ACCAGGGAGGCCATCCAGCACAGTCTGGCATCTGGGCCCTTGGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCTTG
CTGATCATCTTCAAGAACAGGCGCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACGATGTGAGGGCC
CTGTACAGCAGGAGCTGCCCAAGGGCTGAAGCACCTGAAGSACTTCCCATCTGCCCGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCTGACCGTGGAGGATGGCCCAACCAAGTGTGACCCAGGTGCCTGACAGGTACTAC
AGCAGCTTCTGTGAACATGAGAGGGAGCTGGCTCTTGGCTGATCGGCCCTCTGCTGATCTGTACAGGAG
AGCTGGACCAAGGGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCTGTTCTCTGTGTTTGATGAG
AACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTCTGCCAACCCCGCGGCTGCAGCTGGAGGAC
CCCGAGTTCCAGGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGCTACGTGTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTG
TGCCCTGCACAGGTGGCTTACTGGTACATCTTGAGCATCGGCGCCAGACCGACTTCTGTCTGTGTTCTTC
TCTGGTACACCTTCAAGCACAGATGGTGTACGAGGACACCTGACCTGTTCCCTTCAAGGCGAGAGCC
GTGTTTATGAGCATGGAGAACCCCGGCTGTGGATCTTGGCTGCCACACAGCGACTTCAGGAACAGGGGC
ATGACGCCCTGTGAAAGTCAAGACCTGCGACAGAACACCGCGGACTACTACGAGGACAGCTACAGGAC
ATCAGCGCTACCTGTGAGCAAGAACAAAGCCATCGAGCCAGGGAGATCAACAGGACACCTTGCAGAGC
GACCAAGGAGGATCGACTATGATGACACCATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTGCACATCAAGAC
GAGGACGAGAACAGAGGCCCAAGGAGCTTCCAGAGAGAACCAAGGCACTACTTCACTGCCCGCTGGAGAGG
CTGTGGGACTATGGCATGACGACGACCCCAAGTGTGAGGAAAGGGCCAGAGCGGCGCTGCCCGAG
TTCAAGAGGTGTGTTCAGGAGTTTCAACGAGCGGAGCTTCAACCGAGCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAAC
GAGCACTGGGCTGCTGGGCCCTACATCAGGCGGAGGTGGAGGACACATCATGTGTGACCTTCAAGGAAC
CAGGCGAGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCTGATCAGCTACGAGGAGGACAGAGGACGAGGCGCGAG

(Продолжение)

Фиг. 30А

CCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCACCACATGGCCCCC
 ACCAAGGACGAGTTCCGACTGCAAGGCTTGGGCTTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAGGACGTGCACAGC
 GGCTTGATCGGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCTTGAAACCCCGCCACGGCAGGCAGGTGACCGTG
 CAGGAGTTCCGCCCTGTTCTTACCATCTTCGACGAGACCAAGAGCTGGTACTTCAACCGAGAACATGGAGAGG
 AACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATC
 AACGGCTACATCATGGACACCTTGCCCGGCTGGTGATGGCCAGGACCAAGGGATCAGGTTGGTATCTGCTG
 AGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTCAACCGTAGGGAAGAGGAG
 GAGTACAAGATGGCCCTGTACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTTGGAGATGCTGCCAGCAGGCGC
 GGCACTCTGGAGGGTGGAGTGCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTCTGGTGATC
 AGCAACAAGTGCCAGACCCCTGGGCTTGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCTCTGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCCTACAGCGGCAGCATCAACGCTGGAGCACCAAG
 GAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTTGCCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAGGGCGCC
 AGGCAGAAAGTTACAGACGCTGTACATCAGCCAGTTTATCATCATGTACAGCTTGGACGGCAAGAAAGTGGCAG
 ACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCCACCTGTATGGTGTCTTCCGCAACGTGGACAGCAGCGGCATCAAGCAC
 AACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCCAACCACTACAGCATCAGGAGCACCC
 CTGGCGATGGAACTGATGGGCTGCGACCTGAACAGCTGCAGCATGCCCTTGGGCTGAGAGAGCAAGGCCATC
 TCTGACGCCAGATCACCGCCAGCAGCTACTTCAACCAACATGTTCCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGG
 CTGGACCTGCGAGGGCAGGAGCAACGCTTGGAGGCCCCAGGTGAACAAACCCAGGAGTGCTGCTGACCGAGTAT
 TTCCAGAAAGACCATGAAGGTGACCGCGGTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCTGCTGACCAAGCATGTACGTG
 AAGGAGTTCTGATCAGCAGCAGCAGGACGGCCACCAAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAGAGTGAAG
 GTGTTCCAGGGCAACCAAGACAGCTTCAACCCCGTGGTGAACAGCTTGGACCCCCCTGCTGACCAAGTAT
 CTGAGGATCCACCCCAAGAGCTGGGTGCACCAAGATCGCCCTGAGAAATGGAGTGTGGGATCGGAGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:28)

Фиг. 30В

CS23Δ(772-1667) – CS23-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGTTCTGCTTCTTCTGCAACAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGACCTCTGTTCTGGAGTTTACCAGCACCTTGTTCACATCGCCAAAGCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCTTGTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTATCACCCTGAAGAATG
 GCCAGCCACCCGTGAGCTTGCACGCCGTGGGCTGAGCTACTGGAAGGCCCTCTGAGGGCGCCGAG
 TATGACGACAGACAGCCAGAGGGAGAAAGAGGACGACAAAGTGTTCCTCCGGCGGCGAGCCACCC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGACCTGAACCTTGGCCGTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCTGAGCCCAAGGAGAACACCCAGACCTGCACAAGTTTATCTGCTGTTCTGCCAC
 TTCATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCTGATGACGAGCAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCTGGGCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGGCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTAAGTGGCACGTGATCGGCATGGGCACACCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCTGGAGGGCCACACCTTCTGTTGAGGAACACAGGCAGGCGAGCTGGAGATCAGC
 CCAATCACCTTCTGACCGCCAGACCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCAGCCACCAAGCAGCAGCGCATGGAGGCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCGAGGAGCCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCGGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAAGTTTGTATGATGACAACAGCCCGAGCTTCAATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTGATGGCTACACCGACGAGACCTTCAAGACAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCTGGGCCCTTGTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCAAGGCATCAGGATGTGAGGCCCTGTATC
 AGCAGGAGGCTGCCAAGGGCGTGAAGCACTGAAGGACTTCCCATCTTGGCCGGCAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCCGAGGTGCTGACCAAG
 TACTACAGCAGCTTCTGTAACATGGAGAGGGACCTGGCCCTTGGCTGATCGGCCCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAAGGGGCAACAGATCATGTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCTGTGTTGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGTTCTGCTGCCAAC
 CCGCCCGCGTGCAGCTGAGGAGCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTTCGACAGCTCGACGTGTTCTGTGTGCTGCAAGAGGTGGCCCTACTGGTACATCTGAGC
 ATCGGCGCCAGACCGACTTCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCAAGATGGTG
 TACGAGGACACCTTGACCTGTTCCCTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCC
 GGCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCTGCTGAAA
 GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGCGCACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACACCGCATCGAGCCAGGAGCTTCAGCCAGAACTCCAGACACCCAGCACCC

(Продолжение)

Фиг. 31А

AGGGAGATCACCAGGACCACCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGACACCATCAGC
 GTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGAGGAGAACCCAGAGCCCCAGGAGCTTC
 CAGAAGAAGACCAGGCCTACTTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATGAGCAGC
 AGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAGGTGGTGTTC
 CAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCGTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAGCACCTGGGC
 CTGCTGGGCCCCATACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGGAACAGGGCC
 AGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGGCAGGGCGCCGAG
 CCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCACCATG
 GCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
 GACGTGCACAGGGCCCTGATCGGGCCCCGTGCTGGTGTGCCACACCAACCCCTGAACCCCGGCCAC
 GGCAGGCAGGTGACCTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACCAAGAGCTGG
 TACTTCACCCGAGAACATGGAGAGGAAGTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGACCCACCC
 TTCAAGGAGAACTACAGGTTCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCTGCCCCGGCCTGGTG
 ATGGCCAGGACAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGC
 ATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTACCCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTGTACAAAC
 CTGTACCCCGCGCTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGGAGGGTGGAG
 TGCCTGATCGGGCAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTGCTGGTACAGCAACAGTGC
 CAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCTGGCCAGTAC
 GGCCAGTGGGCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGGAGCACCAAG
 GAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAG
 GCGCCAGGCAGAACTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTTCATCATGTACAGCCTGGACGGC
 AAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCCACCTGATGGTGTCTTCGGCAACCTGGAC
 AGCAGCGGCATCAAGCACAAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCC
 ACCCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAATGATGGGCTGCGACCTGAACAGCTGCAGC
 ATGCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTGTACGCCAGATCACCGCCAGCAGCTACTTCACC
 AACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAACGCCCTGG
 AGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAGGTGACC
 GGCTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAAGCATGTACGTGAAGGAGTTCTGTATCAGC
 AGCAGCCAGGACGGCCACCAAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAGTGAAGGTGTTCCAGGGC
 AACAGGACAGCTTCACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTGCTGACCAAGTATCTGAGG
 ATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGGATCCGAGGCCACG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:29)

Фиг. 31В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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