

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192376 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.12.27

(51) Int. Cl. C12N 15/86 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.02.28

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЛАМИНОПАТИЙ

(31) 62/812,021

(32) 2019.02.28

(33) US

(86) PCT/US2020/020520

(87) WO 2020/176896 2020.09.03

(71) Заявитель:
ИНКОУДИД ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:

Вуд Сирика, Рамамурти Картик,
Тальятеля Стефани, Тененхос Энн
(US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к композициям и к способам лечения, профилактики или ингибирования ламинопатий. В одном своем аспекте, настоящее изобретение относится к конструкциям нуклеиновой кислоты и/или к векторам, содержащим нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С.

A1

202192376

202192376

A1

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЛАМИНОПАТИЙ

Перекрестная ссылка на родственную заявку

По этой заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США No. 62/812021, поданной 28 февраля 2019. Вышеупомянутая заявка в полном объеме включена в настоящее описание посредством ссылки.

Предпосылки к созданию изобретения

[1] Ген LMNA кодирует по меньшей мере три изоформы (ламин А, ламин С и ламин АΔ10) в результате нормального альтернативного сплайсинга. Две основные изоформы, ламин А и ламин С, являются составными компонентами волокнистой ядерной пластинки, комплексного молекулярного пограничного слоя, расположенного между внутренней мембраной ядерной оболочки и ДНК. Ламин А и ламин С выполняют различные физиологические роли, от механического поддержания ядерной мембраны до регуляции генов. Многочисленные мутации в гене LMNA вызывают ряд заболеваний, известных как ламинопатии. Эти заболевания включают по меньшей мере восемь хорошо охарактеризованных фенотипов, некоторые из которых ограничены скелетными мышцами или кожей, а другие являются мультисистемными.

[2] Дилатационная кардиомиопатия принадлежит к одному из большого семейства заболеваний, связанных с LMNA. Встречаемость дилатационной кардиомиопатии варьируется в пределах от 1:2500 до 1:250 человек. Дилатационная кардиомиопатия характеризуется расширением и нарушением сокращения левого желудочка или обоих желудочков и нарушением систолической функции. Несмотря на то, что дилатационная кардиомиопатия является редким заболеванием, она представляет собой серьезную проблему для здоровья и часто приводит к аритмии, тромбоэмболии и к внезапной смерти на любой стадии заболевания. Конкретного лечения дилатационной кардиомиопатии или других ламинопатий, связанных с LMNA, пока не существует.

[3] Таким образом, необходимо разработать новые способы лечения ламинопатий (например, дилатационной кардиомиопатии).

Сущность изобретения

[4] Настоящее изобретение относится к композициям и к способам, которые, в некоторых вариантах осуществления изобретения, могут быть использованы для лечения ламинопатий, таких как дилатационная кардиомиопатия.

[5] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламина А, (b) полипептид ламина С или (с) полипептид ламина А и полипептид ламина С, или биологически активный вариант и/или фрагмент любого из (а)-(с), функционально связанные с регуляторным элементом, имеющим менее, чем 500 п.о. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую (а)

полипептид ламина А, (b) полипептид ламина С или (с) полипептид ламина А и полипептид ламина С, или биологически активный вариант и/или фрагмент любого из (a)-(с), где нуклеотидная последовательность включает по меньшей мере одну, если не все, некодирующие последовательности гена LMNA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, некодирующая последовательность представляет собой интрон. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает по меньшей мере один, если не все, интроны, соответствующие интронам 1-11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 10, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 79, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интрон, соответствующий интрону 8 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 8, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 77, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интрон, соответствующий интрону 9 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 9, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 78, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интрон, соответствующий интрону 11 человеческого гена LMNA человека дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 11, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 80, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интроны, соответствующие интронам 9 и 10 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интроны, соответствующие интронам 8, 9, 10 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения конструкция нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа, и не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа, и не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего

интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит интроны, соответствующие интронам 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа, и не содержит интроны, соответствующие интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит интроны, соответствующие интронам 9 и 10 человеческого гена LMNA дикого типа, и не содержит интроны, соответствующие интронам 1-8 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа, и не содержит интроны, соответствующие интронам 1-9 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим число пар оснований менее или равное 400 парам оснований (п.о.), 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о.. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любую из следующих последовательностей или их комбинаций: любую из SEQ ID NO: 30-58, CBA, CMV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, CAG или EFS. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA или minCMV или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой CBA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой minCMV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент является селективным по отношению к типу клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент селективно экспрессируется в кардиомиоцитах. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична нуклеотидной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-10 или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична нуклеотидной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична нуклеотидной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая

представляет собой последовательность любой из SEQ ID NO: 1-10 или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID. NO: 12 или ее биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID. NO: 21 или ее биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID. NO: 13 или ее биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID. NO: 12, или ее биологически активный фрагмент, и полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислоте последовательности SEQ ID NO: 13, или ее биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID. NO: 21 или ее биологически активный фрагмент, и полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислоте последовательности SEQ ID NO: 13, или ее биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно содержит сигнал полиаденилирования.

[6] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид ламина А и полипептид ламина С, или их биологически активный вариант и/или фрагмент, где указанная конструкция содержит по меньшей мере интрон 8 или интрон 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон 8 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 77, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон 11 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична

нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 80, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно содержит интрон 10 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон 10 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 79, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно содержит интрон 9 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон 9 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 78, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интроны 8 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интрон 8 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интрон 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно содержит интроны 9 и 10 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает интроны 8, 9, 10 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты не содержит по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты не содержит интроны 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит интрон 9 человеческого гена LMNA дикого типа и не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит интрон 10 человеческого гена LMNA дикого типа и не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит интроны 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа и не содержит интроны 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент имеет не более 500 пар оснований. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент имеет не более 900 пар оснований. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент имеет не более 800 пар оснований (п.о.), 700 п.о., 600 п.о., 500 п.о., 400 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет

с собой любой из нижеследующих элементов или их комбинацию: любую из SEQ ID NO: 30-58, SEQ ID NO: 102, CBA, CMV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, Myh6, десмина, cTnT, α -MHC, MLC-2, CAG или EFS. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA или minCMV или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой CBA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой minCMV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент является селективным по отношению к типу клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент селективно экспрессируется в кардиомиоцитах. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любой из Myh6, десмина, cTnT, α -MHC или MLC-2 или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой cTnT. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент cTnT содержит SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, или его биологически активный фрагмент, и полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, или его биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%,

98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID. NO: 21, или его биологически активный фрагмент, и полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислоте последовательность SEQ ID NO: 13, или его биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно содержит сигнал полиаденилирования.

[7] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к нуклеотидной конструкции, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 8 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к нуклеотидной конструкции, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 8 и интрон 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно кодирует один или более интронов 9 и 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к нуклеотидной конструкции, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интроны 8-11 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 80% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированному по кодомам варианту и/или фрагменту. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 90% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодомам варианту и/или фрагменту. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 95% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодомам варианту и/или фрагменту. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует: а) полипептид ламина А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и б) полипептид ламина С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует: а) полипептид ламина А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%,

98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и b) полипептид ламина C, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид, имеющий аминокислотную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12-19 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность не содержит нуклеотидной последовательности, соответствующей интронам 1-7 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим менее 900 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим не более, чем 900 п.о., 800 п.о., 700 п.о., 600 п.о., 500 п.о., 400 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 30-58, SEQ ID NO: 102, CBA, CMV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, Myh6, десмина, cTnT, α -MHC, MLC-2, CAG или EFS или их комбинацию.

[8] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему любую из представленных здесь конструкций нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую: (a) полипептид ламина A, (b) полипептид ламина C, или (c) полипептид ламина A и полипептид ламина C, или биологически активный вариант и/или фрагмент любого из (a)-(c). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность включает по меньшей мере одну некодирующую область гена LMNA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, некодирующая область представляет собой интрон. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую: (a) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит представленную здесь конструкцию нуклеиновой кислоты, где нуклеотидная последовательность дополнительно кодирует один или более интронов 8, 9 и 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: (a) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интроны 9 и 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: (a) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интроны 8-11 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит

[illegible]

последовательность, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12-21 или 24. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, не содержащую нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-7 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая функционально связана с регуляторным элементом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая функционально связана с регуляторным элементом, имеющим не более, чем 400 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который представляет собой любую из SEQ ID NO: 30-58, CBA, CMV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, CAG, EFS или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который представляет собой любую из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA или minCMV или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который представляет собой SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который представляет собой CBA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который представляет собой minCMV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который является селективным по отношению к типу клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который селективно экспрессируется в нейронах, клетках сетчатки, клетках почек, клетках скелетных мышц, в адипоцитах или кардиомиоцитах. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит регуляторный элемент, который селективно экспрессируется в кардиомиоцитах. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, дополнительно включающую сигнал полиаденилирования. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор представляет собой вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV представляет собой AAV6, AAV9, scAAV6 или scAAV9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, AAV-вектор содержит нуклеотидную последовательность, дополнительно включающую последовательность 5'-концевого инвертированного повтора (ITR) AAV и ITR-последовательность 3'AAV.

[9] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: полипептид ламина А и полипептид ламина С, или их биологически активный вариант и/или фрагмент, где указанная нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере

интрон 8 или интрон 11 человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 8 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 8 и интрон 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно кодирует один или более интронов 9 и 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интроны 8-11 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 80% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодомам варианту и/или фрагменту. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 90% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодомам варианту и/или фрагменту. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 95% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодомам варианту и/или фрагменту. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует: а) полипептид ламина А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и b) полипептид ламина С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует: а) полипептид ламина А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и b) полипептид ламина С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность кодирует полипептид, имеющий аминокислотную последовательность любой одной или

более из SEQ ID NO: 12-19 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность не содержит нуклеотидной последовательности, соответствующей интронам 1-7 гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим менее 500 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим менее 900 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим не более, чем 800 п.о., 700 п.о., 600 п.о., 500 п.о., 400 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 30-58, SEQ ID NO: 102, CBA, C MV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, Myh6, десмина, cTnT, α -MHC, MLC-2, CAG или EFS или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA или minCMV или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой CBA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой minCMV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент является селективным по отношению к типу клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент селективно экспрессируется в нейронах, клетках сетчатки, клетках почек, клетках скелетных мышц, в адипоцитах или в кардиомиоцитах. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент селективно экспрессируется в кардиомиоцитах. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой любой из Myh6, десмина, cTnT, α -MHC или MLC-2 или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент представляет собой cTnT. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент cTnT содержит SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно включает сигнал полиаденилирования. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор представляет собой вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах осуществления изобретения, AAV-вектором является AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8, AAV9, scAAV1, scAAV2, scAAV5, scAAV6, scAAV8 или scAAV9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность дополнительно включает последовательность 5'-концевого инвертированного повтора (ITR) AAV и ITR-последовательность 3'-AAV.

[10] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусной

частице, содержащей любой из представленных здесь вирусных векторов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусная частица содержит капсидные белки AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки AAV представляют собой AAV6 или AAV9.

[11] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к клетке-хозяину, содержащей любые из представленных здесь конструкций нуклеиновой кислоты, вирусных векторов, или вирусных частиц.

[12] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей любые из представленных здесь конструкций нуклеиновой кислоты, вирусных векторов, вирусных частиц или клеток-хозяев, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

[13] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способу лечения ламинапатии у индивидуума, включающему введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества любых представленных здесь конструкций нуклеиновой кислоты, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев, или фармацевтических композиций.

[14] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способу экспрессии (a) полипептида ламина А, (b) полипептида ламина С, или (c) полипептида ламина А и полипептида ламина С, или биологически активного варианта и/или фрагмента любого из (a)-(c) у индивидуума, где указанный способ включает введение указанному индивидууму терапевтически эффективного количества любых из представленных здесь конструкций нуклеиновой кислоты, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций.

[15] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способу повышения уровня экспрессии (a) функционального полипептида ламина А, (b) функционального полипептида ламина С, или (c) функционального полипептида ламина А и функционального полипептида ламина С, или биологически активного варианта и/или фрагмента любого из (a)-(c) у индивидуума, где указанный способ включает введение указанному индивидууму терапевтически эффективного количества любых из представленных здесь конструкций нуклеиновой кислоты, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций.

[16] В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуум, который подвергается лечению в соответствии с любым из описанных здесь способов, страдает ламинапатией. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ламинапатия представляет собой любое одно или более из: болезни Шарко-Мари-Туфа, мышечной дистрофии Эмери-Дрейфуса, семейной частичной липодистрофии, синдрома прогерии Хатчинсона-Гилфорда, мышечной дистрофии конечностей-поясничного отдела, врожденной мышечной дистрофии, ассоциированной с LMNA, челюстно-подъязычной дисплазии, аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка, наследственной фибрилляции предсердий, увеличения объема левого желудочка или дилатационной

кардиомиопатии. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ламинопатия представляет собой дилатационную кардиомиопатию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, любую из представленных здесь конструкций нуклеиновых кислот, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций вводят интрамиокардиально, внутривенно, внутримышечно, интратекально, подкожно, системно или локально в миокард. В некоторых вариантах осуществления изобретения, любую из представленных здесь конструкций нуклеиновых кислот, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций вводят внутривенно или системно.

Краткое описание чертежей

[17] Новые признаки изобретения подробно изложены в прилагаемой формуле изобретения. Лучшее понимание признаков и преимуществ настоящего изобретения будет достигнуто со ссылкой на нижеследующее подробное описание, в котором излагаются иллюстративные варианты осуществления изобретения, где используются принципы изобретения, и прилагаемые чертежи.

[18] На фиг. 1 проиллюстрирована векторная карта конструкции полного генома вирусного вектора для экспрессии ламина А. Вирусный вектор включает аденоассоциированный вирусный вектор (AAV), содержащий промотор CMV, энхансер, имеющий SEQ ID NO: 31, вставку изоформы ламина А, содержащую экзоны 1-12 ламина А и сигнал последовательности полиаденилирования.

[19] На фиг. 2 проиллюстрирована векторная карта конструкции полного генома вирусного вектора для экспрессии ламина С. Вирусный вектор включает аденоассоциированный вирусный вектор (AAV), содержащий промотор CMV, энхансер, имеющий SEQ ID NO: 31, вставку изоформы ламина С, содержащую экзоны 1-10 ламина С и сигнал последовательности полиаденилирования.

[20] На фиг. 3 проиллюстрирована векторная карта конструкции полного генома вирусного вектора (минигена 1) для экспрессии ламина А и ламина С. Вирусный вектор содержит аденоассоциированный вирусный вектор (AAV), содержащий промотор CMV, энхансер, имеющий SEQ ID NO: 31, вставку изоформы ламина А/С, содержащую экзоны 1-12 ламина А/С, и интроны 8-11 ламина А/С и сигнал последовательности полиаденилирования.

[21] На фиг. 4 проиллюстрирована векторная карта конструкции полного генома вирусного вектора (минигена 2) для экспрессии ламина А и ламина С. Вирусный вектор содержит аденоассоциированный вирусный вектор (AAV), содержащий промотор CMV, энхансер, имеющий SEQ ID NO: 31, вставку изоформы ламина А/С, содержащую экзоны 1-12 ламина А/С, интроны 9 и 10 ламина А/С, и сигнал последовательности полиаденилирования.

[22] На фиг. 5 проиллюстрирована векторная карта конструкции полного генома вирусного вектора (минигена 3) для экспрессии ламина А и ламина С. Вирусный вектор содержит аденоассоциированный вирусный вектор (AAV), содержащий промотор CMV,

энхансер, имеющий SEQ ID NO: 31, вставку изоформы ламина A/C, содержащую экзоны 1-12 ламина A/C, интрон 10 ламина A/C, и сигнал последовательности полиаденилирования.

[23] На фиг. 6 проиллюстрирован Вестерн-блот-анализ, показывающий, что обе изоформы ламина A и ламина C продуцируются из минигенной конструкции 1 LMNA в клетках HEK293.

[24] На фиг. 7 представлен график уровней экспрессии мРНК, демонстрирующий, что конструкция минигена LMNA способна экспрессировать ламин A и ламин C в клетках HEK293T (слева), и в iPS-кардиомиоцитах (справа).

[25] На фиг. 8 проиллюстрирован Вестерн-блот-анализ, показывающий, что изоформы ламина A и ламина C продуцируются из конструкции минигена 1 *in vitro* (293T), а также *in vivo* в тканях сердца и печени (на нижних панелях представлена ткань сердца самцов мышей дикого типа и гетерозиготных по LMNA^{+/-} самцов мышей-моделей в возрасте 24 недель).

[26] На фиг. 9 представлен график, иллюстрирующий «спасение» фенотипа заболевания у мышей с нокаутом LMNA^{-/-} при введении дозы вируса AAV, несущего минигенную конструкцию 1.

[27] На фиг. 10A и на фиг. 10B проиллюстрирована *in vivo* экспрессия изоформ ламина A и ламина C у мышей, обработанных AAV9, несущим конструкцию минигена 1, как было оценено путем секвенирования РНК. На фиг. 10A показана экспрессия ламина A и ламина C в сердце и печени под контролем неспецифического промотора. На фиг. 10B показана экспрессия ламина A и ламина C в сердце и печени под контролем промотора, специфичного для сердца (cTNT).

[28] На фиг. 11A-11C представлены упрощенные схемы нескольких различных конструкций, каждая из которых включает промотор куриного бета-актина. На фиг. 11A представлена конструкция, которая содержит промотор СВА, вставку изоформы ламина A/C, содержащую экзоны 1-12 ламина A/C, интроны 8-11 ламина A/C и сигнал последовательности полиаденилирования. На фиг. 11B представлена конструкция, которая содержит промотор СВА, вставку изоформы ламина A/C, содержащую экзоны 1-12 ламина A/C, интроны 9 и 10 ламина A/C и сигнал последовательности полиаденилирования. На фиг. 11C представлена конструкция, которая содержит промотор СВА, вставку изоформы ламина A/C, содержащую экзоны 1-12 ламина A/C, интрон 10 ламина A/C и сигнал последовательности полиаденилирования.

[29] На фиг. 12 проиллюстрирован Вестерн-блот-анализ, указывающий на экспрессию изоформ ламина A и ламина C в минигенных конструкциях LMNA, кодирующих ламин A и/или ламин C в клетках HEK293.

[30] На фиг. 13 представлен график уровней экспрессии мРНК, демонстрирующих, что минигенная конструкция LMNA, кодирующая ламин A и/или ламин C под контролем промотора CMV, способна экспрессировать ламин A и/или ламин C в клетках HEK293T. В частности, миниген LMNA, кодирующий ламин A и ламин C, экспрессировал как ламин A,

так и ламин С в клетках НЕК293Т.

Подробное описание изобретения

[31] Ламин А и ламин С являются составными компонентами волокнистой ядерной пластинки, комплексного молекулярного пограничного слоя, расположенного между внутренней мембраной ядерной оболочки и ДНК. Ламин А и ламин С выполняют различные физиологические роли, от механического поддержания ядерной мембраны до регуляции генов. Ген LMNA кодирует по меньшей мере три изоформы (ламин А, ламин С и ламин АΔ10) в результате нормального альтернативного сплайсинга. LMNA содержит двенадцать экзонов, которые дают транскрипты для ламина С и преламина А (предшественника зрелого ламина А) посредством альтернативного сплайсинга экзона 10. Обе изоформы идентичны для первых 566 аминокислот (кодируемых экзонами 1-10), но их карбоксильные концевые последовательности отличаются. Преламин А содержит 98 дополнительных уникальных аминокислот на С-конце (кодируемых экзонами 11-12), а ламин С заканчивается последовательностями экзона 10 и имеет 6 уникальных С-концевых аминокислот. Преламин А процессируется с образованием ламина А, то есть, белка длиной в 646 аминокислот. Тогда как, ламин С состоит из 572 аминокислот.

[32] Мутации LMNA у человека приводят к различным заболеваниям, включая кардиомиопатию, мышечную дистрофию и расстройства, ассоциированные с прогерией. Было выявлено более 500 вызывающих заболевания мутаций, некоторые из которых приводят к таким заболеваниям, как дилатационная кардиомиопатия. Дилатационная кардиомиопатия характеризуется расширением и нарушением сокращения левого желудочка или обоих желудочков и нарушением систолической функции. Встречаемость дилатационной кардиомиопатии варьируется от 1:2500 до 1:250 человек. Несмотря на то, что дилатационная кардиомиопатия является редким заболеванием, она представляет собой серьезную проблему для здоровья и часто приводит к аритмии, тромбоэмболии и внезапной смерти на любой стадии заболевания. По данным на 2014 год, в гене LMNA было идентифицировано 165 мутаций, ассоциированных с дилатационной кардиомиопатией (Tesson F. *Cardiol J.* 2014; 21(4):331-42). Эти мутации включают миссенс/нонсенс-мутации, мутации сплайсинга, небольшие делеции, небольшие инсерции, небольшие инсерции-делеции, крупные делеции или крупные инсерции. Большинство мутаций LMNA, приводящих к дилатационной кардиомиопатии, являются аутосомно-доминантными миссенс-мутациями, которые были обнаружены по всему гену, и которые генерируют мутированные белки ламина А/С.

[33] В настоящем изобретении рассматриваются композиции и способы лечения, профилактики или ингибирования дилатационной кардиомиопатии и других ламинопатий. В одном своем аспекте, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, к вирусной частице, к клетке-хозяину или к фармацевтической композиции, содержащим нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептиды ламина А и ламина С; или вариант и/или фрагмент любого из вышеперечисленных компонентов, оптимизированных по кодонам. В

одном своем аспекте, настоящее изобретение относится к вирусному вектору, к вирусной частице, к клетке-хозяину или к фармацевтической композиции, содержащим нуклеотидную последовательность, кодирующую: (a) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (c) биологически активный фрагмент полипептида ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С; или вариант и/или фрагмент любого из вышеперечисленных компонентов, оптимизированных по кодонам. В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую (a) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (c) полипептид ламина А и полипептид ламина С, или его оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент, функционально связанные с любым из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA и/или minCMV или их комбинацией. В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую (a) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (c) биологически активный фрагмент полипептида ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С, или его оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент, функционально связанные с любым из: SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA и/или minCMV, или их комбинацией. В другом своем варианте, настоящее изобретение относится к способу лечения ламинарии у индивидуума, включающему введение одной или более из любых нуклеиновых кислот, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций, раскрытых в настоящей заявке.

[34] Ламинарии широкого ряда могут быть подвергнуты лечению или профилактике с использованием описанных здесь нуклеиновых кислот, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев, фармацевтических композиций и способов. Ламинарии, которые могут быть подвергнуты лечению или профилактике с использованием нуклеиновых кислот, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев, фармацевтических композиций и способов согласно изобретению включают, но не ограничиваются ими, болезнь Шарко-Мари-Туфа, мышечную дистрофию Эмери-Дрейфуса, наследственную частичную липодистрофию, синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда, мышечную дистрофию конечностей-поясничного отдела, врожденную мышечную дистрофию, ассоциированную с LMNA, челюстно-подъязычную дисплазию, аритмогенную кардиомиопатию правого желудочка, наследственную фибрилляцию предсердий, увеличение объема левого желудочка и дилатационную кардиомиопатию.

А. Общие методы

[35] Если это не оговорено особо, то все используемые здесь научные и технические термины имеют свои общепринятые значения, известные специалистам в данной области. Обычно, номенклатура, используемая при описании методов, применяемых в фармакологии, культивировании клеток и тканей, молекулярной биологии, биологии клетки и рака, нейробиологии, нейрохимии, вирусологии,

иммунологии, микробиологии, генетике и химии белков и нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке, хорошо известна специалистам и широко используется в данной области. В случае возникновения противоречий, следует отдать предпочтение описанию, приведенному в настоящей заявке.

[36] Настоящее изобретение может быть осуществлено, если это не оговорено особо, с использованием стандартных методов молекулярной биологии (включая рекомбинантные методы), микробиологии, биологии клетки, биохимии и иммунологии, которые находятся в пределах компетенции специалистов в данной области. Такие методы хорошо описаны в литературе, например, в публикациях «Molecular Cloning: A Laboratory Manual», second edition (Sambrook et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd. ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (2001); Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002); Harlow and Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1998); Coligan et al., Short Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY (2003); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999).

[37] Ферментативные реакции и методы очистки осуществляют в соответствии с инструкциями производителя, в основном, как описано в литературе или в настоящей заявке. Номенклатуры, используемые здесь при описании лабораторных процедур и методов аналитической химии, биохимии, иммунологии, молекулярной биологии, химии органического синтеза и медицинской и фармацевтической химии, хорошо известны специалистам и широко используются в данной области. Химический синтез и химические анализы проводят стандартными методами.

В. Определения

[38] В этом описании и в вариантах осуществления изобретения, слово «содержать» или его варианты, такие как «содержит» или «содержащий», следует понимать как включение указанного целого числа или группы целых чисел, но не исключение любого другого целого числа или группы целых чисел.

[39] Следует отметить, что во всех описанных здесь вариантах, под словом «содержащий», также подразумеваются и другие аналогичные варианты, такие, как «состоящий из» и/или «состоящий по существу из».

[40] Термин «включая» означает «включая, но не ограничиваясь ими».

Используемые здесь термины «включая» и «включая, но не ограничиваясь ими» являются синонимами.

[41] Любые перечисления, следующие за словом «напр.» или «например», не являются исчерпывающими или ограничивающими.

[42] Если это не следует из контекста описания, термины в единственном числе должны включать множественное число, а термины во множественном числе должны включать единственное число.

[43] Так, например, термин «элемент» означает один или более, чем один элемент.

[44] Несмотря на то, что числовые интервалы и параметры, определяющие широкий объем раскрытия изобретения, являются приблизительными, однако, числовые значения, указанные в конкретных примерах, представлены с максимально возможной точностью. Однако, любое числовое значение по своей сути содержит определенные погрешности, обязательно являющиеся результатом стандартного отклонения, обнаруживаемого при проведении соответствующих испытательных измерений. Кроме того, следует отметить, что все раскрытые здесь интервалы охватывают любые и все входящие в них подинтервалы. Так, например, заявленный интервал от «1 до 10» должен рассматриваться как включающий любые и все подинтервалы между (и включительно) минимальным значением 1 и максимальным значением 10, то есть, все подинтервалы, начинающиеся с минимального значения 1 или более, например, от 1 до 6,1, и заканчивающиеся максимальным значением 10 или менее, например, от 5,5 до 10.

[45] Если аспекты или варианты осуществления изобретения описаны в терминах, соответствующих группе Маркуша или другой альтернативной группе, то настоящее изобретение охватывает не только всю группу, указанную как единое целое, но и каждый член группы по отдельности и все возможные подгруппы основной группы, а также основной группы, в которой отсутствуют один или более членов группы. В настоящем изобретении также предусматривается явное исключение одного или более любых членов группы согласно изобретению.

[46] Используемые здесь формы единственного числа могут относиться и к существительным во множественном числе, если из контекста описания не следует иное. Кроме того, если термины «включая», «включает», «имеющий», «имеет», «с ...» или их варианты используются в подробном описании и/или в формуле изобретения, то такие термины могут быть использованы как аналогичные термину «содержащий».

[47] Если это не оговорено особо, то используемый здесь термин «ламин А» означает полипептиды преламина А и/или зрелые полипептиды ламина А. Этот термин охватывает все полипептиды ламина А, образованные в результате посттрансляционных модификаций преламина А (например, удаления 18 аминокислот у карбоксильного конца преламина А с образованием зрелого ламина А). Этот термин включает все биологически активные белки ламина А, их фрагменты или варианты.

[48] Термин «AAV» является аббревиатурой для аденоассоциированного вируса и может быть использован для обозначения самого вируса или его производного. Этот

термин охватывает все серотипы, подтипы, а также встречающиеся в природе формы и рекомбинантные формы, если это не оговорено особо. Аббревиатура «гAAV» относится к рекомбинантному аденоассоциированному вирусу. Термин «AAV» включает AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, rh10 и их гибриды, птичий AAV, бычий AAV, собачий AAV, лошадиный AAV, AAV приматов, AAV животных, не являющихся приматами, и овечий AAV. Геномные последовательности различных серотипов AAV, а также последовательности нативных концевых повторов (TR), белков Rep и капсидных субъединиц известны специалистам в данной области. Такие последовательности можно найти в литературе или в общедоступных базах данных, таких как GenBank. Используемый здесь термин «вектор гAAV» означает AAV-вектор, содержащий полинуклеотидную последовательность, не происходящую от AAV (то есть, полинуклеотид, гетерологичный AAV), а обычно последовательность, представляющую интерес для генетической трансформации клетки. Вообще говоря, гетерологичный полинуклеотид фланкирован по меньшей мере одной, а обычно двумя последовательностями инвертированных концевых повторов AAV (ITR). Термин «последовательность ITR» хорошо известен специалистам в данной области, и означает относительно короткие последовательности, присутствующие на концах вирусных геномов, которые находятся в противоположной ориентации. Вектор гAAV может быть одноцепочечным (ssAAV) или аутокомплементарным (scAAV). «Вирус AAV» или «вирусная частица AAV» означает вирусную частицу, состоящую по меньшей мере из одного капсидного белка AAV и инкапсидированного полинуклеотидного вектора гAAV. Если эта частица содержит гетерологичный полинуклеотид (то есть, полинуклеотид, отличающийся от генома AAV дикого типа, такого как трансген, который должен быть доставлен в клетку млекопитающего), то ее обычно называют «вирусной частицей гAAV» или просто частицей «гAAV».

[49] Термин «примерно» или «приблизительно» относится к величине в пределах допустимого диапазона ошибок для конкретного значения, определенного специалистом в данной области, и такая величина будет частично зависеть от способа ее оценки или определения, то есть, ограничений системы измерения. Так, например, термин «приблизительно» может означать величину в пределах одного или более, чем одного стандартного отклонения в соответствии с практикой, применяемой в данной области. В качестве альтернативы, термин «приблизительно» может означать величину в пределах до 20%, до 15%, до 10%, до 5% или до 1% выше и/или ниже заданного значения.

[50] Используемые здесь термины «определение», «измерение», «оценка», «анализ», «количественный анализ» и их грамматические эквиваленты могут использоваться здесь как синонимы для обозначения любого способа измерения и включают определение присутствия или отсутствия элемента (например, детектирование). Эти термины могут включать количественные и/или качественные определения. Оценка может быть относительной или абсолютной.

[51] «Экспрессионный кластер» означает молекулу нуклеиновой кислоты,

содержащую один или более регуляторных элементов, функционально связанных с кодирующей последовательностью (например, геном или генами) для экспрессии.

[52] Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» означает количество описанной здесь композиции, которое является достаточным для достижения цели применения, включая, но не ограничиваясь ими, лечение заболевания, как определено ниже. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от предполагаемого применения для лечения (на клеточном уровне или *in vivo*), или от индивидуума и патологического состояния, подвергаемого лечению, например, массы тела и возраста индивидуума, тяжести патологического состояния, способа введения и т.п., как может быть легко определено специалистом в данной области. Этот термин также относится к дозе, которая вызывает определенный ответ в клетке-мишени. Конкретная доза будет варьироваться в зависимости от конкретно выбранной композиции, схемы введения доз, которую необходимо соблюдать, независимо от того, вводится ли она в комбинации с другими соединениями или нет, от времени введения, от ткани, в которую ее вводят, и физической системы для доставки, с помощью которой ее вводят.

[53] «Фрагмент» нуклеотидной или пептидной последовательности означает фрагмент последовательности, который короче, чем полноразмерная или эталонная последовательность ДНК или белка.

[54] Используемый здесь термин «биологически активный», если он относится к молекуле, такой как белок, полипептид, нуклеиновая кислота и/или полинуклеотид, означает, что эта молекула сохраняет по меньшей мере одну биологическую активность (функциональную или структурную), которая по существу аналогична биологической активности полноразмерного или эталонного белка, полипептида, нуклеиновой кислоты и/или полинуклеотида. Так, например, «биологически активный» белок ламина А или ламина С, или их фрагмент или вариант, будет сохранять по меньшей мере одну активность, которая по существу аналогична активности полноразмерного или эталонного белка ламина А или ламина С дикого типа, соответственно.

[55] Используемые здесь термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» являются синонимами и означают клетки, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева охватывают «трансформанты» и «трансформированные клетки», которые включают первичную трансформированную клетку и потомство, полученное от нее, независимо от количества пассажей. Потомство может быть не полностью идентичным родительской клетке по содержанию нуклеиновых кислот, но может содержать мутации. Этот термин включает мутантное потомство, которое обладает такой же скринированной или отобранной функциональной или биологической активностью, как и активность исходной трансформированной клетки.

[56] Термин «происходящий от человека» в контексте настоящего описания относится к последовательностям, которые были обнаружены в геноме человека (или в

конструкции генома человека), или к гомологичным им последовательностям. Гомологичная последовательность может представлять собой последовательность, имеющую область, последовательность которой по меньшей мере на 80% идентична последовательности (например, как было определено с помощью BLAST) области генома человека. Так, например, последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична человеческой последовательности, рассматривается как последовательность, происходящая от человека. В некоторых случаях, регуляторный элемент содержит последовательность, происходящую от человека, и последовательность, не происходящую от человека, так что в целом, регуляторный элемент имеет низкую идентичность последовательности генома человека, в то время как часть регуляторного элемента имеет последовательность, которая на 100% идентична (или локально идентична) последовательности в геноме человека.

[57] Термин «*in vitro*» относится к событию, которое происходит вне организма индивидуума. Так, например, анализ *in vitro* включает любой анализ, проводимый вне организма индивидуума. Анализы *in vitro* включают анализы, проводимые с использованием живых или мертвых клеток. Анализы *in vitro* также включают бесклеточный анализ, в котором не используются интактные клетки.

[58] Термин «*in vivo*» относится к событию, которое происходит в организме индивидуума.

[59] Термин «выделенная» нуклеиновая кислота означает молекулу нуклеиновой кислоты, которая была отделена от компонентов ее природного окружения. Выделенная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые обычно содержат эту молекулу нуклеиновой кислоты, но эта молекула нуклеиновой кислоты присутствует вне хромосомы, в хромосомном локусе, который отличается от его природного хромосомного локуса, или содержит только кодирующие последовательности.

[60] Используемые здесь термины «функционально связанный», «функциональная связь», «функционально присоединенный» или их грамматические эквиваленты относятся к юстаположению генетических элементов, например, промотора, энхансера, последовательности полиаденилирования и т.п., где такие элементы находятся во взаимосвязи, позволяющей им функционировать ожидаемым образом. Так, например, регуляторный элемент, который может включать промоторные и/или энхансерные последовательности, функционально связан с кодирующей областью, если регуляторный элемент способствует инициации транскрипции кодирующей последовательности. Между регуляторным элементом и кодирующей областью могут быть присутствовать промежуточные остатки, при условии, что будет сохраняться функциональная взаимосвязь.

[61] «Фармацевтически приемлемый носитель» означает ингредиент в фармацевтическом составе или в фармацевтической композиции, отличающийся от активного ингредиента, и являющийся нетоксичным для индивидуума. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничивается ими, буфер, наполнитель, стабилизатор или консервант.

[62] Термины «фармацевтический состав» или «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в форме, обеспечивающей эффективную биологическую активность содержащегося в нем активного ингредиента и не содержит дополнительных компонентов, являющихся неприемлемо токсичными для индивидуума, которому будет введен такой состав.

[63] Термин «регуляторный элемент» означает последовательность нуклеиновой кислоты или генетический элемент, которые способны изменять (например, увеличивать, уменьшать или модулировать) экспрессию функционально связанной последовательности, такой как ген. Регуляторные элементы включают, но не ограничиваются ими, промотор, энхансер, репрессор, сайленсер, последовательности-изоляторы, интрон, UTR, последовательность инвертированного концевой повтора (ITR), последовательность длинного концевой повтора (LTR), элемент стабильности, элемент посттрансляционного ответа, или последовательность polyA, или их комбинацию. Регуляторные элементы могут функционировать на уровне ДНК и/или РНК, например, посредством модуляции экспрессии гена на стадии транскрипции, на посттранскрипционной стадии или на трансляционной стадии экспрессии гена; посредством модулирования уровня трансляции (например, элементов стабильности, которые стабилизируют мРНК для трансляции), расщепления РНК, сплайсинга РНК и/или терминации транскрипции; посредством рекрутинга факторов транскрипции в кодирующую область, который повышает уровень экспрессии гена; посредством увеличения скорости продуцирования РНК-транскриптов, увеличения стабильности продуцируемой РНК и/или увеличения скорости синтеза белка из РНК-транскриптов; и/или предотвращения разложения РНК и/или повышения ее стабильности для облегчения синтеза белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент означает энхансер, репрессор, промотор или их комбинации, а в частности, комбинацию энхансера и промотора или комбинацию репрессора и промотора. В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент происходит от человеческой последовательности.

[64] Используемые здесь термины «субъект» и «индивидуум» являются синонимами и относятся к позвоночному животному, предпочтительно млекопитающему, а более предпочтительно к человеку. Описанные здесь способы могут быть использованы в медицине, в ветеринарии и/или в преклинических исследованиях на животных с моделями соответствующего заболевания или состояния.

[65] Используемые здесь термины «лечить», «лечение», «терапия» и т.п. относятся к достижению желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта, включая,

но не ограничиваясь ими, облегчение, отсрочку или замедление прогрессирования, снижение негативных эффектов или симптомов, предотвращение возникновения и рецидива заболевания или расстройства, ингибирование, замедление начала развития заболевания или расстройства, получение благоприятного или желаемого результата при лечении заболевания, расстройства или патологического состояния, такого как терапевтический эффект и/или профилактический эффект. Используемый здесь термин «лечение» охватывает любое лечение заболевания у млекопитающего, а в частности, человека, и включает: (а) профилактику заболевания у индивидуума, который может быть предрасположен к этому заболеванию или подвергаться риску возникновения этого заболевания, которое еще не было диагностировано; (b) подавление заболевания, то есть, остановку его развития; и (с) облегчение течения заболевания, то есть, достижение ремиссии. Терапевтический эффект включает устранение или ослабление основного заболевания, подлежащего лечению. Кроме того, терапевтический эффект достигается за счет устранения или ослабления одного или более физиологических симптомов, ассоциированных с основным заболеванием, так, чтобы у индивидуума наблюдалось улучшение состояния, несмотря на то, что индивидуум все еще может страдать основным расстройством. В некоторых случаях, для профилактического эффекта, композиции вводят индивидууму с риском развития конкретного заболевания или индивидууму, у которого наблюдаются один или более физиологических симптомов заболевания, даже если диагноз этого заболевания может быть не установлен. Способы согласно изобретению могут быть использованы для любого млекопитающего. В некоторых случаях, лечение может приводить к уменьшению или исчезновению симптомов. Профилактический эффект включает отсрочку или предупреждение появления заболевания или состояния, отсрочку или предупреждение появления симптомов заболевания или состояния, замедление, остановку или прекращение прогрессирования заболевания или состояния или любые их комбинации.

[66] «Вариант» нуклеотидной последовательности означает последовательность, имеющую генетическое изменение или мутацию по сравнению с наиболее распространенной последовательностью ДНК дикого типа (например, по сравнению с кДНК или последовательностью, имеющейся под регистрационным номером в GenBank) или указанной эталонной последовательностью.

[67] Используемый здесь термин «вектор» означает молекулу нуклеиновой кислоты, которая может быть использована для опосредования доставки другой молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она связана, в клетку, где она может реплицироваться или экспрессироваться. Этот термин включает вектор как самореплицирующуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны регулировать экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются здесь «экспрессионными векторами». Другие примеры векторов включают плазмиды и вирусные векторы.

[68] Вообще говоря, термины «идентичность последовательностей» или «гомология последовательностей», которые могут использоваться как синонимы, относятся к точному соответствию нуклеотид-нуклеотид или аминокислота-аминокислота двух полинуклеотидных или полипептидных последовательностей, соответственно. Две или более последовательностей (полинуклеотидную или аминокислотную) можно сравнивать путем определения «процента их идентичности», также называемого «процентом гомологии». Процент идентичности эталонной последовательности (например, нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности) может быть определен как количество точных соответствий между двумя оптимально выровненными последовательностями, деленное на длину эталонной последовательности и умноженное на 100. При определении количества совпадений для оценки идентичности последовательностей, консервативные замены не рассматриваются как совпадения. Следует отметить, что если длина первой последовательности (A) не равна длине второй последовательности (B), то процент идентичности последовательности A:B будет отличаться от процента идентичности последовательности B:A. Выравнивание последовательностей, например, для оценки процента идентичности, может быть осуществлено с помощью любого подходящего алгоритма или программы выравнивания, включая, но не ограничиваясь ими, алгоритм Нидлмана-Вюнша (см., пакет программ для выравнивания EMBOSS Needle, доступный в Интернете на сайте ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/), алгоритм BLAST (см., например, алгоритм выравнивания BLAST, доступный в Интернете на сайте blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), алгоритм Смита-Уотермана (см., например, пакет программ для выравнивания EMBOSS Water, доступный в Интернете на сайте ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/) и программу выравнивания Clustal Omega (см., например, в Интернете на сайте clustal.org/omega/ и F. Sievers et al., *Mol Sys Biol.* 7: 539 (2011)). Оптимальное выравнивание может быть оценено с использованием любых подходящих параметров выбранного алгоритма, включая параметры по умолчанию. Программа BLAST основана на методе выравнивания Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 2264-2268 (1990) и как описано Altschul, et al., *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990); Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5877 (1993); и Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402 (1997).

[69] Если это не оговорено особо, то все используемые здесь термины имеют свое общепринятое значение, известное специалистам в данной области, и настоящее изобретение может быть применено в соответствии со стандартными методами молекулярной биологии, микробиологии и технологии рекомбинантных ДНК, которые хорошо известны специалистам в данной области.

С. Конструкции нуклеиновых кислот

1. Конструкции ламина

[70] В настоящей заявке представлены конструкции нуклеиновых кислот, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, ламин С, ламин А и ламин С (или их биологически активные варианты или фрагменты) или их

оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный вариант или фрагмент) или его оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин С (или его биологически активный вариант или фрагмент) или его оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую как ламин А, так и ламин С (или их биологически активные варианты или фрагменты) или их оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

[71] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит трансген, функционально связанный с регуляторным элементом, где трансген кодирует (а) ламин А (или его биологически активный вариант или фрагмент); (b) ламин С (или его биологически активный вариант или фрагмент); (с) ламин А и ламин С (или их биологически активные варианты или фрагменты), или их оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный вариант или фрагмент) или его оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин С (или его биологически активный вариант или фрагмент) или его оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую как ламин А, так и ламин С (или их биологически активные варианты или фрагменты) или их оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

[72] В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит кодирующую последовательность нуклеиновой кислоты, которая функционально связана с регуляторными компонентами так, чтобы это позволяло осуществлять транскрипцию, трансляцию и/или экспрессию трансгена в клетке-мишени (например, в кардиомиоците или миокардиоците)(эти термины используются здесь как синонимы). Трансген (гетерологичная последовательность нуклеиновой кислоты) может происходить от любого организма. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген происходит от человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует зрелую форму ламина А (или его биологически активного варианта или фрагмента). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует преламин А (или его биологически активный вариант или фрагмент). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует ламин С (или его биологически активный вариант или фрагмент). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует ламин А и ламин С (или их биологически активные варианты или фрагменты). В некоторых

вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует преламин А и ламин С (или их биологически активные варианты или фрагменты). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, или его биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, или его биологически активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, или его биологически активный фрагмент.

[73] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты может содержать один или более трансгенов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит более, чем один вариант сплайсинга LMNA (например, как ламин А, так и ламин С) или фрагменты, происходящие от более, чем одного варианта сплайсинга LMNA. Это может быть осуществлено с использованием одной конструкции нуклеиновой кислоты, несущей две или более гетерологичных последовательности, или с использованием одной конструкции нуклеиновой кислоты, несущей одну последовательность, которая кодирует два или более вариантов сплайсинга LMNA (например, ламин А и ламин С). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит только один вариант сплайсинга LMNA (например, ламин А или ламин С) или фрагменты, происходящие от одного варианта сплайсинга LMNA. Предполагается, что две или более конструкций нуклеиновых кислот, каждая из которых несет одну или более гетерологичных последовательностей, кодирующих по меньшей мере один вариант сплайсинга LMNA, могут быть использованы отдельно или вместе (например, в одном и том же или в различных вирусных векторах). В некоторых вариантах осуществления изобретения, помимо гена LMNA, варианта сплайсинга или его фрагмента, конструкция нуклеиновой кислоты может также кодировать дополнительные белки, пептиды, РНК, ферменты или каталитические РНК.

[74] В некоторых вариантах осуществления изобретения, любая из описанных здесь конструкций нуклеиновых кислот содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 81-93) и интроны 8-11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа

(например, SEQ ID NO: 81-93) и интроны 9 и 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79). В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа (например SEQ ID NO: 81-93) и интрон 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79).

[75] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая включает последовательность нуклеиновой кислоты, состоит или по существу состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 1-10, и последовательностей нуклеиновых кислот, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны любой из вышеперечисленных последовательностей и фрагментам любой из них. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность любой из SEQ ID NO: 1-10 или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10 или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 65% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10 или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 87% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодомам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения,

[illegible]

[76] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая на 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 1, которая кодирует полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%,

[illegible]

[77] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая включает

[illegible]

по меньшей мере на 92% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 93% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 94% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 96% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая на 100% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

[78] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который включает аминокислотную последовательность, состоит или по существу состоит из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 12-21 и 24, и полипептиды, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны любому из вышеперечисленных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид любой из SEQ ID NO: 12-21 и 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 60% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 и 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция

[illegible]

[illegible]

[80] В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, где нуклеотидная последовательность не содержит один или более, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или более или одиннадцать или более интронов гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-7 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-8 и 11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-77 и 80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-9 и 11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-78 и 80).

[81] В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, где нуклеотидная последовательность содержит один или более, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или более, или одиннадцать или более интронов (например, SEQ ID NO: 70-80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, один или более интронов соответствуют интронам гена LMNA дикого типа, например, человеческого гена LMNA дикого типа. В других вариантах осуществления изобретения, один или более интронов представляют собой синтетические интроны. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что нуклеотидная последовательность способна кодировать как ламин А, так и ламин С по механизму, зависящему от сплайсинга. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием зрелой мРНК, кодирующей ламин А и/или ламин С. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием более зрелой мРНК, кодирующей ламин С, чем зрелая мРНК, кодирующая ламин А. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием более зрелой мРНК, кодирующей ламин А, чем зрелая мРНК, кодирующая ламин С. В некоторых вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием приблизительно одинаковых уровней зрелой мРНК, кодирующей ламин А, и зрелой мРНК, кодирующей ламин С. В некоторых вариантах

осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидные последовательности, соответствующие интронам 8-11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидные последовательности, соответствующие интронам 9 и 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79). В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интрону 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79).

[82] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере один, если не все, эндогенные интроны человеческого гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты включает по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80), и не содержит по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интроны, соответствующие интронам 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80), и не содержит по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интроны, соответствующие интронам 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80), и не содержит ни одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, кислота включает интроны, соответствующие интронам 9-10 из человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79), и не содержит по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интроны, соответствующие интронам 9-10 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79), и не содержит ни одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интроны, соответствующие 9-10 интронам человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79), и не содержит ни одного интрона, соответствующего интронам 1-8 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-77 и 80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79), и не содержит по меньшей мере один интрон, соответствующий интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого

типа (например, SEQ ID NO: 79), и не содержит ни одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота содержит интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79), и не содержит ни одного интрона, соответствующего интронам 1-9 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-78 и 80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 8 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 77, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 9 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 78, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 79, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 11 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 80, или ее фрагмент.

[83] В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 8 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 9 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит

нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интроны 9 и 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интроны 8, 9, 10 и 11 гена LMNA дикого типа.

[84] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая включает последовательность нуклеиновой кислоты, состоит или состоит по существу из последовательности нуклеиновой кислоты любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, и последовательностей нуклеиновых кислот, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны одной или более из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80 или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 65% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична любой одной или более

[illegible]

[illegible]

[86] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вариант содержит конструкцию нуклеиновой кислоты, включающую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 1, которая кодирует полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вариант содержит конструкцию нуклеиновой кислоты, включающую нуклеотидную последовательность, которая по

[illegible]

[illegible]

NO: 12, 13 или 21.

[87] Специалисту в данной области понятно что, последовательности нуклеиновых кислот, комплементарные нуклеиновым кислотам, и варианты нуклеиновых кислот также входят в объем настоящего изобретения. Последовательности нуклеиновой кислоты могут быть одноцепочечными (кодирующими или антисмысловыми) или двухцепочечными и могут представлять собой молекулы ДНК (геномные или синтетические), кДНК или РНК. Молекулы РНК включают молекулы мРНК. Дополнительные кодирующие или не кодирующие последовательности могут, но необязательно, присутствовать в последовательности нуклеиновой кислоты согласно изобретению, и последовательность нуклеиновой кислоты может быть, но необязательно, связана с другими молекулами и/или материалами-носителями. В других вариантах осуществления изобретения, последовательности нуклеиновых кислот согласно изобретению могут быть выделенными, рекомбинантными и/или присоединенными к гетерологичной нуклеотидной последовательностью. В некоторых вариантах осуществления изобретения, любые описанные здесь нуклеотиды (например, SEQ ID NO: 1-10 или их варианты или фрагменты) являются оптимизированными по кодонам (например, оптимизированными по кодонам для экспрессии у человека). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует биологически активный полипептид ламина А и/или ламина С, имеющий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных замен, делеций и/или добавлений по сравнению с полипептидом дикого типа (например, полипептидом, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, 13 или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует биологически активный полипептид ламина А и/или ламина С, имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных делеций по сравнению с полипептидом дикого типа (например, полипептидом, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, 13 или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует биологически активный полипептид ламина А и/или ламина С, имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен по сравнению с полипептидом дикого типа (например, полипептидом, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, 13 или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген кодирует биологически активный полипептид ламина А и/или ламина С, имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных инсерций по сравнению с полипептидом дикого типа (например, полипептидом, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, 13 или 21).

[88] Специалистам в данной области будет очевидно, что в результате вырожденности генетического кода существует множество нуклеотидных последовательностей, которые кодируют полипептид, как описано в настоящей заявке. Некоторые из этих полинуклеотидов имеют минимальную гомологию с нуклеотидной последовательностью любого нативного гена. Тем не менее, полинуклеотиды, которые варьируются из-за различий в использовании кодонов, конкретно рассматриваются в

настоящей заявке (то есть, оптимизированный по кодонам). Так, например, ряд аминокислот обозначается более, чем одним триплетом. Кодоны, которые определяют одну и ту же аминокислоту или являются синонимичными (например, CAU и CAC являются синонимичными гистидину), могут давать «молчащие» мутации, которые не влияют на аминокислотную последовательность белка. Специалисту в данной области очевидно, что эти изменения в одном или более нуклеотидах (приблизительно до 3-5% нуклеотидов) нуклеиновых кислот, кодирующих конкретный белок, могут существовать наряду с представителями данного вида из-за природных аллельных вариаций. Любые и все такие нуклеотидные вариации и образующиеся в результате аминокислотные полиморфизмы входят в объем настоящего изобретения. Кроме того, аллели генов, содержащих описанные здесь полинуклеотидные последовательности, входят в объем настоящего изобретения. Аллели представляют собой эндогенные гены, которые изменяются в результате одной или более мутаций, таких как делеции, добавления и/или замены нуклеотидов. Полученные мРНК и белок могут, но необязательно, иметь измененную структуру или функцию. Аллели могут быть идентифицированы стандартными методами (такими как гибридизация, амплификация и/или сравнение последовательностей в базе данных).

[89] Нуклеиновые кислоты/полинуклеотиды согласно изобретению могут быть получены с использованием химического синтеза, рекомбинантных методов или ПЦР. Методы химического синтеза полинуклеотидов хорошо известны специалистам в данной области, а поэтому подробно здесь не описаны. Специалист в данной области может использовать описанные здесь последовательности и коммерчески доступный синтезатор ДНК для получения нужной последовательности ДНК. В других вариантах осуществления изобретения, нуклеиновые кислоты согласно изобретению также включают нуклеотидные последовательности, которые гибридизуются в условиях высокой жесткости с любой из нуклеотидных последовательностей, представленных в любой из SEQ ID NO: 1-10 (или их вариантов или фрагментов), или с комплементарными им последовательностями. Специалисту в данной области совершенно очевидно, что соответствующие условия жесткости, которые способствуют гибридизации ДНК, могут варьироваться. Так, например, может быть осуществлена гибридизация в присутствии $6,0 \times$ хлорида натрия/цитрата натрия (SSC) при температуре приблизительно 45°C с последующей промывкой $2,0 \times$ SSC при 50°C . Так, например, концентрация соли на стадии промывки может быть выбрана из концентрации в условиях от низкой жесткости приблизительно при $2,0 \times$ SSC при 50°C до высокой жесткости приблизительно при $0,2 \times$ SSC при 50°C . Кроме того, температура на стадии промывки может быть повышена от температуры в условиях низкой жесткости, то есть, от комнатной температуры, приблизительно 22°C , до температуры в условиях высокой жесткости, то есть, приблизительно до 65°C . Температуры и соли могут варьироваться, либо температура или концентрация соли могут поддерживаться постоянными, в то время как другие параметры могут изменяться. В одном своем варианте, настоящее изобретение относится к нуклеиновым кислотам,

которые гибридизуются в условиях низкой жесткости: при $6 \times \text{SSC}$ при комнатной температуре с последующей промывкой при $2 \times \text{SSC}$ при комнатной температуре.

[90] Как описано в настоящей заявке, любые раскрытые здесь трансгены LMNA или их фрагменты (например, ген, кодирующий ламин А и/или ламин С), могут быть использованы для коррекции или снижения дефицита генов, где такой дефицит может заключаться в том, что нормальные продукты варианта гена LMNA экспрессируются на уровнях ниже нормы, или в том, что функциональные варианты вообще не экспрессируются. В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность трансгена кодирует одну изоформу LMNA или ее биологически активный фрагмент. Настоящее изобретение также включает использование множества трансгенов, например, двух или более трансгенов, кодирующих две или более изоформ LMNA или их биологически активных фрагменты. В конкретном варианте осуществления изобретения, различные изоформы LMNA (например, ламин А и/или ламин С или их биологически активные фрагменты или варианты) могут кодироваться одним и тем же трансгеном посредством альтернативного сплайсинга одной нуклеотидной последовательности. В определенных случаях, различные трансгены могут быть использованы для кодирования различных изоформ LMNA или их биологически активных фрагментов (например, ламин А и/или ламин С, или их биологически активных фрагментов или вариантов). Альтернативно, несколько различных изоформ LMNA (например, ламин А и/или ламин С или их биологически активные фрагменты или варианты) могут кодироваться одним и тем же трансгеном. В некоторых вариантах осуществления изобретения, один трансген включает ДНК, кодирующую множество изоформ LMNA (например, ламин А и ламин С или их биологически активных фрагментов или вариантов), где ДНК для каждого белка или его функционального фрагмента разделены одним или более внутренними сайтами связывания с рибосомой (IRES) или саморасщепляющимися пептидами 2А. В некоторых вариантах осуществления изобретения, это желательно в том случае, когда общий размер ДНК, кодирующей субъединицы и IRES, составляет менее, чем пять тысяч пар оснований. В качестве альтернативы IRES, ДНК может быть разделена одной или более последовательностями, кодирующими пептид 2А, который саморасщепляется в результате посттрансляционного события. См., например, MX. Donnelly et al., J. Gen. Virol, 78 (Pt 1): 13-21 (Jan 1997); Furler S. et al., Gene Ther., 8 (11): 864-873 (June 2001); Klump X. et al., Gene Ther., 8 (10): 811-817 (May 2001). Этот пептид 2А значительно меньше, чем IRES, что делает его наиболее подходящим для использования в том случае, если ограничивающим фактором является пространство. В некоторых вариантах осуществления изобретения, один или более саморасщепляющихся пептидов 2А выбраны из группы, состоящей из T2A, P2A, E2A и F2A.

2. Регуляторные элементы

[91] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытые здесь конструкции ламин А и/или ламин С являются частью конструкции нуклеиновой

кислоты, содержащей один или более регуляторных элементов в дополнение к последовательности ламина А и/или ламина С. В репрезентативных вариантах осуществления изобретения, раскрытые здесь конструкции ламина А и/или ламина С являются частью конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей промотор, расположенный выше конструкции ламина А и/или ламина С, так, что она способна регулировать экспрессию последовательности ламина А и/или ламина С в клетке.

[92] В одном варианте осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты включает промотор, содержащий последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 30-69 или 100-102 (как показано ниже в Таблицах 3 и 4). В одном варианте осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты включает промотор, имеющий любую из SEQ ID NO: 30-69 или 100-102 (как показано ниже в Таблицах 3 и 4), функционально связанных с любой из раскрытых здесь последовательностей ламина А и/или ламина С, например с последовательностями ламина А и/или ламина С, содержащими любую из SEQ ID NO: 1-5 (как показано ниже в таблице 1) или ее функциональный фрагмент. В одном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты включает промотор, содержащий последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO 102. В одном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты содержит промотор, имеющий последовательность SEQ ID NO: 102. В другом варианте осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты включает регуляторный элемент, имеющий комбинацию из двух или более (например, двух или более, трех или более, четырех или более, пяти или более, или 2, 3, 4 или 5) из любых из SEQ ID NO: 30-69 или 100-102 (как показано ниже в Таблицах 3 и 4), функционально связанных с любой из раскрытых здесь последовательностей ламина А и/или ламина С, например, с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей любую из SEQ ID NO: 1-5 (как показано ниже в Таблице 1) или его функциональный фрагмент.

[93] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит промотор, имеющий любую из SEQ ID NO: 30-69 или 100-102 (как показано ниже в Таблицах 3 и 4), функционально связанных с любой из раскрытых здесь последовательностей ламина А и/или ламина С, например, с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей любую из SEQ ID NO: 1-5 (как показано ниже в Таблице 1) или ее функциональный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, промоторная последовательность дает по меньшей мере 5-кратное, 10-кратное, 15-кратное, 20-кратное, 25-кратное, 30-кратное, 35-кратное, 40-кратное, 45-кратное, 50-кратное, 55-кратное, 60-кратное, 65-кратное, 70-кратное или 75-кратное, или по меньшей мере 20-90-кратное, 20-80-кратное, 20-70-кратное, 20-60-кратное, 30-90-кратное, 30-80-кратное, 30-70-кратное, 30-60-кратное, 40-90-кратное, 40-80-кратное, 40-70-кратное, 40-60-кратное, 50-90-кратное, 50-80-кратное, 50-70-кратное,

50-60-кратное, 60-90-кратное, 60-80-кратное, 60-70-кратное, 70-90-кратное, 70-80-кратное, 80-90-кратное увеличение уровня экспрессии последовательности ламина А и/или ламина С в клетках млекопитающих по сравнению с уровнем экспрессии той же самой последовательности ламина А и/или ламина С из промотора CMV в клетке млекопитающих того же типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, промоторная последовательность индуцирует экспрессию последовательности ламина А и/или ламина С у большого процента кардиомиоцитов, например, по меньшей мере, у 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или более или по меньшей мере у 20-90%, 20-80%, 20-70%, 30-90%, 30-80%, 30-70%, 40-90%, 40-80%, 40-70%, 50-90%, 50-80%, 50-70%, 60-90%, 60-80%, 60-70%, 70-90%, 70-80%, 80-100%, 80-95%, 80-90%, 90-100% или 90-95% кардиомиоцитов, содержащих конструкцию нуклеиновой кислоты, экспрессирующую конструкцию ламина А и/или ламина С. В некоторых вариантах осуществления изобретения, промоторная последовательность индуцирует экспрессию последовательности ламина А и/или ламина С у большого процента гепатоцитов, например, по меньшей мере, у 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или более или по меньшей мере у 20-90%, 20-80%, 20-70%, 30-90%, 30-80%, 30-70%, 40-90%, 40-80%, 40-70%, 50-90%, 50-80%, 50-70%, 60-90%, 60-80%, 60-70%, 70-90%, 70-80%, 80-100%, 80-95%, 80-90%, 90-100% или 90-95% гепатоцитов, содержащих конструкцию нуклеиновой кислоты, экспрессирующую конструкцию ламина А и/или ламина С.

[94] В одном варианте осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит промотор, имеющий любую из SEQ ID NO: 30-69 или 100-102, функционально связанных с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) любую из SEQ ID NO: 1-5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[95] В одном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 33, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) любую из SEQ ID NO: 1-5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%,

65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[96] В одном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 44, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) любую из SEQ ID NO: 1-5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[97] В одном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 35, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) любую из SEQ ID NO: 1-5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[98] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO:

44, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) SEQ ID NO: 3, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 3 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[99] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 44, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) SEQ ID NO: 4, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 4 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[100] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 44, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) SEQ ID NO: 5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[101] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 35, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) SEQ ID NO: 3, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 3 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[102] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 35, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) SEQ ID NO: 4, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 4 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[103] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты согласно изобретению содержит промотор, имеющий SEQ ID NO: 35, функционально связанную с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) SEQ ID NO: 5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует

полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[104] В одном варианте осуществления изобретения, описанная здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит промотор, выбранный из группы, состоящей из промотора цитомегаловируса (CMV), промотора куриного β -актина (CBA), энхансера CMV, расположенного перед промотором CBA (например, SEQ ID NO: 61), промотора, расположенного выше последовательности сердцевины (SCP), промотора SerpE_TTR (например, SEQ ID NO: 63), промотора Proto1 (например, SEQ ID NO: 64), минимального промотора CMV (minCMV), гибридного печень-специфического промотора, полученного из Колледжа при Лондонском Университете (UCL-HLP), энхансера CMV (CMVe), раннего энхансера CMV/промотора CBA (CAG), промотора Myh6, промотора десмина, промотора сердечного тропонина Т (cTnT), промотора тяжелой цепи альфа-миозина (α -MHC), промотора легкой цепи миозина 2 (MLC-2), SEQ ID NO: 102, и короткого промотора EF1 α (EFS), функционально связанного с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) любую из SEQ ID NO: 1-5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и 21. В одном варианте осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит промотор, имеющий любую из SEQ ID NO: 30-58 или 100-102, функционально связанных с последовательностью ламина А и/или ламина С, содержащей (i) любую из SEQ ID NO: 1-5, (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5 или (iii) функциональный фрагмент любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С представляет собой последовательность, которая кодирует белок, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности белка ламина А и/или ламина С дикого типа (например, SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, такие последовательности ламина А и/или ламина С могут содержать (i) любую из SEQ ID NO: 1-5 или (ii) последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5, где такая последовательность ламина А и/или ламина С кодирует

полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[105] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность ламина А и/или ламина С, которая была усечена так, чтобы она кодировала функциональный фрагмент белка ламина А и/или ламина С. Репрезентативные усеченные нуклеотидные последовательности ламина А и/или ламина С могут включать последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5, где такая нуклеотидная последовательность ламина А и/или ламина С кодирует функциональный фрагмент ламина А и/или ламина С. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытая здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит вариант нуклеотидной последовательности ламина А и/или ламина С, которая была усечена так, чтобы она кодировала функциональный фрагмент белка ламина А и/или ламина С. Репрезентативные усеченные нуклеотидные последовательности ламина А и/или ламина С могут включать последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 1-5, где такой усеченный вариант нуклеотидной последовательности ламина А и/или ламина С кодирует функциональный фрагмент белка ламина А и/или ламина С.

[106] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытые здесь конструкции нуклеиновых кислот содержат еще один регуляторный элемент в дополнение к промотору, такой как, например, последовательности, ассоциированные с инициацией или терминацией транскрипции, энхансерные последовательности и эффективные сигналы процессинга РНК. Примеры регуляторных элементов включают, например, интрон, энхансер, UTR, элемент стабильности, последовательность WPRE, консенсусную последовательность Козака, элемент посттрансляционного ответа или последовательность полиаденилирования (polyA) или их комбинацию. Регуляторные элементы могут функционировать так, чтобы они модулировали экспрессию генов на фазе транскрипции, посттранскрипционной фазе или на фазе трансляции экспрессии генов. В случае РНК, регуляция может происходить на уровне трансляции (например, посредством элементов стабильности, которые стабилизируют мРНК для трансляции), расщепления РНК, сплайсинга РНК и/или терминации транскрипции. В различных вариантах осуществления изобретения, регуляторные элементы могут осуществлять рекрутинг факторов транскрипции в кодирующую область, которые повышают селективность экспрессии генов в клетке представляющего интерес типа, увеличивают скорость продуцирования транскриптов РНК, повышают стабильность продуцируемой РНК и/или увеличивают скорость синтеза белка из транскриптов РНК.

[107] В одном варианте осуществления изобретения, описанные здесь конструкции нуклеиновой кислоты дополнительно содержат энхансерную последовательность.

Примеры энхансерных последовательностей включают, например, энхансер En34 (коровый энхансер длиной в 34 п.о. от регуляторной области аполипопротеина печени человека), энхансер EnTTR (энхансерную последовательность в 100 п.о. от транстиретины), энхансер-предшественник α 1-микроглобулина/бикунина, энхансер ABPS (усеченный вариант дистального энхансера 100 п.о. от предшественника α 1-микроглобулина/бикунина до 42 п.о.) или энхансер ApoE. См., например, WO 2018/126116 и Wu et al., *Mol Therapy* 16 (2): 280-289 (2008)). В другом варианте осуществления изобретения, подходящая последовательность энхансера представляет собой интронную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления изобретения, энхансерная последовательность расположена выше трансгена и промотора или между промотором и трансгеном в описанных здесь конструкциях нуклеиновых кислот.

[108] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь конструкции нуклеиновых кислот дополнительно содержат последовательность polyA. Подходящие последовательности polyA включают, например, искусственный polyA длиной приблизительно 75 п.о. (PA75) (см., например, WO 2018/126116), polyA бычьего гормона роста, ранний сигнал polyA SV40, поздний сигнал polyA SV40, polyA бета-глобина кролика, polyA тимидинкиназы HSV, polyA гена протамина, polyA аденовируса 5 E1b, polyA гормона роста или polyA PBGD. В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность polyA расположена ниже трансгена в описанных здесь конструкциях нуклеиновых кислот.

[109] В некоторых вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент, подходящий для использования в соответствии с описанными здесь молекулами нуклеиновой кислоты, включает менее, чем 900 п.о., 850 п.о., 800 п.о., 750 п.о., 700 п.о., 650 п.о., 600 п.о., 550 п.о., 500 п.о., 450 п.о., 400 п.о., 350 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 225 п.о., 200 п.о., 175 п.о., 150 п.о., 145 п.о., 140 п.о., 135 п.о., 130 п.о., 125 п.о., 120 п.о., 115 п.о., 110 п.о., 105 п.о., 100 п.о., 95 п.о., 90 п.о., 85 п.о., 80 п.о. или 75 п.о., или приблизительно 80-300 п.о., 80-275 п.о., 80-250 п.о., 80-200 п.о., 80-150 п.о., 80-125 п.о., 80-120 п.о., 80-115 п.о., 80-110 п.о., 80-105 п.о., 80-100 п.о., 85-300 п.о., 85-275 п.о., 85-250 п.о., 85-200 п.о., 85-150 п.о., 85-125 п.о., 85-120 п.о., 85-115 п.о., 85-110 п.о., 85-105 п.о., 85-100 п.о., 90-300 п.о., 90-275 п.о., 90-250 п.о., 90-200 п.о., 90-150 п.о., 90-125 п.о., 90-120 п.о., 90-115 п.о., 90-110 п.о., 90-105 п.о., 90-100 п.о., 95-300 п.о., 95-275 п.о., 95-250 п.о., 95-200 п.о., 95-150 п.о., 95-125 п.о., 95-120 п.о., 95-115 п.о., 95-110 п.о., 95-105 п.о., 95-100 п.о., 100-300 п.о., 100-275 п.о., 100-250 п.о., 100-200 п.о., 100-150 п.о., 100-125 п.о., 100-120 п.о., 100-115 п.о., 100-110 п.о. или 100-105 п.о. В репрезентативных вариантах осуществления изобретения, регуляторный элемент, подходящий для использования в соответствии с описанными здесь молекулами нуклеиновой кислоты, включает приблизительно 100-120 п.о., приблизительно 117 п.о. или приблизительно 100 п.о.

[110] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанная здесь конструкция нуклеиновой кислоты, содержащая последовательность нуклеиновой

кислоты ламина А и/или ламина С и регуляторный элемент, является подходящей для упаковки в векторе AAV, например, содержащем менее, чем ~4,7 т.п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанная здесь конструкция нуклеиновой кислоты содержит последовательность нуклеиновой кислоты ламина А и/или ламина С и регуляторный элемент, имеющий приблизительно 4450-4550 п.о., 4450-4540 п.о., 4450-4530 п.о., 4450-4520 п.о., 4450-4510 п.о., 4450-4500 п.о., 4460-4550 п.о., 4460-4540 п.о., 4460-4530 п.о., 4460-4520 п.о., 4460-4510 п.о., 4460-4500 п.о., 4470-4550 п.о., 4470-4540 п.о., 4470-4530 п.о., 4470-4520 п.о., 4470-4510 п.о., 4470-4500 п.о., 4480-4550 п.о., 4480-4540 п.о., 4480-4530 п.о., 4480-4520 п.о., 4480-4510 п.о., 4480-4500 п.о., 4490-4550 п.о., 4490-4540 п.о., 4490-4530 п.о., 4490-4520 п.о., 4490-4510 п.о. или 4490-4500 п.о., или приблизительно 4498 п.о. или приблизительно 4515 п.о. В репрезентативных вариантах осуществления изобретения, такие конструкции нуклеиновых кислот кодируют полноразмерный белок ламина А и/или ламина С, например, белок ламина А и/или ламина С, имеющий одну или более из SEQ ID NO: 12, 13 и/или 21.

[111] В другом варианте осуществления изобретения, используемые здесь трансгены включают репортерные последовательности, которые при экспрессии дают детектируемый сигнал. Такие репортерные последовательности включают, но не ограничиваются ими, последовательности ДНК, кодирующие β -лактамазу, β -галактозидазу (LacZ), щелочную фосфатазу, тимидинкиназу, зеленый флуоресцентный белок (GFP), красный флуоресцентный белок (RFP), хлорамфениколацетилтрансферазу (CAT), люциферазу, мембраносвязанные белки, включая, например, CD2, CD4, CD8, белок гемагглютинирина вируса гриппа и другие репортерные последовательности, которые хорошо известны специалистам в данной области, и для которых продуцируются антитела с высокой аффинностью, или которые могут быть получены обычными способами, и слитые белки, содержащие мембраносвязанный белок, соответствующим образом присоединенный к доменам антигенной метки, которыми являются, среди прочих, гемагглютинин или Мус. Эти кодирующие последовательности, если они связаны с регуляторными элементами, которые индуцируют их экспрессию, обеспечивают сигналы, обнаруживаемые обычными способами, включая ферментные, радиографические, колориметрические, флуоресцентные или другие спектрографические анализы, анализы методом клеточного сортирования с активацией флуоресценции и иммунологические анализы, включая твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (РИА) и иммуногистохимический анализ. Так, например, если маркерной последовательностью является ген LacZ, то присутствие вектора, несущего сигнал, детектируют с помощью анализа на бета-галактозидазную активность. Если трансген представляет собой зеленый флуоресцентный белок или люциферазу, то вектор, несущий сигнал, может быть оценен визуально по цвету или световому излучению в люминометре.

D. Экспрессионные векторы

[112] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь нуклеотидные последовательности ламина А и/или ламина С или экспрессионные

конструкции могут быть включены в экспрессионный вектор.

[113] Экспрессионные векторы могут быть использованы для доставки молекулы нуклеиновой кислоты в клетку-мишень посредством трансфекции или трансдукции. Вектор может представлять собой интегрирующий или неинтегрирующий вектор, что указывает на способности вектора интегрировать экспрессионный кластер или трансген в геном клетки-хозяина. Примерами экспрессионных векторов являются, но не ограничиваются ими, (а) невирусные векторы, такие как векторы на основе нуклеиновых кислот, включающие линейные олигонуклеотиды и кольцевые плазмиды; искусственные хромосомы, такие как искусственные хромосомы человека (НАС), дрожжевые искусственные хромосомы (YAC) и бактериальные искусственные хромосомы (BAC или PAC)); эписомные векторы; транспозоны (например, PiggyBac); и (b) вирусные векторы, такие как ретровирусные векторы, лентивирусные векторы, аденовирусные векторы и аденоассоциированные вирусные векторы.

[114] Экспрессионные векторы могут представлять собой линейные олигонуклеотиды или кольцевые плазмиды и могут быть доставлены в клетку с использованием различных методов трансфекции, включая физические и химические методы. Физические методы обычно относятся к методам доставки под действием физической силы для противодействия барьеру клеточной мембраны в целях облегчения внутриклеточной доставки генетического материала. Примерами физических методов являются использование иглы, баллистической ДНК, электропорации, сонопорации, фотопорации, магнитофекции и гидропорации. Химическими методами обычно являются методы, в которых химические носители доставляют молекулу нуклеиновой кислоты в клетку и могут включать неорганические частицы, векторы на основе липидов, векторы на основе полимеров и векторы на основе пептидов.

[115] В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор вводят в клетку-мишень с использованием неорганической частицы. Неорганические частицы могут представлять собой наночастицы, такие как наночастицы, которые были сконструированы так, чтобы они имели различные размеры, формы и/или пористость для выхода из ретикулоэндотелиальной системы или для защиты захваченной молекулы от разложения. Неорганические наночастицы могут быть получены из металлов (например, железа, золота и серебра), неорганических солей или керамики (например, фосфатных или карбонатных солей кальция, магния или кремния). Поверхность этих наночастиц может иметь покрытие, нанесенное для облегчения связывания ДНК или целевой доставки генов. Также могут быть использованы магнитные наночастицы (например, супермагнитный оксид железа), фуллерены (например, молекулы растворимого углерода), углеродные нанотрубки (например, цилиндрические фуллерены), квантовые точки и надмолекулярные системы.

[116] В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор вводят в клетку-мишень с использованием катионного липида (например, катионной липосомы). Для доставки генов были исследованы различные типы липидов, такие как,

например, липидная наноэмульсия (например, которая представляет собой дисперсию одной несмешивающейся жидкости в другой жидкости, стабилизированной эмульгирующим агентом) или твердая липидная наночастица.

[117] В некоторых вариантах осуществления изобретения, любой из описанных здесь экспрессионных векторов вводят в клетку-мишень с использованием носителя для доставки на основе пептида. Носители для доставки на основе пептидов могут иметь преимущества, заключающиеся в защите доставляемого генетического материала, в нацеливании на специфические клеточные рецепторы, в разрушении эндосомных мембран и в доставке генетического материала в ядро. В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор вводят в клетку-мишень с использованием носителя для доставки на основе полимера. Носители для доставки на основе полимеров могут включать природные белки, пептиды и/или полисахариды или синтетические полимеры. В одном варианте осуществления изобретения, носитель для доставки на основе полимера содержит полиэтиленимин (ПЭИ). ПЭИ может конденсировать ДНК в положительно заряженные частицы, которые связываются с анионными остатками поверхности клетки и попадают в клетку посредством эндоцитоза. В других вариантах осуществления изобретения, носитель для доставки на основе полимера может содержать поли-L-лизин (PLL), сополимер DL-молочной кислоты и PLA, сополимер DL-лактида и гликозида (PLGA), полиорнитин, полиаргинин, гистоны, протамины, дендримеры, хитозаны, синтетические аминопроизводные декстрана и/или катионные акриловые полимеры. В некоторых вариантах осуществления изобретения, носители для доставки на основе полимеров могут содержать смесь полимеров, такую как, например, ПЭГ и PLL.

[118] Настоящее изобретение относится к вирусным векторам, содержащим любую из раскрытых здесь конструкций нуклеиновых кислот и/или полинуклеотидных последовательностей. В конкретных вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептиды ламина А и ламина С; или биологически активные варианты и/или фрагменты любых из вышеперечисленных последовательностей. В конкретных вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (с) биологически активный фрагмент ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С; и/или их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А или его биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин С или его биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и ламин С или их биологически активные варианты и/или фрагменты.

[119] В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор может представлять собой вирусный вектор, подходящий для генотерапии. Предпочтительные свойства вирусных векторов для генотерапии или векторов для доставки генов могут включать способность к воспроизводимости и способность стабильно реплицироваться и очищаться до высоких титров; способность опосредовать нацеленную доставку (например, доставку трансгена в конкретные представляющие интерес ткани или органы без широкого распространения вектора в другой участок); и способность опосредовать доставку гена и экспрессию трансгена, без индуцирования негативных побочных эффектов.

[120] Вирусы нескольких типов, например, непатогенный парвовирус, называемый аденоассоциированным вирусом, были сконструированы в целях проведения генотерапии по пути инфицирования вирусом, но без какой-либо последующей экспрессии вирусных генов, которая может приводить к репликации и токсичности. Такие вирусные векторы могут быть получены путем удаления всех или некоторых кодирующих областей из вирусного генома, но с сохранением интактных последовательностей (например, концевых повторяющихся последовательностей), которые могут быть необходимы для обеспечения таких функций, как упаковка векторного генома в вирусный капсид или интеграция векторной нуклеиновой кислоты (например, ДНК) в хроматин хозяина.

[121] В некоторых случаях, вирусный вектор содержит трансген, функционально связанный с одним или более регуляторными элементами, где трансген кодирует ламин А, ламин С, ламин А и ламин С, или их оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептиды ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин С или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и ламин С, или их биологически активные варианты и/или фрагменты.

[122] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 81-93) и интроны 8-11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 81-93) и интроны 9 и 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 81-93) и интрон 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79).

[123] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая включает последовательность нуклеиновой кислоты, состоит или по существу состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой одной или более из SEQ ID NO: 1-10, и последовательностей нуклеиновых кислот, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 65% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 87% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична любой из SEQ ID NO: 1-10, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 91% идентична любой из SEQ ID NO: 1-

нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 7, которая кодирует полипептидную последовательность SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 3, которая кодирует полипептидную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12, 13 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 4, которая кодирует полипептидную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12, 13 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 5, которая кодирует полипептидную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12, 13 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 8, которая кодирует полипептидную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12, 13 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 9, которая кодирует полипептидную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12, 13 или 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 10, которая кодирует полипептидную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12, 13 или 21.

[125] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая включает последовательность нуклеиновой кислоты, состоит или по существу состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 3-5, и последовательностей нуклеиновой кислоты, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность любой из SEQ ID NO: 3-5 или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах

[illegible]

последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 96% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая на 100% идентична любой из SEQ ID NO: 3-5, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

[126] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который включает аминокислотную последовательность, состоит или по существу состоит из аминокислотной последовательности любой одной или более из SEQ ID NO: 12-21 и 24, и полипептиды, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны любой из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 60% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 65% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 70% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 75% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты

[illegible]

последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 97% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 98% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который по меньшей мере на 99% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который на 100% идентичен любой из SEQ ID NO: 12-21 или 24, или его биологически активные варианты и/или фрагменты.

[127] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, который включает аминокислотную последовательность, состоит или по существу состоит из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 12, или ее биологически активных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, который включает аминокислотную последовательность, состоит или по существу состоит из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 21, или ее биологически активных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин С, который включает аминокислотную последовательность, состоит или по существу состоит из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 13, или ее биологически активных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 12, или его биологически активные фрагменты, а также кодирующую ламин С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 13, или его биологически активные фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную

последовательность, кодирующую ламин А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 21, или его биологически активные фрагменты, а также кодирующую ламин С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 13, или его биологически активные фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, который включает аминокислотную последовательность, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, который включает аминокислотную последовательность, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин С, который включает аминокислотную последовательность, состоит или состоит по существу из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и ламин С, которые включают аминокислотную последовательность, состоят или состоят по существу из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12 и/или 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и ламин С, которые включают аминокислотную последовательность, состоят или состоят по существу из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21 и/или 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и также кодирующую ламин С, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, а также кодирующую ламин С, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13.

[128] В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, где нуклеотидная последовательность не содержит одного или более, двух или более, трех или более, четырех или более, пяти или более, шести или более, семи или более, восьми или более, девяти или более, десяти или более или одиннадцати или более интронов гена LMNA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-7 гена LMNA

дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-76). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-8 и 11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-77 и 80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-9 и 11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-78 и 80).

[129] В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, где нуклеотидная последовательность включает один или более, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или более, или одиннадцать или более интронов (например, любую одну или комбинацию SEQ ID NO: 70-80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, один или более интронов соответствуют интронам гена LMNA дикого типа, например, человеческого гена LMNA дикого типа. В других вариантах осуществления изобретения, один или более интронов представляют собой синтетические интроны. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в нуклеотидной последовательности в вирусном векторе так, что он способен кодировать как ламин А, так и ламин С по механизму, зависящему от сплайсинга. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты таким образом, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием зрелой мРНК, кодирующей ламин А и/или ламин С. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием более зрелой мРНК, кодирующей ламин С, чем зрелая мРНК, кодирующая ламин А. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с получением приблизительно одинаковых уровней зрелой мРНК, кодирующей ламин А, и зрелой мРНК, кодирующей ламин С. В конкретных вариантах осуществления изобретения, один или более интронов расположены в конструкции нуклеиновой кислоты так, что пре-мРНК подвергается альтернативному сплайсингу с образованием более зрелой мРНК, кодирующей ламин А, чем зрелая мРНК, кодирующая ламин С. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 8-11 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 77-80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 9 и 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 78 и 79). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интрону 10 гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79).

[illegible]

вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, содержащую интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 79), и не содержащую ни одного интрона, соответствующего интронам 1-9 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа (например, SEQ ID NO: 70-78 и 80). В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 8 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 77, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 9 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 78, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 10 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 79, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, интрон, соответствующий интрону 11 человеческого гена LMNA дикого типа, содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 80, или ее фрагмент.

[131] В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 8 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 9 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интрон 11 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интроны 9 и 10 гена LMNA дикого типа. В некоторых случаях, вирусный вектор

содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую ламин А (или его биологически активный фрагмент или вариант) и/или ламин С (или его биологически активный фрагмент или вариант), где нуклеотидная последовательность включает интроны 8, 9, 10 и 11 гена LMNA дикого типа.

[132] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая включает последовательность нуклеиновой кислоты, состоит или по существу состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80 и последовательностей нуклеиновых кислот, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны любой одной или более из вышеперечисленных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность любой из SEQ ID NO: 77-80 или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 60% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80 или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 65% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 87% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична любой

одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 91% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 92% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 93% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 94% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 96% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит нуклеотидную последовательность, которая на 100% идентична любой одной или более из SEQ ID NO: 77-80, или ее биологически активный вариант и/или фрагмент.

[133] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь вирусные векторы дополнительно содержат последовательность полиаденилирования (polyA). Подходящие последовательности polyA включают, например, искусственную polyA длиной приблизительно 75 п.о. (PA75) (см., например, WO 2018/126116), polyA бычьего гормона роста, сигнал polyA раннего SV40, сигнал polyA позднего SV40, polyA кроличьего бета-глобина, polyA тимидинкиназы HSV, polyA гена протамина, polyA аденовируса 5 E1b, polyA гормона роста или polyA PBGD. В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность polyA содержит или состоит из SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность polyA

расположена ниже трансгена в описанных здесь конструкциях нуклеиновых кислот.

Е. Вирусные векторы

[134] В различных вариантах осуществления изобретения, подходящими вирусными векторами являются ретровирусы (например, вирусы А-типа, В-типа, С-типа и D-типа), аденовирус, парвовирус (например, аденоассоциированные вирусы или AAV), коронавирус, вирусы с минус-цепью РНК, такие как ортомиксовирус (например, вирус гриппа), рабдовирус (например, вирус бешенства и вирус везикулярного стоматита), парамиксовирус (например, вирус кори и вирус Сендай), вирусы с плюс-цепью РНК, такие как пикорнавирусы и альфавирус, и вирусы с двухцепочечной ДНК, включая аденовирус, герпесвирус (например, вирус простого герпеса типа 1 и 2, вирус Эпштейна-Барра, цитомегаловирус) и поксвирус (например, вирус осповакцины, вирус оспы домашней птицы и канареек). Примерами ретровирусов являются вирус лейкоза-саркомы птиц, человеческий Т-лимфотрофный вирус типа 1 (HTLV-1), вирус лейкоза крупного рогатого скота (BLV), лентивирус и спумавирус. Другими вирусами являются, например, вирус Норуолк, тогавирус, флавивирус, реовирусы, паповавирус, гепаднавирус и, например, вирус гепатита. Вирусные векторы могут разделены на две группы в зависимости от их способности интегрироваться в геном хозяина, то есть, интегрирующие и неинтегрирующие вирусы. Онкоретровирусы и лентивирусы могут интегрироваться в хроматин клетки-хозяина, в то время как аденовирусы, аденоассоциированные вирусы и вирусы герпеса преимущественно сохраняются в ядре клетки в виде внехромосомных эписом.

[135] В некоторых вариантах осуществления изобретения, подходящий вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор. Ретровирусы относятся к вирусам семейства *Retroviridae*. Примерами ретровирусов являются онкоретровирусы, такие как вирус мышинного лейкоза (MLV), и лентивирусы, такие как вирус иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1). Ретровирусные геномы представляют собой одноцепочечные (оц) РНК и содержат различные гены, которые могут присутствовать в цис- или транс-ориентации. Так, например, ретровирусный геном может содержать цис-действующие последовательности, такие как два длинных концевых повтора (LTR) с элементами для экспрессии генов, обратной транскрипции и интеграции в хромосомы хозяина. Другими компонентами являются сигнал упаковки (пси или ψ) для специфической упаковки РНК во вновь образованные вирионы и полипуриновый путь (PPT), сайт инициации синтеза плюс-цепи ДНК во время обратной транскрипции. Кроме того, ретровирусный геном может содержать гены *gag*, *pol* и *env*. Ген *gag* кодирует структурные белки, ген *pol* кодирует ферменты, которые ассоциируются с оцРНК и осуществляют обратную транскрипцию вирусной РНК в ДНК, а ген *env* кодирует вирусную оболочку. Обычно, *gag*, *pol* и *env* присутствуют в транс-ориентации для репликации и упаковки вируса.

[136] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанный здесь ретровирусный вектор может быть лентивирусным вектором. Известны по меньшей мере пять серогрупп или серотипов лентивирусов. Вирусы различных серотипов могут по-

разному инфицировать клетки и/или хозяев определенных типов. Лентивирусами, например, являются ретровирусы приматов и ретровирусы не-приматов. Ретровирусами приматов являются ВИЧ и вирус иммунодефицита обезьян (SIV). Ретровирусами, не относящимися к приматам, являются вирус кошачьего иммунодефицита (FIV), вирус иммунодефицита крупного рогатого скота (BIV), вирус козьего артрита-энцефалита (CAEV), вирус инфекционной анемии лошадей (EIAV) и вирус висны. Лентивирусы или лентивекторы могут обладать способностью трансдуцировать покоящиеся клетки. Как и в случае онкоретровирусных векторов, конструкция лентивекторов может быть основана на разделении цис- и транс-действующих последовательностей.

[137] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к экспрессионным векторам, которые были сконструированы для доставки с помощью оптимизированного терапевтического ретровирусного вектора. Ретровирусный вектор может представлять собой лентивирус, содержащий левый (5') LTR; последовательности, которые облегчают упаковку и/или импорт вируса в ядро; регуляторный элемент (такой как, например, промотор и/или энхансер, селективный для клеток определенных типов (например, кардиомиоцитов)), функционально связанный с последовательностью, кодирующей ламин А и/или ламин С; необязательно, один или более дополнительных регуляторных элементов (таких, как, например, последовательность polyA); необязательно, лентивирусный элемент обратного ответа (RRE); необязательно, изолятор; и правый (3') ретровирусный LTR.

[138] В репрезентативных вариантах осуществления изобретения, описанный здесь вирусный вектор представляет собой аденоассоциированный вирус (AAV). AAV представляет собой дефектный по репликации небольшой вирус животных без оболочки, который поражает человека и приматов некоторых других видов. Пока неизвестно, вызывает ли AAV заболевание у человека и индуцирует ли умеренный иммунный ответ. Векторы AAV также могут инфицировать как делящиеся, так и покоящиеся клетки, не встраиваясь в геном клетки-хозяина.

[139] Геном AAV состоит из линейной одноцепочечной ДНК длиной ~4,7 т.п.о. Геном состоит из двух открытых рамок считывания (ОРС), фланкированных последовательностями инвертированных концевых повторов (ITR), длина которых составляет приблизительно 145 п.о. ITR состоит из нуклеотидной последовательности у 5'-конца (5'-ITR) и нуклеотидной последовательности, расположенной у 3'-конца (3'-ITR), которые содержат палиндромные последовательности. ITR функционируют в цис-ориентации посредством их укладки с образованием Т-образных шпильчатых структур за счет спаривания комплементарных оснований, которые действуют как праймеры во время инициации репликации ДНК для синтеза второй цепи. Две открытые рамки считывания кодируют гены гер и сар, которые участвуют в репликации и упаковке вириона. В репрезентативном варианте осуществления изобретения, описанный здесь вектор AAV не содержит гены гер или сар. Такие гены могут присутствовать в транс-ориентации для продуцирования вирионов как более подробно описано ниже.

[140] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV может включать нуклеиновую кислоту в качестве носителя. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота-носитель может кодировать зеленый флуоресцентный белок или ген резистентности к антибиотикам, таким как канамицин или ампициллин. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеиновая кислота-носитель может быть расположена вне последовательностей ITR (например, по сравнению с последовательностью трансгена ламина А и/или ламина С и регуляторными последовательностями, которые расположены между 5'- и 3'-последовательностями ITR).

[141] Существуют различные серотипы AAV, включая AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12 и AAV13. Эти серотипы различаются по своему тропизму или типам клеток, которые они инфицируют. AAV могут включать геном и капсиды из множества серотипов (например, псевдотипов). Так, например, AAV может включать геном серотипа 2 (например, ITR), упакованный в капсид серотипа 5 или серотипа 9. Псевдотипы могут повышать эффективность трансдукции, а также изменять тропизм.

[142] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанный здесь вирусные векторы содержат как минимум инвертированные концевые повторы AAV (ITR) и трансген, кодирующий (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептиды ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь вирусные векторы содержат миниген, состоящий как минимум из инвертированных концевых повторов AAV (ITR) и трансгена, кодирующего (а) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (с) биологически активный фрагмент полипептида ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты. В одном конкретном варианте осуществления изобретения используются ITR AAV серотипа 6 или AAV серотипа 9. Однако, можно выбрать ITR других подходящих серотипов. Вирусный вектор упаковывают в капсидный белок и доставляют в выбранную клетку-хозяина. Векторы AAV согласно изобретению могут быть получены из множества аденоассоциированных вирусов. Тропизм вектора может быть изменен путем упаковки рекомбинантного генома одного серотипа в капсиды AAV другого серотипа. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ITR вируса гAAV могут быть получены на основе ITR любого из AAV1-12 и могут быть объединены с капсидом AAV, выбранным из любого из AAV1-12, AAV-DJ, AAV-DJ8, AAV-DJ9 или других модифицированных серотипов.

[143] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV или вирусная частица AAV или вирион могут быть использованы для доставки конструкции, содержащей регуляторный элемент, функционально связанный с последовательностью, кодирующей ламин А и/или ламин С, в клетку, в клетку определенного типа или ткань, и это может быть осуществлено *in vivo*, *ex vivo* или *in vitro*. В иллюстративных вариантах

осуществления изобретения, такой вектор AAV является дефицитным по репликации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирус AAV был сконструирован или генетически модифицирован так, чтобы он мог реплицироваться и генерировать вирионы только в присутствии вспомогательных факторов.

[144] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор может быть выбран для получения вириона, обладающего высокой инфекционностью без селективности по отношению к конкретному типу клеток, в то время как регуляторный элемент, селективный для кардиомиоцитов, обеспечивает селективную экспрессию трансгена в кардиомиоцитах, но не в других мышечных клетках, даже если эти другие мышечные клетки могут быть инфицированы вирусом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор может быть сконструирован для получения вириона, который инфицирует множество клеток различных типов, но экспрессия трансгена усиливается и/или оптимизируется в клетках представляющего интерес типа (например, в кардиомиоцитах), а экспрессия трансгена снижается и/или сводится к минимуму в клетках других типов, не являющихся мишенями (например, не являющихся кардиомиоцитами). Дифференциальную экспрессию трансгена в клетках различных типов можно регулировать, моделировать или модифицировать с использованием различных регуляторных элементов, которые являются селективными для клеток одного или более типов. В некоторых случаях, один или более регуляторных элементов, функционально связанных с трансгеном, усиливают селективную экспрессию трансгена в клетке-мишени, в клетке определенного типа или в ткани, в то время как один или более других регуляторных элементов подавляют экспрессию трансгена в клетках, не являющихся мишенями, в клетках определенных типов или в ткани, или обеспечивают значительно более низкую, минимальную или статистически более низкую экспрессию гена в клетках, не являющихся мишенями, в клетках определенных типов или в ткани. Для генотерапии может оказаться желательной селективная экспрессия трансгена в клетках-мишенях определенного типа (например, в кардиомиоцитах) и/или минимальная экспрессия трансгена в клетках определенного типа, не являющихся мишенями. Экспрессия трансгена в клетках определенного типа, не являющихся мишенями (например, в нецелевых клетках определенного типа), может вызывать негативный эффект у индивидуума. Экспрессия трансгена в нецелевых клетках определенного типа может негативно влиять на терапевтический эффект трансгена в клетках-мишенях определенного типа.

[145] В своих репрезентативных вариантах, настоящее изобретение относится к экспрессионным векторам, которые были сконструированы для доставки с помощью AAV. AAV может принадлежать к любому серотипу, например, AAV1, AAV2, AAV3, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV-DJ, или к химерному, гибричному AAV или к его варианту. AAV также может быть аутокомплементарным AAV (scAAV). В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV,

содержит 5'-ITR и 3'-ITR. В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, промотор, конструкцию, содержащую регуляторный элемент (такой как, например, промотор и/или энхансер, селективный к клеткам определенного типа (например, к кардиомиоцитам)), функционально связанный с последовательностью, кодирующей ламин А и/или ламин С, и 3'-ITR. В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, энхансер, промотор, конструкцию, содержащую регуляторный элемент (такой как, например, промотор и/или энхансер, селективный к клеткам определенного типа (например, к кардиомиоцитам)), функционально связанный с последовательностью, кодирующей ламин А и/или ламин С, последовательность polyA и 3'-ITR. В репрезентативных вариантах осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, регуляторный элемент, содержащий любую из SEQ ID NO: 30-69 или 100-102, или его вариант или функциональный фрагмент, последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С и 3'-ITR. В одном варианте осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, промотор, содержащий любую одну или более из SEQ ID NO: 31, 33, 60 или 61 или его вариант или функциональный фрагмент; последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, и 3'-ITR. В другом варианте осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, регуляторный элемент, содержащий SEQ ID NO: 31, или его вариант или функциональный фрагмент; последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, и 3'-ITR. В другом варианте осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, регуляторный элемент, содержащий SEQ ID NO: 33 или его вариант или функциональный фрагмент; последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, и 3'-ITR. В другом варианте осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, регуляторный элемент, содержащий SEQ ID NO: 60, или его вариант или функциональный фрагмент, последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, и 3'-ITR. В другом варианте осуществления изобретения, экспрессионный вектор, сконструированный для доставки с помощью AAV, содержит 5'-ITR, регуляторный элемент, содержащий SEQ ID NO: 61, или его вариант или функциональный фрагмент; последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, и 3'-ITR. Примеры экспрессионных векторов AAV проиллюстрированы на фигурах 1-5 и 11А-С.

Г. Вирусная частица

[146] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусным частицам, содержащим вирусный вектор, включающий нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламин А; (b) полипептид ламин С; (c) полипептиды ламин А и ламин С; или их биологически активные варианты и/или

фрагменты. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к вирусным частицам, содержащим вирусный вектор, включающий нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (с) биологически активный фрагмент полипептида ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С; или их биологически активные варианты и/или их фрагменты. Используемые здесь термины «вирусная частица» и «вирион» являются синонимами и означают инфекционную и обычно дефектную по репликации вирусную частицу, содержащую вирусный геном (например, вирусный экспрессионный вектор), упакованный внутри капсида и, в зависимости от ситуации, например, у ретровирусов, липидную оболочку, окружающую капсид. «Капсид» означает структуру, в которую упакован вирусный геном. Капсид состоит из нескольких олигомерных структурных субъединиц, состоящих из белков. Так, например, AAV имеет икосаэдрический капсид, образованный взаимодействием трех капсидных белков: VP1, VP2 и VP3. В одном варианте осуществления изобретения, описанный здесь вирион представляет собой рекомбинантный вирион AAV или вирион gAAV, полученный посредством упаковки вектора AAV, содержащего регуляторный элемент (включая, например, регуляторный элемент, селективный для клеток определенного типа (например, кардиомиоцитов)), функционально связанный с последовательностью, кодирующей описанные здесь ламин А и/или ламин С в белковой оболочке.

[147] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанный здесь рекомбинантный вирион AAV может быть получен путем инкапсидации генома AAV, принадлежащего к AAV конкретного серотипа, в вирусную частицу, образованную природными белками Сар, соответствующими AAV того же самого конкретного серотипа. В других вариантах осуществления изобретения, описанная здесь вирусная частица AAV включает вирусный вектор, содержащий ITR данного серотипа AAV, упакованный(е) в белки другого серотипа. См., например, Bunning H et al. *J. Gene Med.* 2008; 10: 717-733. Так, например, вирусный вектор, имеющий ITR данного серотипа AAV, может быть упакован: а) в вирусную частицу, состоящую из капсидных белков, происходящих от AAV того же самого или другого серотипа (например, ITR AAV2 и капсидных белков AAV9; ITR AAV2 и капсидных белков AAV8 и т.п.); b) в мозаичную вирусную частицу, состоящую из смеси капсидных белков различных серотипов или мутантов AAV (например, ITR AAV2 с капсидными белками AAV1 и AAV9); с) в химерную вирусную частицу, состоящую из капсидных белков, которые были усечены посредством перестановки доменов между AAV различных серотипов или вариантов (например, ITR AAV2 с капсидными белками AAV8 с доменами AAV9); или d) в вирусную частицу-мишень, сконструированную для представления селективно связывающихся доменов, обеспечивающих жесткое взаимодействие с рецепторами, специфичными для клетки-мишени (например, ITR AAV5 с капсидными белками AAV9, генетически усеченными путем встраивания пептидного лиганда; или с капсидными белками AAV9, которые не

были генетически модифицированы путем связывания пептидного лиганда с поверхностью капсида).

[148] Квалифицированному специалисту в данной области очевидно, что описанный здесь вирион AAV может содержать капсидные белки AAV любого серотипа. В одном варианте осуществления изобретения, вирусная частица содержит капсидные белки серотипа AAV, выбранного из группы, состоящей из AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8 и AAV9, которые являются более подходящими для доставки в миокард (M. Hocquemiller et al., *Hum Gene Ther* 27 (7): 478-496 (2016)). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит капсидные белки серотипа AAV6. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор содержит капсидные белки серотипа AAV9.

[149] Специалистам в данной области известно множество методов получения вирионов rAAV, включая трансфекцию, продуцирование стабильных клеточных линий и получение систем продуцирования инфекционных гибридных вирусов, которые включают гибриды аденовирус-AAV, гибриды герпесвирус-AAV (Conway, JE et al., (1997) *J. Virology* 71 (11): 8780-8789) и гибриды бакуловируса-AAV. Для всех культур, используемых для получения вирусных частиц rAAV, необходимы: 1) подходящие клетки-хозяева, включая, например, человеческие клеточные линии, такие как клетки HeLa, A549 или 293, или клеточные линии насекомых, такие как SF-9, в случае систем продуцирования бакуловирусов; 2) подходящий вирус-помощник, функция которого обеспечивается аденовирусом дикого типа или мутантным аденовирусом (таким как термочувствительный аденовирус), герпесвирусом, бакуловирусом или плазмидной конструкцией, обеспечивающей хелперные функции; 3) гены гер и сар AAV и их генные продукты; 4) трансген (например, последовательность, кодирующая ламин А и/или ламин С, как описано в настоящей заявке), фланкированный последовательностями ITR AAV; и 5) подходящие среды и компоненты сред для поддержания продуцирования rAAV.

[150] В различных вариантах осуществления изобретения, описанные здесь клетки-хозяева содержат следующие три компонента: (1) ген гер и ген сар, (2) гены, обеспечивающие хелперные функции, и (3) трансген (например, последовательность, кодирующую описанные здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR). Ген гер AAV, ген сар AAV и гены, обеспечивающие хелперные функции, могут быть введены в клетку путем включения указанных генов в вектор, такой как, например, плазмида, и введения указанного вектора в клетку-хозяина. Гены гер, сар и гены с хелперными функциями могут быть включены в одну и ту же плазмиду или в различные плазмиды. В предпочтительном варианте осуществления изобретения, гены гер и сар AAV включены в одну плазмиду, а гены, обеспечивающие хелперные функции, включены в другую плазмиду. Различные плазмиды для создания клетки-хозяина в целях продуцирования вирионов (например, содержащие гены гер и сар AAV, гены с хелперными функциями или трансген) могут быть введены в клетку с использованием любого подходящего метода, хорошо известного специалистам в данной области. Примеры методов трансфекции

включают, но не ограничиваются ими, копреципитацию фосфатом кальция, метод с использованием DEAE-декстрана и полибрена, электропорацию, микроинъекцию, опосредованное липосомами слияние, липофекцию, инфицирование ретровирусом и биобаллистическую трансфекцию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, плазмиды, обеспечивающие гены гер и сар, гены с хелперными функциями и трансген (например, последовательность, кодирующая описанные здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR), могут быть введены в клетку одновременно. В другом варианте осуществления изобретения, плазмиды, обеспечивающие гены гер и сар и хелперные функции, могут быть введены в клетку до или после введения плазмиды, содержащей трансген. В репрезентативном варианте осуществления изобретения, клетки одновременно трансфецируют тремя плазмидами (например, методом тройной трансфекции): (1) плазмидой, содержащей трансген (например, последовательностью, кодирующей описанный здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR), (2) плазмидой, содержащей гены гер и сар AAV, и (3) плазмидой, содержащей гены, обеспечивающие хелперные функции. Репрезентативными клетками-хозяевами могут быть клетки 293, A549 или HeLa.

[151] В других вариантах осуществления изобретения, один или более из (1) генов гер и сар AAV, (2) генов, обеспечивающих хелперные функции, и (3) трансгена, могут переноситься упаковывающей клеткой либо эписомально, либо посредством интеграции в геном упаковывающей клетки. В одном варианте осуществления изобретения, клетки-хозяева могут представлять собой упаковывающие клетки, в которых гены гер и сар AAV и гены с хелперными функциями стабильно поддерживаются в клетке-хозяине, и эту клетку-хозяина временно трансфецируют плазмидой, содержащей трансген (например, последовательность, кодирующую описанные здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR). В другом варианте осуществления изобретения, клетки-хозяева представляют собой упаковывающие клетки, в которых гены гер и сар AAV стабильно поддерживаются в клетке-хозяине, и эту клетку-хозяина временно трансфецируют плазмидой, содержащей трансген (например, последовательность, кодирующую описанные здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR), и плазмидой, обладающей хелперными функциями. В другом варианте осуществления изобретения, клетки-хозяева могут представлять собой упаковывающие клетки, в которых хелперные функции стабильно поддерживаются в клетке-хозяине, и эту клетку-хозяина временно трансфецируют плазмидой, содержащей трансген (например, последовательность, кодирующую описанные здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR), и плазмидой, содержащей гены гер и сар. В другом варианте осуществления изобретения, клетки-хозяева могут представлять собой линии клеток-продуцентов, которые стабильно трансфецируются генами гер и сар, генами с хелперными функциями и последовательностью трансгена (например, последовательность, кодирующей описанные здесь ламин А и/или ламин С, фланкированные ITR). Типичные упаковывающие клетки и клетки-продуценты могут происходить от клеток 293, A549 или

HeLa.

[152] В другом варианте осуществления изобретения, линия клеток-продуцентов представляет собой клеточную линию насекомых (обычно клетки Sf9), которые инфицированы бакуловирусными экспрессионными векторами, обеспечивающими белки Rep и Cap. Для этой системы не требуются хелперные гены аденовируса (Ayuso E, et al., *Curr. Gene Ther.* 2010, 10: 423-436).

[153] Используемый здесь термин «белок Cap» означает полипептид, обладающий по меньшей мере одной функциональной активностью нативного белка Cap AAV (например, VP1, VP2, VP3). Примерами функциональной активности белков Cap являются способность индуцировать образование капсида, облегчение аккумуляции одноцепочечной ДНК, облегчение упаковки ДНК AAV в капсиды (то есть, инкапсидацию), связывание с клеточными рецепторами и облегчение проникновения вириона в клетки-хозяева. В принципе, в объем настоящего изобретения входят любые белки Cap.

[154] Сообщалось, что белки Cap влияют на тропизм хозяина, специфичность к клеткам, тканям или органам, утилизацию рецепторов, эффективность заражения и иммуногенность вирусов AAV. Соответственно, cap AAV, для его использования в rAAV может быть выбран с учетом, например, вида индивидуума (например, человека или животного, не являющегося человеком), иммунологического состояния индивидуума, возможности проведения индивидууму длительного или краткосрочного лечения или конкретного терапевтического применения (например, лечения конкретного заболевания или расстройства или доставки в определенные клетки, ткани или органы). В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок cap происходит от группы AAV, состоящей из серотипов AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8 и AAV9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок cap происходит от AAV6. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок cap происходит от AAV9.

[155] В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок cap AAV, для его использования в способе согласно изобретению, может быть получен путем мутагенеза (то есть, путем инсерций, делеций или замен) одного из вышеупомянутых белков cap AAV или кодирующей его нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок Cap AAV по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% или более аналогичен одному или более из вышеупомянутых cap AAV.

[156] В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок cap AAV является химерным и включает домены из двух, трех, четырех или более из вышеупомянутых белков cap AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок cap AAV представляет собой мозаику из мономеров VP1, VP2 и VP3, происходящих от двух или трех различных AAV или рекомбинантного AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, композиция rAAV включает более, чем один из вышеупомянутых белков cap.

[157] В некоторых вариантах осуществления изобретения, cap AAV для

использования в вирионе rAAV сконструирован так, чтобы он содержал гетерологичную последовательность или другую модификацию. Так, например, последовательность пептида или белка, обеспечивающая избирательное нацеливание или ускользание от иммунного ответа, может быть преобразована в белок сар. Альтернативно или дополнительно, сар может быть химически модифицирован так, чтобы поверхность rAAV была полиэтиленгликозилированной (то есть, ПЭГилированной), что может способствовать ускользанию от иммунного ответа. Белок сар также может быть мутагенизирован (например, для предотвращения его природного связывания с рецептором или для маскировки иммуногенного эпитопа).

[158] Используемый здесь термин «белок гер» означает полипептид, обладающий по меньшей мере одной функциональной активностью нативного белка гер AAV (например, гер 40, 52, 68, 78). Примерами функциональной активности белка гер является любая активность, ассоциированная с физиологической функцией белка, включая облегчение репликации ДНК посредством распознавания, связывания и ник-разрыва AAV-ориджина репликации ДНК, а также активности ДНК-геликазы. Дополнительные функции включают модуляцию транскрипции с промоторов AAV (или других гетерологичных промоторов) и сайт-специфическую интеграцию ДНК AAV в хромосому хозяина. В конкретном варианте осуществления изобретения, гены гер AAV могут происходить от серотипов AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 или AAVrh10. В некоторых вариантах осуществления изобретения, гены гер AAV происходят от AAV6. В некоторых вариантах осуществления изобретения, гены гер AAV происходят от AAV9.

[159] В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок гер AAV для его использования в способе согласно изобретению может быть получен путем мутагенеза (то есть, путем инсерций, делеций или замен) одного из вышеупомянутых белков гер AAV или кодирующей его нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок гер AAV по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% или более аналогичен одному или более из вышеупомянутых гер AAV.

[160] Используемые здесь термины «хелперные функции» или «хелперные гены» относятся к вирусным белкам, репликация которых зависит от AAV. Белки с хелперными функциями включают белки, необходимые для репликации AAV, включая, но не ограничиваясь ими, белки, которые участвуют в активации транскрипции гена AAV, в стадиях специфического сплайсинга мРНК AAV, в репликации ДНК AAV, в синтезе продуктов экспрессии сар и в сборке капсида AAV. Дополнительные функции вирусов могут обеспечиваться любыми из известных хелперных вирусов, таких как аденовирус, герпесвирус (кроме вируса простого герпеса типа 1) и вирус осповакцины. Хелперные функции включают, но не ограничиваются ими, функции аденовируса E1, E2a, VA и E4 или герпесвируса UL5, ULB, UL52 и UL29 и полимеразы герпесвируса. В предпочтительном варианте осуществления изобретения, белки, от которых зависит репликация AAV, происходят от аденовируса.

[161] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный белок, репликация которого зависит от AAV, для их использования в способе согласно изобретению, может быть получен путем мутагенеза (то есть, путем инсерций, делеций или замен) одного из вышеупомянутых вирусных белков или кодирующей его нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный белок по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% или более аналогичен одному или более из вышеупомянутых вирусных белков.

[162] Способы анализа функций белков сар, белков гер, и вирусных белков, от которых зависит репликация AAV, хорошо известны специалистам в данной области.

Г. Клетка-хозяин

[163] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к клетке-хозяину, содержащей вирусный вектор или вирусную частицу, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую (a) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (c) полипептиды ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или их фрагменты. В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к клетке-хозяину, содержащей вирусный вектор или вирусную частицу, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую (a) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (c) биологически активный фрагмент полипептида ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты. Клетки-хозяева могут представлять собой бактериальную клетку, дрожжевую клетку, клетку насекомого или клетку млекопитающего. В иллюстративном варианте осуществления изобретения, клетка-хозяин означает любую клеточную линию, которая восприимчива к инфицированию представляющим интерес вирусом и поддается культивированию *in vitro*.

[164] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанная здесь клетка-хозяин может быть использована для генотерапии *ex vivo*. В таких вариантах осуществления изобретения, клетки трансфецируют молекулой нуклеиновой кислоты или экспрессионным вектором, содержащим последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С, а затем трансплантируют пациенту или индивидууму. Трансплантированные клетки могут иметь аутологичное, аллогенное или гетерологичное происхождение. Для клинического использования, выделение клеток обычно проводят в условиях в соответствии с известной производственной практикой (GMP). Перед трансплантацией, обычно проверяют качество клеток и отсутствие микробов или других загрязняющих веществ, и может быть проведено предварительное кондиционирование, такое как облучение и/или иммуносупрессорная обработка. Кроме того, клетки-хозяева могут быть трансплантированы вместе с факторами роста для стимуляции пролиферации и/или дифференцировки клеток.

[165] В некоторых вариантах осуществления изобретения, клетка-хозяин может быть использована для генотерапии *ex vivo*, проводимой на сердце или на других

представляющих интерес тканях. Предпочтительно, указанные клетки представляют собой эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих, и такими клетками являются, но не ограничиваются ими, клетки человека, клетки приматов, не являющихся человеком, таких как человекообразные обезьяны, шимпанзе, макаки и орангутанги; клетки домашних животных, включая клетки собак и кошек, а также домашнего скота, такого как лошади, крупный рогатый скот, свиньи, овцы и козы, или клетки млекопитающих других видов, включая, но не ограничиваясь ими, мышей, крыс, морских свинок, кроликов, хомяков и т.п. Специалист в данной области может самостоятельно выбрать более подходящие клетки в зависимости от типа пациента или индивидуума, которым их трансплантируют.

[166] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь клетки-хозяева может представлять собой клетки способные к самообновлению и плюрипотентные клетки, такие как стволовые клетки или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Стволовые клетки предпочтительно представляют собой мезенхимальные стволовые клетки. Мезенхимальные стволовые клетки (MSC) способны дифференцироваться по меньшей мере в остеобласты, хондроциты, адипоциты или миоциты и могут быть выделены из ткани любого типа. Обычно, MSC выделяют из костного мозга, жировой ткани, пупочного канатика или периферической крови. Способы их получения хорошо известны специалисту в данной области. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (также известные как iPS-клетки или iPSC) представляют собой тип плюрипотентных стволовых клеток, которые могут быть получены непосредственно из взрослых клеток. Yamanaka и др. индуцировали iPS-клетки путем переноса генов Oct3/4, Sox2, Klf4 и с-Мус в мышинные и человеческие фибробласты, в результате чего клетки экспрессировали эти гены (WO 2007/069666). Thomson и др. впоследствии получили iPS-клетки человека с использованием Nanog и Lin28 вместо Klf4 и с-Мус (WO 2008/118820).

[167] В репрезентативном варианте осуществления изобретения, описанная здесь клетка-хозяин представляет собой упаковывающую клетку. Указанные клетки могут быть прикрепленными или суспензионными клетками. Упаковывающая клетка и хелперный вектор или вирус или конструкция(и) ДНК вместе обеспечивают все недостающие функции в транс-ориентации, которые необходимы для полной репликации и упаковки вирусного вектора.

[168] Предпочтительно, указанные упаковывающие клетки представляют собой эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих, включая клетки обезьян, человека, собак и грызунов. Примерами клеток человека являются клетки PER.C6 (WO01/38362), MRC-5 (ATCC CCL-171), WI-38 (ATCC CCL-75), клетки HEK-293 (ATCC CRL-1573), клетки HeLa (ATCC CCL2) и фетальные клетки легких макак-резуса (ATCC CL-160). Примерами клеток приматов, не являющихся человеком, являются клетки Vero (ATCC CCL81), клетки COS-1 (ATCC CRL-1650) или клетки COS-7 (ATCC CRL-1651). Примерами клеток собак являются клетки MDCK (ATCC CCL-34). Примерами клеток

грызунов являются клетки хомяка, такие как ВНК21-F, клетки НКСС или клетки СНО.

[169] В качестве альтернативы источникам млекопитающих, клеточные линии для их использования в настоящем изобретении могут быть получены из клеток птиц, таких как курица, утка, гусь, перепел или фазан. Примерами птичьих клеточных линий являются птичьи эмбриональные стволовые клетки (WO01/85938 и WO03/076601), иммортализованные клетки сетчатки утки (WO2005/042728) и клетки, полученные из птичьих эмбриональных стволовых клеток, включая куриные клетки (WO2006/108846) или утиные клетки, такие как клеточная линия EB66 (WO2008/129058 и WO2008/142124).

[170] В другом варианте осуществления изобретения, указанные клетки-хозяева представляют собой клетки насекомых, такие как клетки SF9 (ATCC CRL-1711), клетки Sf21 (IPLB-Sf21), клетки MG1 (BTI-TN-MG1) или клетки High FiveTM (BTI-TN-5B1-4).

[171] В некоторых вариантах осуществления изобретения, указанные здесь клетки-хозяева содержат вирусный вектор или вирусную частицу, которые включают нуклеотидную последовательность, кодирующую (a) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (c) полипептиды ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты, и могут дополнительно содержать одну или более дополнительных конструкций нуклеиновых кислот, таких как, например, (i) конструкция нуклеиновой кислоты (например, хелперная плаزمида AAV), которая кодирует гены гер и сар, но не переносит последовательности ITR; и/или (ii) конструкция нуклеиновой кислоты (например, плазмиды), обеспечивающая аденовирусные функции, необходимые для репликации AAV. В репрезентативном варианте осуществления изобретения, описанная здесь клетка-хозяин, включает: i) любую из описанных здесь конструкций нуклеиновых кислот или вирусных векторов (например, любую из раскрытых здесь конструкций нуклеиновых кислот или векторов, содержащих нуклеотидную последовательность, кодирующую (a) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (c) полипептид ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты); ii) конструкцию нуклеиновой кислоты, кодирующей гены гер и сар AAV, которые не несут последовательности ITR; и iii) конструкцию нуклеиновой кислоты, содержащую аденовирусные хелперные гены (как более подробно описано ниже).

[172] В некоторых вариантах осуществления изобретения, хелперные гены гер, сар и аденовируса могут быть объединены в одной плазмиде (Blouin V et al. *J Gene Med.* 2004; 6 (suppl): S223-S228; Grimm D. et al. *Hum. Gene Ther.* 2003; 7: 839-850). Таким образом, в другом репрезентативном варианте осуществления изобретения, описанная здесь клетка-хозяин содержит: i) молекулу нуклеиновой кислоты или экспрессионный вектор, включающие последовательность, кодирующую ламин А и/или ламин С (то есть, геном рекомбинантного AAV); и ii) плазмиду, кодирующую гены гер и сар AAV, которая не содержит последовательности ITR, но, при этом содержит хелперные гены аденовирусов.

[173] В другом варианте осуществления изобретения, описанная здесь клетка-хозяин содержит: а) любую из раскрытых здесь конструкций нуклеиновых кислот или вирусных векторов (например, любую из раскрытых здесь конструкций нуклеиновых

кислот или вирусных векторов, содержащих нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептид ламина А и ламин С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты); б) плазмиду, кодирующую гены *rep* и *cap* AAV, которая не несет последовательности ITR; и с) плазмиду, содержащую аденовирусные хелперные гены E2a, E4 и РНК VA; где котрансфекцию осуществляют в клетках, а предпочтительно, в клетках млекопитающих, которые конститутивно экспрессируют и транскомплементируют аденовирусный ген E1, например, в клетках HEK-293 (ATCC CRL-1573).

[174] В некоторых вариантах осуществления изобретения, клетка-хозяин, подходящая для крупномасштабного продуцирования векторов AAV, представляет собой клетку насекомого, которая может быть инфицирована комбинацией рекомбинантных бакуловирусов (Urabe et al. Hum. Gene Ther. 2002; 13: 1935-1943). Так, например, клетки SF9 могут быть совместно инфицированы тремя бакуловирусными векторами, соответственно, экспрессирующими *rep* AAV, *cap* AAV и упаковываемым вектором AAV. Рекомбинантные бакуловирусные векторы будут обеспечивать функции вирусного хелперного гена, необходимые для репликации и/или упаковки вируса.

[175] Дополнительное руководство по конструированию и продуцированию вирионов для генотерапии согласно изобретению можно найти в публикациях: *Viral Vectors for Gene Therapy, Methods and Protocols. Series: Methods in Molecular Biology, Vol. 737.* Merten and Al-Rubeai (Eds.); 2011 Humana Press (Springer); *Gene Therapy.* M. Giacca. 2010 Springer-Verlag; Heilbronn R. and Weger S. *Viral Vectors for Gene Transfer: Current Status of Gene Therapeutics.* In: *Drug Delivery, Handbook of Experimental Pharmacology* 197; M. Schafer-Korting (Ed.). 2010 Springer-Verlag; pp. 143-170; *Adeno-Associated Virus: Methods and Protocols.* R. O. Snyder and P. Moullier (Eds). 2011 Humana Press (Springer); Bunning H. et al. Recent developments in adeno-associated virus technology. *J. Gene Med.* 2008; 10:717-733; and *Adenovirus: Methods and Protocols.* M. Chillon and A. Bosch (Eds.); Third. Edition. 2014 Humana Press (Springer).

[176] Клетки-хозяева для экспрессии представляющего интерес трансгена (например, последовательности, кодирующей ламин А и/или ламин С) могут быть культивированы в условиях, подходящих для сборки вирионов AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, клетки-хозяева культивируют в течение периода времени, подходящего для сборки вирионов AAV и высвобождения вирионов в среду. Обычно, клетки могут быть культивированы в течение приблизительно 24 часов, приблизительно 36 часов, приблизительно 48 часов, приблизительно 72 часов, приблизительно 4 дней, приблизительно 5 дней, приблизительно 6 дней, приблизительно 7 дней, приблизительно 8 дней, приблизительно 9 дней или до приблизительно 10 дней. Приблизительно через 10 дней (или раньше, в зависимости от условий культивирования и конкретно используемой клетки-хозяина), уровень продуцирования обычно значительно снижается. Обычно, время культивирования определяют с момента продуцирования вируса. Так, например, в случае AAV, продуцирование вируса обычно начинается после

обеспечения функции хелперного вируса в соответствующей клетке-хозяине, как описано в настоящей заявке. Обычно, клетки собирают приблизительно через 48-100, предпочтительно приблизительно через 48-96, предпочтительно приблизительно через 72-96, предпочтительно приблизительно через 68-72 часов после инфицирования вирусом-помощником (или после начала продуцирования вируса).

[177] Культуры-продуценты rAAV могут быть культивированы в различных условиях (в широком диапазоне температур, в течение различных периодов времени и т.п.), подходящих для конкретно используемой клетки-хозяина. Культуры-продуценты rAAV включают, в зависимости от их прикрепления, культуры, которые могут быть культивированы в подходящих сосудах, в зависимости от прикрепления, таких как, например, роллер-флаконы, фильтры из полых волокон, микроносители и биореакторы с уплотненным слоем или с псевдооживленным слоем. Культуры-продуценты вектора rAAV могут также включать адаптированные для суспензии клетки-хозяева, такие как клетки HeLa, 293 и SF-9, которые могут быть культивированы различными способами, включая, например, использование центрифужных колб, биореакторов с мешалкой и одноразовых систем, таких как система «волновых мешков».

[178] Подходящие среды, известные специалистам в данной области, могут быть использованы для продуцирования вирионов rAAV. Эти среды включают, но не ограничиваются ими, среды, производимые компанией Hyclone Laboratories и JRH, включая модифицированную среду Игла (MEM), модифицированную по способу Дульбекко среду Игла (DMEM), каждая из которых в полном объеме включена в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления изобретения, культуральная среда для продуцирования rAAV может быть дополнена сывороткой или полученными из сыворотки рекомбинантными белками на уровне 0,5-20% (об./об. или масс./об.). Альтернативно, векторы rAAV могут быть получены в бессывороточных условиях, которые также могут называться средами без продуктов животного происхождения.

[179] После культивирования клеток-хозяев для продуцирования вирионов AAV, полученные вирионы могут быть собраны и очищены. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирионы AAV могут быть получены из (1) клеток-хозяев культуры-продуцента путем лизиса клеток-хозяев и/или (2) среды для культивирования указанных клеток через определенный период времени после трансфекции, а предпочтительно через 72 часа. Вирионы rAAV могут быть собраны из отработанной среды культуры-продуцента при условии, что клетки будут культивированы в условиях, которые вызывают высвобождение вирионов rAAV в среду из интактных клеток (см., например, патент США № 6566118). Подходящие способы лизиса клеток также известны специалистам в данной области и включают, например, множество циклов замораживания/оттаивания, обработку ультразвуком, микрофлюидизацию и обработку химическими веществами, такими как детергенты и/или протеазы.

[180] После сбора, вирионы rAAV могут быть очищены. Используемый здесь

термин «очищенный» относится к составу вирионов гAAV, не содержащему по меньшей мере некоторых других компонентов, которые также могут присутствовать в том случае, когда вирионы гAAV имеют природное происхождение или изначально получены из природных вирионов. Так, например, очищенные вирионы гAAV могут быть получены с использованием метода выделения для обогащения их из исходной смеси, такой как лизат культуры или супернатант культуры-продуцента. Обогащение может быть оценено различными способами, например, по количеству устойчивых к ДНКазам частиц (DRP) или копий генома (gc), присутствующих в растворе, или по инфекционности, или такое обогащение может быть оценено по отношению ко второму, потенциально загрязняющему веществу в исходной смеси, такому как примеси, включая примеси культуры-продуцента или технологические примеси, включая вирус-помощник, компоненты среды и т.п.

[181] В некоторых вариантах осуществления изобретения, сбор культуры-продуцента гAAV может быть осветлен для удаления дебриса клеток-хозяев. В некоторых вариантах осуществления изобретения, сбор культуры-продуцента может быть осветлен с использованием множества стандартных методик, таких как центрифугирование или фильтрация через фильтр с размером пор 0,2 мкм или более (например, фильтр из ацетата целлюлозы или серию глубинных фильтров).

[182] В некоторых вариантах осуществления изобретения, сбор культуры-продуцента гAAV дополнительно обрабатывают БензоназойTM для гидролиза любых высокомолекулярных ДНК, присутствующих в культуре-продуценте. В некоторых вариантах осуществления изобретения, расщепление БензоназойTM проводят в стандартных условиях, например, при конечной концентрации 1-2,5 единиц/мл БензоназыTM при температуре в пределах от температуры окружающей среды до 37°C в течение периода времени от 30 минут до нескольких часов.

[183] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирионы гAAV могут быть выделены или очищены путем проведения одной или более из следующих стадий очистки: равновесного центрифугирования; проточной анионообменной фильтрации; фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) для концентрирования частиц гAAV; захвата гAAV с помощью хроматографии на апатитах; термоинактивации вируса-помощника; захвата гAAV посредством гидрофобной хроматографии; буферного обмена посредством эксклюзионной хроматографии (ЭХ); нанофильтрации; и захвата гAAV посредством анионообменной хроматографии, катионообменной хроматографии или аффинной хроматографии. Эти стадии могут быть проведены отдельно, в различных комбинациях или в различном порядке. Методы очистки частиц гAAV можно найти, например, в публикациях Xiao et al., (1998) Journal of Virology 72: 2224-2232; в патентах США №№ 6989264 и 8137948; и в WO 2010/148143.

[184] В некоторых вариантах осуществления изобретения, очищенные вирионы AAV могут быть диализованы против PBS, отфильтрованы и могут храниться при -80°C. Титры вирусных геномов могут быть определены с помощью количественной ПЦР с

использованием линейаризованной плазмидной ДНК и представлены в виде стандартной кривой (см., например, Lock M, et al., Hum. Gene Ther. 2010; 21: 1273-1285).

Н. Фармацевтическая композиция

[185] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим любые из описанных здесь конструкций нуклеиновых кислот, экспрессионных векторов, вирусных векторов, вирусных частиц или клеток-хозяев. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим вирусный вектор или вирусную частицу, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептиды ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или их фрагменты и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим вирусный вектор или вирусную частицу, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) биологически активный фрагмент полипептида ламина А; (b) биологически активный фрагмент полипептида ламина С; (с) биологически активный фрагмент полипептида ламина А и биологически активный фрагмент полипептида ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты и фармацевтически приемлемый носитель. В других своих вариантах, настоящее изобретение относится к клеткам-хозяевам, которые содержат вирусный вектор или вирусную частицу, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую (а) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (с) полипептиды ламина А и ламина С; или их биологически активные варианты и/или фрагменты и фармацевтически приемлемый носитель. В конкретных вариантах осуществления изобретения, такие композиции являются подходящими для их применения в генотерапии. Фармацевтические композиции предпочтительно являются стерильными и стабильными в условиях их получения и хранения. Стерильные растворы могут быть получены, например, путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны.

[186] Приемлемые носители и эксципиенты в фармацевтических композициях предпочтительно являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозах и концентрациях. Приемлемыми носителями и наполнителями могут быть буферы, такие как фосфат, цитрат, HEPES и TAE; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и метионин; консерванты, такие как хлорид гексаметония, хлорид октадецилдиметилбензиламмония, резорцин и хлорид бензалкония; белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, желатин, декстран и иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, гистидин и лизин; и углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза и сорбит. Фармацевтические композиции согласно изобретению могут быть введены парентерально в форме инъеклируемой композиции. Фармацевтические композиции для инъекций могут быть приготовлены с использованием стерильного раствора или любой фармацевтически приемлемой жидкости в качестве носителя. Фармацевтически

приемлемые носители включают, но не ограничиваются ими, стерильную воду и физиологический раствор.

[187] Фармацевтические композиции согласно изобретению могут быть получены в микрокапсулах, таких как гидроксилметилцеллюлоза или микрокапсулы из желатина и микрокапсулы из полиметилметакрилата. Фармацевтические композиции согласно изобретению могут быть также получены в виде других систем доставки лекарственных средств, таких как липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы. Фармацевтическая композиция для генотерапии может быть получена в приемлемом разбавителе или может содержать матрицу с медленным высвобождением, в которую встроен носитель для доставки гена.

[188] Описанные здесь фармацевтические композиции могут быть приготовлены для парентерального введения, подкожного введения, внутривенного введения, системного введения, внутримышечного введения, внутриартериального введения, интрапаренхимального введения, интратекального введения, внутрицистернального введения, интрацеребровентрикулярного введения или внутрибрюшинного введения. В одном из вариантов осуществления изобретения, фармацевтическая композиция приготовлена для внутривенного введения. В одном из вариантов осуществления изобретения, фармацевтическая композиция приготовлена для системного введения. Фармацевтическая композиция может быть также приготовлена для интраназального введения, введения в виде спрея, перорального, аэрозольного, ректального или вагинального введения, либо она может быть введена указанным способом. В одном варианте осуществления изобретения, фармацевтическую композицию вводят в мышцу, то есть, путем внутримышечной инъекции. Ткань-мишень может быть специфической, например, ткань сердца, или она может представлять собой комбинацию из нескольких тканей, например, тканей сердца и печени. Типичная ткань или другие мишени могут включать печень, скелетную мышцу, сердечную мышцу, жировые отложения, почки, легкие, сосудистый эндотелий, эпителиальные клетки, гемопоэтические клетки, ЦНС и/или СМЖ. В конкретном варианте осуществления изобретения, описанную здесь фармацевтическую композицию вводят в сердце, то есть, путем внутрисердечной инъекции, внутривенной инъекции или системно. Один или более из этих способов могут быть использованы для введения фармацевтической композиции согласно изобретению.

[189] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанная здесь фармацевтическая композиция содержит «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество». Используемые здесь термины «количество» означают количество, которое является эффективным в указанных дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического эффекта, такого как повышение уровня экспрессии LMNA и/или увеличение желудочкового выброса.

[190] Дозы фармацевтических композиций согласно изобретению зависят от ряда факторов, включая способ введения, заболевание, подвергаемое лечению, и физические

свойства (например, возраст, массу тела, общее состояние здоровья) индивидуума. Дозы могут быть скорректированы для обеспечения оптимального терапевтического ответа. Обычно, доза может представлять собой количество, которое является эффективным для лечения заболевания и не вызывает значительной токсичности. В одном варианте осуществления изобретения, описанный здесь вектор AAV может быть введен пациенту для лечения ламинопатии (включая, например, дилатационную кардиомиопатию) в количестве или дозе в пределах от 5×10^{11} до 1×10^{14} гк/кг (геномных копий на килограмм массы тела пациента (гк/кг)). В более конкретном варианте осуществления изобретения, вектор AAV вводят в количестве, составляющем в пределах приблизительно от 5×10^{11} до приблизительно 3×10^{13} гк/кг, или приблизительно от 1×10^{12} до приблизительно 1×10^{14} гк/кг, или приблизительно от 1×10^{12} до приблизительно 1×10^{13} гк/кг, или приблизительно 5×10^{11} гк/кг, 1×10^{12} гк/кг, $1,5 \times 10^{12}$ гк/кг, $2,0 \times 10^{12}$ гк/кг, $2,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 3×10^{12} гк/кг, $3,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 4×10^{12} гк/кг, $4,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 5×10^{12} гк/кг, $5,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 6×10^{12} гк/кг, $6,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 7×10^{12} гк/кг, $7,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 8×10^{12} гк/кг, $8,5 \times 10^{12}$ гк/кг, 9×10^{12} гк/кг или $9,5 \times 10^{12}$ гк/кг. Гк/кг могут быть определены, например, с помощью кол.ПЦР или цифровой капельной ПЦР (ddPCR) (см., например, M. Lock et al, Hum Gene Ther Methods. 2014 Apr; 25 (2): 115-25). В другом варианте осуществления изобретения, описанный здесь вектор AAV может быть введен пациенту для лечения ламинопатии (включая, например, дилатационную кардиомиопатию) в количестве или в дозе в пределах от 1×10^9 до 1×10^{11} ие/кг (инфекционных единиц вектора (ие)/массу тела индивидуума или пациента (кг)). В некоторых вариантах осуществления изобретения, фармацевтическая композиция может быть приготовлена в виде унифицированной дозы по мере необходимости. Такие отдельные унифицированные дозы могут содержать приблизительно от 1×10^9 гк до приблизительно 1×10^{15} гк.

[191] Фармацевтические композиции согласно изобретению могут быть введены индивидууму, нуждающемуся в этом, например, один или более раз (например, 1-10 раз или более) в день, в неделю, в месяц, раз в два года, раз в год или по медицинским показаниям. В репрезентативном варианте осуществления изобретения, достаточно однократного введения. В одном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция является подходящей для введения человеку и может быть введена путем внутримышечной инъекции. В одном варианте осуществления изобретения, является подходящей для введения человеку и может быть введена путем внутрисердечной инъекции, внутривенной инъекции или системного введения. В одном варианте осуществления изобретения, фармацевтическая композиция доставляется через периферическую вену путем инъекции ударной дозы. В других вариантах осуществления изобретения, фармацевтическая композиция доставляется через периферическую вену путем инфузии в течение приблизительно 10 минут (± 5 минут), в течение приблизительно 20 минут (± 5 минут), в течение приблизительно 30 минут (± 5 минут), в течение приблизительно 60 минут (± 5 минут) или в течение приблизительно 90 минут (± 10 минут).

[192] В другом своем аспекте, настоящее изобретение также относится к набору,

содержащему описанные здесь конструкцию нуклеиновой кислоты, вирусный вектор, вирусную частицу, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию в одном или нескольких контейнерах. Набор может включать инструкции или упаковочные материалы, в которых описан способ введения пациенту молекулы нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или вириона, содержащихся в наборе. Контейнеры набора могут быть изготовлены из любого подходящего материала, например, стекла, пластика, металла и т.п., и могут иметь любой подходящий размер, любую подходящую форму или конфигурацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения, наборы могут включать одну или более ампул или шприцев, которые содержат конструкцию нуклеиновой кислоты, вирусный вектор, вирусную частицу, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию в форме подходящей жидкости или раствора.

I. Способы лечения

[193] Ядерная пластинка, в основе которой лежит внутренняя ядерная мембрана, представляет собой сеть белков промежуточных филаментов типа V, состоящих в основном из ламин типа A и B. Соматические клетки млекопитающих экспрессируют четыре основных и три второстепенных типа ламин. Ген LMNA кодирует ламин A-типа, включая две основные изоформы, A и C, и две второстепенные изоформы AΔ10 и C2. Основные изоформы ламин типа B, а именно, B1 и B2, кодируются LMNB1 и LMNB2, соответственно. LMNB2 дополнительно кодирует небольшую изоформу B3. Помимо обеспечения механической прочности ядра, недавние открытия в медицине, связанные с изучением ядерной пластинки, показали, что ламин участвуют по меньшей мере в трех путях: (a) в экспрессии и дифференцировке генов, что приводит к субъядерной локализации и эпигенетической регуляции генов; (b) в репарации повреждений ДНК и стабильности генома; и (c) в регуляции факторов транскрипции и сигнальных компонентов, регулирующих различные пути дифференцировки.

[194] Приблизительно 15 различных заболеваний/патологий, называемых ламинопатиями или ядерными энвелопатиями, связаны с мутациями в ламинах и ламин-связывающих белках. Имеются сообщения о более, чем 500 мутациях в LMNA, которые приводят к aberrантной укладке, нестабильности и неправильной сборке полипептида ламина, либо они могут влиять на биохимические свойства поверхностей белковых доменов, что может приводить к нарушению взаимодействий ламина A/C. Эти мутации дают множество фенотипов заболеваний при четырех основных типах заболеваний, таких, как заболевания поперечно-полосатых мышц, липодистрофические синдромы, периферическая невропатия и расстройства, ассоциированные с ускоренным старением. Фенотипы этих заболеваний варьируются от сердечных и скелетных миопатий, липодистрофий, периферических невропатий до преждевременного старения и ранней смерти.

[195] Дилатационная кардиомиопатия представляет собой тип заболевания поперечно-полосатых мышц, характеризующегося расширением и нарушением сокращения левого желудочка или обоих желудочков и нарушением систолической

функции. Встречаемость дилатационной кардиомиопатии варьируется от 1:2500 до 1:250 человек. Несмотря на то, что дилатационная кардиомиопатия является редким заболеванием, она представляет собой серьезную проблему для здоровья и часто приводит к аритмиям (то есть, к брадикардии и тахикардии), атриовентрикулярной блокаде, тромбоэмболии и к внезапной смерти на любой стадии заболевания. По данным на 2014 год, в гене LMNA было идентифицировано 165 мутаций, связанных с дилатационной кардиомиопатией (Tesson F. *Cardiol J.* 2014; 21(4):331-42). Эти мутации включали миссенс/нонсенс-мутации, мутации сплайсинга, небольшие делеции, небольшие инсерции, небольшие инсерции-делеции, крупные делеции или крупные инсерции. Большинство мутаций LMNA, приводящих к дилатационной кардиомиопатии, являются аутосомно-доминантными миссенс-мутациями, которые были обнаружены по всему гену, и которые генерируют мутированные белки ламина A/C.

[196] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способам лечения ламинопатий. Ламинопатиями, которые могут быть подвергнуты лечению, являются, но не ограничиваются ими, болезнь Шарко-Мари-Туфа, мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса (EDMD), семейная частичная липодистрофия, синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда (HGPS), мышечная дистрофия конечностей-поясничного отдела, LMNA-связанная врожденная мышечная дистрофия, челюстно-подъязычная дисплазия, аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, наследственная фибрилляция предсердий, увеличение объема левого желудочка, дилатационная кардиомиопатия, атипичный синдром Вернера, синдром Барракера-Симонса, синдром Бушке-Оллендорфа, семейная частичная липодистрофия типа болезни Даннигана (FPLD), дисплазия Гринберга, лейкодистрофия, мышечная дистрофия конечностей-поясничного отдела тапа 1В, липоатрофия при диабете, стеатоз печени, гипертрофическая кардиомиопатия и лейкомеланодермические папулы (LDHCP), челюстно-подъязычная дисплазия с липодистрофией типа А (MADA), челюстно-подъязычная дисплазия с липодистрофией типа В (MADB), аномалия Пельгера-Уэта (PHA), болезнь Пелициуса-Мерцбахера и синдром плотной контрактуры кожи.

[197] В некоторых вариантах осуществления изобретения, ламинопатия может представлять собой ламинопатическую липодистрофию, системную ламинопатию, ламинопатическое неврологическое расстройство или мышечную ламинопатию. Термины «ламинопатические» липодистрофические расстройства и «ламинопатические» неврологические расстройства означают липодистрофические и неврологические расстройства, возникающие в результате аномальной морфологии ядерной оболочки, или ассоциированные с такой морфологией. Липодистрофические расстройства характеризуются аномальным распределением жировой ткани, необязательно связанным с метаболическими нарушениями, такими как диабет и гипертриглицеридемия. У пациентов с липодистрофией часто наблюдается избирательная потеря и/или чрезмерное накопление жировой ткани в определенных участках тела (например, потеря жировой ткани в конечностях, сопровождающаяся чрезмерным ее отложением в верхней части спины).

Примерами ламинопатических липодистрофических расстройств являются, например, семейная частичная липодистрофия (тип Даннигана), приобретенная частичная липодистрофия, синдром инсулинорезистентности типа А, синдром генерализованной липоатрофии и семейная частичная липодистрофия (Кобберлинга).

[198] Системные ламинопатии влияют на различные типы тканей и включают, например, атипичный синдром Вернера, прогерия (например, синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда), рестриктивную дермопатию и челюстно-подъязычную дисплазию. Симптомы, связанные с системными ламинопатиями, являются разнообразными. У пациентов с атипичным синдромом Вернера преждевременно проявляются признаки, обычно связанные со старением, такие как низкий рост, остеопороз, истончение волос, атеросклероз и катаракта. С другой стороны, рестриктивная дермопатия обычно связана с контрактурой кожи и суставов, аномальной минерализацией черепа и нарушением функций легких. Ламинопатические неврологические расстройства или ламинопатии с поражением периферических нервов также могут быть подвергнуты лечению способом согласно изобретению. Неврологические ламинопатии включают, например, болезнь Шарко-Мари-Туфа типа 2В1, аутомно-доминантную лейкодистрофию и аутомно-доминантную спинальную мышечную дистрофию.

[199] Большинство ламинопатий, вызываемых мутациями ламина А/С, связаны с поперечно-полосатыми мышцами. Мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса (EDMD), мышечная дистрофия конечностей-поясничного отдела типа 1В, врожденная мышечная дистрофия, синдром мультисистемной дистрофии, дилатационная кардиомиопатия 1А, семейная дилатационная кардиомиопатия и дилатационная кардиомиопатия с дефектами проводящей системы диагностируются как мышечные ламинопатии. У пациентов, страдающих мышечной ламинопатией, наблюдаются, например, мышечная слабость или истощение, гипертрофия отдельных мышц (например, икроножной мышцы), контрактура мышц или сухожилий, кардиомиопатия, нарушение сердечной проводимости и умственная отсталость.

[200] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способам лечения ламинопатии у индивидуума, включающим введение терапевтически эффективного количества любых конструкций нуклеиновых кислот, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев и/или фармацевтических композиций, раскрытых в настоящей заявке. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способам экспрессии: (а) полипептида ламина А или его биологически активного фрагмента; (б) полипептида ламина С или его биологически активного фрагмента; (с) полипептида ламина А или его биологически активного фрагмента и полипептида ламина С или его биологически активного фрагмента; или их биологически активных вариантов и/или фрагментов у индивидуума, где указанные способы включают введение указанному индивидууму раскрытых здесь вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение

относится к способам повышения экспрессии: (a) функционального полипептида ламина А; (b) функционального полипептида ламина С; (c) функционального полипептида ламина А и функционального полипептида ламина С или их биологически активных вариантов и/или фрагментов у индивидуума, где указанные способы включают введение указанному индивидууму раскрытых здесь вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления изобретения, у такого индивидуума была диагностирована ламинопатия или имеется риск ее развития, где ламинопатия представляет собой любое одно или более из таких заболеваний, как: болезнь Шарко-Мари-Туфа, мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса, семейная частичная липодистрофия, синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда, мышечная дистрофия конечностей-поясничного отдела, LMNA-связанная врожденная мышечная дистрофия, челюстно-подъязычная дисплазия, аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, наследственная фибрилляция предсердий, увеличение объема левого желудочка и дилатационная кардиомиопатия. В некоторых случаях, нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид, а именно, (a) полипептид ламина А; (b) полипептид ламина С; (c) полипептид ламина А и полипептида ламина С; или их биологически активные варианты и/или их фрагменты доставляются с использованием вируса или вирусного вектора, такого как AAV6 или AAV9. В некоторых случаях, индивидуум, нуждающийся в этом, имеет недостаточную экспрессию гена или мутацию в любом одном или более из LMNA, LMNB1 и LMNB2.

[201] В некоторых случаях, лечение с использованием описанных здесь конструкций нуклеиновой кислоты, вирусного вектора, вирусной частицы, клетки-хозяина или фармацевтической композиции приводит к улучшению функции сердца, улучшению сокращений сердечной мышцы, к повышению экспрессии ламина А и/или ламина С, или к снижению активности mTOR. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к способу лечения индивидуума с дилатационной кардиомиопатией или с риском ее развития. Симптомы, связанные с дилатационной кардиомиопатией, включают одышку, отеки в ногах, усталость, увеличение массы тела, обмороки, сердцебиение, головокружение, образование сгустков крови, боль в груди и/или внезапную смерть. Кроме того, дилатационная кардиомиопатия, возникающая в результате мутации LMNA, приводит к гиперактивированной передаче сигналов mTOR в сердце. Лечение конструкцией нуклеиновой кислоты, вирусным вектором, вирусной частицей, клеткой-хозяином или фармацевтической композицией, описанными в настоящей заявке, может приводить к ослаблению одного или более симптомов, таких как снижение передачи сигнала mTOR. Проведение описанной здесь терапии индивидууму с риском развития дилатационной кардиомиопатии может предотвращать развитие или замедлять прогрессирование одного или более симптомов.

[202] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лечение конструкцией нуклеиновой кислоты, вирусным вектором, вирусной частицей, клеткой-хозяином или фармацевтической композицией, описанными в настоящей заявке, снижает передачу

сигнала mTOR по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% по сравнению с необработанным контролем или по сравнению с уровнем до лечения.

[203] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лечение конструкцией нуклеиновой кислоты, вирусным вектором, вирусной частицей, клеткой-хозяином или фармацевтической композицией, описанными в настоящей заявке, увеличивает уровень экспрессии ламина А и/или ламина С по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% по сравнению с необработанным контролем или по сравнению с уровнем до лечения.

[204] В некоторых вариантах осуществления изобретения, лечение конструкцией нуклеиновой кислоты, вирусным вектором, вирусной частицей, клеткой-хозяином или фармацевтической композицией, описанными в настоящей заявке, объединяют с одной или более дополнительными видами терапии, выбранными из группы, состоящей из терапии: бета-блокаторами, ингибиторами ангиотензин-конвертирующего фермента (ACE), блокаторами рецепторов ангиотензина (ARB), ингибиторами ниприлизина, диуретиками, антагонистом альдостерона, динитратом изосорбида, гидралазином, дигоксином, ивабрадином; сердечной ресинхронизирующей терапии (CRT); терапии имплантируемыми кардиовертер-дефибрилляторами (ICD); хирургической операции, трансплантации сердца и/или их комбинации.

[205] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы и композиции согласно изобретению могут быть использованы для лечения индивидуума, у которого было диагностировано заболевание, например, ламинопатия. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ламинопатия может быть вызвана известным генетическим событием (например, любой из мутаций LMNA, известных специалистам в данной области) или может иметь неизвестную этиологию. Индивидуумом может быть пациент, страдающий мышечной ламинопатией. В некоторых случаях, индивидуумом является пациент с дилатационной кардиомиопатией.

[206] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы и композиции согласно изобретению могут быть использованы для лечения индивидуума с риском развития заболевания. Может быть установлено, что у индивидуума имеется предрасположенность к заболеванию, например, к ламинопатии (то есть, к дилатационной кардиомиопатии). Индивидуум может быть предрасположен к заболеванию из-за генетического события или из-за известных факторов риска. Так, например, индивидуум может нести мутацию в LMNA, которая связана с дилатационной кардиомиопатией.

[207] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанное здесь лечение может приводить к ослаблению или прекращению симптомов, например, любого из

описанных здесь симптомов ламинопатии. Так, например, лечение может приводить к улучшению функции сердца, улучшению показаний ЭКГ, подавлению активности ERK1/2, снижению передачи сигналов mTOR и к увеличению продолжительности жизни. Оценка функции сердца, показаний ЭКГ, подавления ERK1/2, передачи сигналов mTOR, увеличения продолжительности жизни и других релевантных параметров может быть осуществлена в конкретной модели заболевания ламинопатией. Так, например, было разработано несколько мышинных моделей ламинопатии (например, мышечной дистрофии или дилатационной кардиомиопатии). В частности, мышинная модель H222P LMNA содержит точечную мутацию (H222P), приводящую к мышечной дистрофии и дилатационной кардиомиопатии с заболеванием проводящей системы. В то время как гетерозиготные мыши (LMNA^{H222P/+}) не проявляют каких-либо фенотипов, присущих новорожденным или взрослым особям, у взрослых гомозиготных мутантных мышей (LMNA^{H222P/H222P}) развивалась мышечная дистрофия и дилатационная кардиомиопатия с заболеванием проводящей системы, аналогичным клиническим признакам ламинопатии у человека, поражающей поперечно-полосатую мышцу. См., например, Arimura T., et al. Human Molecular Genetics, 2005; 14(1): 155-169. У мышей с моделью LMNA^{flox/flox} наблюдаются более серьезные дефекты в ряде тканей, причем скелетные мышцы являются наиболее поврежденными. См., например, Kim Y, Biochem Biophys Res Commun. 2013; 440(1):8-13. Мыши с моделью LMNA^{flox/flox} имеют сайты loxP, фланкирующие второй экзон LMNA, что позволяет эффективно создать мышь с условным нокаутом LMNA. Экспрессия Cre зародышевой линии приводит к появлению гомозиготных мутантов по LMNA с послеродовой летальностью на 16-18 сутки после рождения. В некоторых вариантах осуществления изобретения, животное-модель представляет собой мышь с мутантным LMNA H222P. В некоторых вариантах осуществления изобретения, животное-модель представляет собой мышь с мутантным LMNA^{flox/flox} (например, регистрационный номер лаборатории Джексона 026284). Такие системы с моделью заболевания могут быть использованы для обнаружения конкретных конструкций нуклеиновой кислоты, вирусных векторов, вирусных частиц, клеток-хозяев или фармацевтических композиций, используемых для лечения ламинопатии.

[208] В некоторых вариантах осуществления изобретения, конструкция нуклеиновой кислоты, вирусный вектор, вирусная частица, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция, описанные в настоящей заявке, вводятся индивидууму внутривенно или системно. Другими формами введения, которые могут быть использованы в описанных здесь способах, являются, но не ограничиваются ими, прямая доставка в нужный орган (например, в сердце), пероральное, внутривенное, внутримышечное, интратекальное, подкожное, подъязычное, интраназальное введение, введение путем ингаляции, введение путем распыления, нанесение на кожу, местное, системное, интрамиокардиальное, трансдермальное введение и другие родственные способы введения. При желании, способы введения можно комбинировать.

Ж. Примеры

[209] Раскрытие изобретения, которое в общих чертах описано далее, будет легче понять со ссылкой на нижеследующие примеры, которые включены лишь в целях иллюстрации некоторых вариантов осуществления изобретения и вариантов согласно изобретению и не должны рассматриваться как ограничение объема изобретения.

Пример 1: Получение минигенной конструкции LMNA 1, продуцирующей ламин А и ламин С

[210] Клетки НЕК293Т (Fujifilm) высевали в 6-луночные планшеты при плотности 900000 клеток/лунку и инкубировали при 37 градусах Цельсия в течение ночи. На следующий день, клетки временно трансфецировали 3 микрограммами плазмидной ДНК, кодирующей LMNA, под контролем промотора куриного бета-актина (CB) (Minigene 1) или под GFP-контролем. Регуляторный элемент CB включает промотор куриного бета-актина и соответствует SEQ ID NO: 102. Клетки трансфецировали стандартными методами с использованием реагента для трансфекции Eugene (Promega). Через два дня после трансфекции, клетки обрабатывали трипсином, центрифугировали, и обрабатывали для анализа на белок. Образцы приготавливали для Вестерн-блот-анализа путем лизиса клеток в 4× буфере Лэмли с бета-меркаптоэтанолом (Biorad) и кипячения в течение 5 минут при температуре 95 градусов Цельсия. Затем, лизаты белков разделяли на геле TGX и переносили на нитроцеллюлозную мембрану. Мембраны блокировали и промывали в соответствии со стандартным протоколом проведения Вестерн-блот-анализа, а затем подвергали блоттингу с использованием первого антитела в течение ночи при 4 градусах Цельсия. Мышинные антитела против ламина А/С (CST #4777, 1:1000) и мышинные анти-GAPDH антитела (GeneTex #GT239, 1:2000) использовали в качестве первых антител. ПХ-конъюгированное антитело против мышиных IgG (Invitrogen A16078, 1:5000) использовали в качестве второго антитела для детектирования хемилюминесценции. Ламин С и ламин А были детектированы при 65 кДа и 72 кДа, соответственно, в то время как GAPDH был детектирован при 37 кДа.

[211] Клетки НЕК293Т, трансфецированные конструкцией, кодирующей только ламин А или ламин С, как и ожидалось, указывали на продуцирование каждого соответствующего белка. Клетки НЕК293Т, трансфецированные минигенной конструкцией LMNA 1, обнаруживали продуцирование ламина А и ламина С, что указывает на то, что одна конструкция была способна генерировать обе изоформы (фиг. 6). Минигены 2 и 3 не продуцировали обе изоформы ламина в тестируемых условиях.

Пример 2: Экспрессия мРНК ламина А и ламина С

[212] Клетки НЕК293Т культивировали и временно трансфецировали как описано выше. Кардиомиоциты iPS (Fujifilm) также временно трансфецировали. Кардиомиоциты высевали по 500000 клеток/лунку в 6-луночные планшеты и инкубировали при 37 градусах Цельсия в течение двух дней. Через два дня после трансфекции, клетки трипсинизировали, центрифугировали и обрабатывали для анализа на основе РНК. РНК экстрагировали из клеточного осадка с помощью мини-набора RNeasy (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителя, и использовали для синтеза кДНК с

помощью обратной транскриптазы SuperScript IV (Invitrogen). Количественную ПЦР проводили с использованием наборов праймеров, специфичных для ламина А/С, ламина А или ламина С (Таблица 5), для оценки уровней экспрессии соответствующих генов.

[213] Клетки, трансфецированные конструкцией, кодирующей только ламин А или ламин С, показали транскрипцию мРНК для каждого соответствующего гена, как и ожидалось. Однако, клетки НЕК293Т, трансфецированные минигенной конструкцией 1, продемонстрировали транскрипцию мРНК как ламина А, так и ламина С, что указывает на то, что одна конструкция была способна транскрибировать обе изоформы (фиг. 7).

ТАБЛИЦА 5: Праймеры, используемые для экспериментов, проводимых с помощью количественной ПЦР

SEQ ID NO:	Ген	Праймер	Последовательность
94	Человеческий ламин А	Прямой	GCTCTTCTGCCTCCAGTGTC
95		Обратный	ATGATGCTGCAGTTCTGGGG
96	Человеческий ламин С	Прямой	CCTGGTGTGGAAGGCACAG AAC
97		Обратный	GGCTACCACTCACGTGGTGG TG
98	Человеческий ламин А/С	Прямой	ACCAAGAAGGAGGGTGACC T
99		Обратный	AGCCTGTTCTCAGCATCCAC

Пример 3: Получение минигенной конструкции 1, продуцирующей ламин А и ламин С в ткани сердца и печени.

[214] Продуцирование ламина А и ламина С оценивали *in vitro* в клетках НЕК293Т. Клетки культивировали, временно трансфецировали и обрабатывали для проведения Вестерн-блот-анализа, как описано выше. Продуцирование ламина А и ламина С также оценивали *in vivo* у 12-недельных мышей дикого типа (фиг. 8,верху), и у 24-недельных мышей, гетерозиготных по гену LMNA (LMNA^{+/-}) (фиг. 8,внизу). Обеим мышам вводили вирус AAV9, несущий минигенную конструкцию 1. Образцы тканей собирали и быстро замораживали после экстракции и хранили при -80 градусов Цельсия до их использования. Затем их оттаивали, гомогенизировали на гомогенизаторе для сфер в буфере RIPA, содержащем коктейль из ингибиторов протеазы, и ресуспендировали в 4× буфере Лэмли с бета-меркаптоэтанолом (Biorad). Вестерн-блот-анализ проводили как описано выше.

[215] Клетки НЕК293Т, трансфецированные конструкцией, кодирующей только ламин А или ламин С, как и ожидалось, обнаруживали белок, соответствующий каждому ламину (фиг. 8,верху). Клетки НЕК293Т, трансфецированные минигенной конструкцией 1, обнаруживали продуцирование как ламина А, так и ламина С, что указывает на то, что одна конструкция была способна генерировать обе изоформы (фиг. 8,верху). Обе изоформы ламина А и ламина С обнаруживались у мышей дикого типа и у

гетерозиготных LMNA^{+/-}-мышей при введении им дозы вируса AAV9, несущего минигенную конструкцию 1 (фиг. 8, вверху и внизу). Уровни эндогенных LMNA обнаруживались как у мышей дикого типа, так и у гетерозиготных LMNA^{+/-}-мышей.

Пример 4: «Спасение» фенотипа заболевания у мышей с KO LMNA^{-/-}

[216] Животных с нокаутом LMNA^{-/-} получали путем скрещивания самцов и самок с LMNA^{+/-}. Пометам с LMNA^{+/-} × LMNA^{+/-} вводили инъекции в лицевую вену на р1. Инъекции в лицевую вену проводили, в основном как описано Lampe et al. (J Vis Exp.2014; (93):e52037). Мышам вводили 10 микролитров вируса AAV9, несущего минигенную конструкцию 1 (геномы вируса 2¹¹ на мышь), или PBS. Детенышей оставляли с матерью на три недели до отлучения без каких-либо манипуляций с детенышами.

[217] Мыши с нокаутом LMNA^{-/-}, получавшие PBS-контроль, жили менее, чем 50 дней (фиг. 9). Однако, мыши, которым вводили дозу AAV9, несущую минигенную конструкцию 1, жили более 80 дней, что указывает на то, что минигенная конструкция 1 существенно смягчала фенотип тяжелого заболевания, обычно наблюдаемый у мышей с нокаутом LMNA^{-/-}.

Пример 5: Экспрессия in vivo изоформ ламина А и ламина С у мышей

[218] 12-недельным самцам мышей C57BL/6 дикого типа системно вводили AAV9, несущий минигенную конструкцию 1, или PBS, через хвостовую вену в объеме приблизительно 200 микролитров. Составы AAV9 включали AAV9, несущий минигенную конструкцию 1 под контролем неспецифического промотора, AAV9, несущий конструкцию LMNA под контролем сердце-специфического промотора (сTNT), или AAV9, несущий GFP под контролем неспецифического промотора. Была использована низкая доза 4¹¹ вг/мышь или высокая доза 2¹² вг/мышь. Все животные были обработаны, и через шесть недель после инъекции были взяты образцы. Ткани сердца и печени собирали и хранили с использованием стандартных методов для более поздних экспериментов.

[219] Ткани после экстракции выдерживали в RNeasy lysis buffer и хранили при -80°C до их использования. Затем их оттаивали и гомогенизировали в буфере RLT на гомогенизаторе для сфер. РНК экстрагировали с помощью мини-набора RNeasy (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителя. Библиотеки кДНК получали из экстрактов РНК с использованием набора для получения библиотеки кДНК TRUseq (Illumina), подвергали NGS-секвенированию на платформе Nextseq 500 и анализировали.

[220] У мышей, которым вводили AAV9, несущий минигенную конструкцию 1 (под контролем неспецифического промотора), наблюдалась экспрессия ламина А и ламина С как в сердце, так и в печени (фигура 10А). Как и ожидалось, у мышей, которым вводили дозу LMNA под контролем сердце-специфического промотора (сTNT), наблюдалась экспрессия ламина А и ламина С в сердце, но не в печени (фигура 10В). Высокие дозы LMNA под контролем неспецифического промотора показали некоторую токсичность в печени у мышей, что было отдельно подтверждено путем оценки по биомаркерам сыворотки (AST, ALT, ALP, билирубин, креатинин и т.п.). Животные с низкой дозой были здоровыми.

Пример 6: Экспрессия ламина А и/или ламина С в клетках НЕК293Т с промотором CMV

[221] Клетки НЕК293Т инкубировали при 37 градусах Цельсия в течение ночи. На следующий день, клетки временно трансфецировали ДНК, кодирующей LMNA, под контролем промотора CMV или под GFP-контролем. Клетки трансфецировали стандартными методами. Клетки культивировали, а затем трипсинизировали, центрифугировали и обрабатывали для анализа на белок.

[222] Образцы приготавливали для Вестерн-блот-анализа путем лизиса клеток и кипячения при температуре 95 градусов Цельсия. Затем, лизаты белков разделяли на геле и переносили на нитроцеллюлозную мембрану. Мембраны блокировали и промывали в соответствии со стандартным протоколом проведения Вестерн-блот-анализа, а затем подвергали блоттингу с использованием первого антитела в течение ночи при 4 градусах Цельсия. Мышиные антитела против ламина А/С и мышиные анти-GAPDH антитела использовали в качестве первых антител. ПХ-конъюгированное антитело против мышиных IgG использовали в качестве второго антитела для детектирования хемилюминесценции. Ламин С и ламин А были детектированы при 65 кДа и 72 кДа, соответственно, в то время как GAPDH был детектирован при 37 кДа.

[223] Клетки НЕК293Т, трансфецированные конструкцией, кодирующей только ламин А или только ламин С, обнаруживали белок, соответствующий каждому ламину (фигура 12). Клетки НЕК293Т, трансфецированные минигенной конструкцией LMNA, имеющей последовательность ламина А/С (см. последовательность ламина А/С из минигенной конструкции 1), показали, что одна конструкция была способна генерировать обе изоформы (фигура 12).

Пример 7: Экспрессия мРНК ламина А и ламина С

[224] Клетки НЕК293Т культивировали и временно трансфецировали как описано в Примере 6. Через два дня после трансфекции, клетки трипсинизировали, центрифугировали и обрабатывали для анализа на основе РНК. РНК экстрагировали из клеточного осадка путем стандартной экстракции и использовали для синтеза кДНК с обратной транскриптазой. Для оценки уровней экспрессии соответствующих генов проводили количественную ПЦР с использованием наборов праймеров, специфичных к ламину А/С и к ламину А.

[225] Клетки, трансфецированные конструкцией, кодирующей только ламин А или только ламин С, обнаруживали транскрипцию мРНК для каждого соответствующего гена. Однако, клетки НЕК293Т, трансфецированные минигенной конструкцией LMNA, имеющей последовательность ламина А/С (см. последовательность минигенной конструкции 1 ламина А/С), транскрибировали мРНК как ламина А, так и ламина С, что свидетельствует о том, что одна конструкция была способна транскрибировать обе изоформы.

К. Последовательности

Таблица 1: Список типичных последовательностей нуклеиновых кислот

ламина А и/или ламина С.

SEQ ID NO:	Последовательность нуклеиновой кислоты	Название
1	ATGGAGACCCCGTCCCAGCGGGCGCGCCACCCGCAGCG GGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTCGCCCACCCGC ATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGCAGGAGC TCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGTGTGCGC TCGCTGGAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCCTTCGCAT CACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAGGTGTCCG GCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGGGGATGC CCGCAAGACCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGCGCGCCC GCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGAGGAGTTT AAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAGGAGGGTG ACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGACCTGGAG GCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGAGCACTGC TCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGAGCTGCAT GATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGGCAGCCCT AGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGAGATGCTG CGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAGACCATGA AGGAGGAAGTGGACTTCCAGAAGAACATCTACAGTGA GGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGAGACCCGA CTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGTGAGTTTGA GAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACTGCGGGCC CAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAGAAGGAGC TGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACAATGCCAGG CAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGTGGGGGCTG CCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATCCGCATCGAC AGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCAGAAGCAGCT GGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGACCTGGAGGAC TACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCCGGCGGCTGCT GGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGAGATGCGGGCA AGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTACCAGGAGCTTC TGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGAGATCCACGCC TACCGCAAGCTCTTGAGGGGCGAGGAGGAGAGGCTAC GCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCGCAGCCGTGGC CGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGTGGGGG CAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACCTGGAGTCCACTGAG AGCCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCACGCACTAGCGG GCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGAGGAGGGCAAG TTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATGAGGACCAGTC CATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCAGAATGGAGAT GATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCACCAAAGTTCACC CTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATCTGGGCTGCAG GAGCTGGGGGCCACCCACAGCCCCCTACCGACCTGGTG TGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGCGGGAACAGCC TGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGGGGAAGAAGTG GCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTGACTGTGGTTGA GGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGACCTGCTCCAT CACCACCACGGCTCCCACTGCAGCAGCTCGGGGGACCC CGCTGAGTACAACCTGCGCTCGCGCACCGTGCTGTGCG GGACCTGCGGGCAGCCTGCCGACAAGGCATCTGCCAGC	Последовательность ламина А

	GGCTCAGGAGCCCAGGTGGGCGGACCCATCTCCTCTGG CTCTTCTGCCTCCAGTGTACGGTCACTCGCAGCTACCG CAGTGTGGGGGGCAGTGGGGGTGGCAGCTTCGGGGAC AATCTGGTCACCCGCTCCTACCTCCTGGGCAACTCCAG CCCCGAACCCAGAGCCCCCAGAACTGCAGCATCATGT AA	
2	ATGGAGACCCCGTCCCAGCGGGCGGCCACCCGCAGCG GGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTCGCCCACCCGC ATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGCAGGAGC TCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGTGTGCGC TCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCCTTCGCAT CACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAGGTGTCCG GCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGGGGATGC CCGCAAGACCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGCGCGCCC GCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGAGGAGTTT AAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAGGAGGGTG ACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGACCTGGAG GCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGAGCACTGC TCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGAGCTGCAT GATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGGCAGCCCT AGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGAGATGCTG CGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAGACCATGA AGGAGGAACTGGACTTCCAGAAGAACATCTACAGTGA GGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGAGACCCGA CTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGTGAGTTTGA GAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACTGCGGGCC CAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAGAAGGAGC TGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACAATGCCAGG CAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGTGGGGGCTG CCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATCCGCATCGAC AGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCAGAAGCAGCT GGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGACCTGGAGGAC TACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCCGGCGGCTGCT GGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGAGATGCGGGCA AGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTACCAGGAGCTTC TGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGAGATCCACGCC TACCGCAAGCTCTTGGAGGGCGAGGAGGAGAGGCTAC GCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCGCAGCCGTGGC CGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGTGGGGG CAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACTGGAGTCCACTGAG AGCCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCACGCACTAGCGG GCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGAGGAGGGCAAG TTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATGAGGACCAGTC CATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCAGAATGGAGAT GATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCCACCAAAGTTCACC CTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATCTGGGCTGCAG GAGCTGGGGGCCACCCACAGCCCCCCTACCGACCTGGTG TGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGCGGGAACAGCC TGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGGGGAAGAAGTG GCCATGCGCAAGCTGGTGGCTCAGTGACTGTGGTTGA GGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGACCTGCTCCAT CACCACCACGTGAGTGGTAGCCGCCGCTGA	Последователь ность ламина С

3	ATGGAGACCCCGTCCCAGCGGGCGCGCCACCCGCAGCG GGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTCGCCCACCCGC ATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGCAGGAGC TCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGTGTGCGC TCGCTGGAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCCTTCGCAT CACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAGGTGTCCG GCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGGGGATGC CCGCAAGACCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGCGCGCCC GCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGAGGAGTTT AAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAGGAGGGTG ACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGACCTGGAG GCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGAGCACTGC TCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGAGCTGCAT GATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGGCAGCCCT AGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGAGATGCTG CGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAGACCATGA AGGAGGAACTGGACTTCCAGAAGAACATCTACAGTGA GGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGAGACCCGA CTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGTGAGTTTGA GAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACTGCGGGCC CAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAGAAGGAGC TGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACAATGCCAGG CAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGTGGGGGCTG CCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATCCGCATCGAC AGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCAGAAGCAGCT GGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGACCTGGAGGAC TACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCCGGCGGCTGCT GGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGAGATGCGGGCA AGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTACCAGGAGCTTC TGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGAGATCCACGCC TACCGCAAGCTCTTGGAGGGCGAGGAGGAGAGGCTAC GCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCGCAGCCGTGGC CGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGTGGGGG CAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACCTGGAGTCCACTGAG AGCCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCACGCACTAGCGG GCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGAGGAGGGCAAG TTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATGAGGACCAGTC CATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCAGAATGGAGAT GATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCACCAAAGTTCACC CTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGGTGAGTGGCAGGG CGCTTGGGACTCTGGGGAGGCCTTGGGTGGCGATGGGA GCGCTGGGGTAAGTGTCTTTTCTCCTCTCCAGATCTGG GCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCCTACCGA CCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGCGGG AACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGGGGA AGTAAGTAGGCCTGGGCCTGGCTGCTTGCTGGACGAGG CTCCCCCTGATGGCCAACATCGGAGCCAGCTGCCCCA ACCCAAGTTTGCCAATTCAGGGCCCCCTTTCTAGAGCTCT CTGTTGCAGGCTCCAGACTTCTCCACCCAGTAGGCAAA CCAAAAGATGCTTCCTCAACAGCACAAGGGGTGGAAG TTAGACAGTGAGGATTGTTAAAGGCAGAGCCATACTCC TACCCGGAGAGCTTGACAGTGTCCCTCTGGGGTGGAAG	Последователь ность ламина А/С минигена 1
---	--	--

	TGAGTTCCTTAGCTCCATCACCACAGAGGACAGAGTAA GCAGCAGGCCGGACAAAGGGCAGGCCACAAGAAAAGT TGCAGGTGGTCACTGGGGTAGACATGCTGTACAACCCT TCCCTGGCCCTGACCCCTGGACCTGGTTCCATGTCCCCA CCAGGAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTGA CTGTGGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGA CCTGCTCCATCACCACCACGTGAGTGGTAGCCGCCGCT GAGGCCGAGCCTGCACTGGGGCCACCCAGCCAGGCCT GGGGGCAGCCTCTCCCCAGCCTCCCCGTGCCAAAAATC TTTTCATTAAGAATGTTTTGGAACTTTACTCGCTGGCC TGGCCTTTCTTCTCTCTCCTCCCTATACCTTGAACAGGG AACCCAGGTGTCTGGGTGCCCTACTCTGGTAAGGAAGG GAGTGGGAACTTTCTGATGCCATGGAATATTCCTGTGG GAGCAGTGGACAAGGGTCTGGATTTGTCTTCTGGGAAA GGGAGGGGAGGACAGACGTGGGGCATGCCCGCCCTGC CTCTCTCCCCCATTCTTGTTGCATGCATATCCTCTCATTT CCCTCATTTTTCTGCAAGAATGTTCTCTCTCATTCCTG ACCGCCCCCTCCACTCCAATTAATAGTGCATGCCTGCTG CCCTACAAGCTTGCTCCCGTTCTCTCTTCTTTCTCTTA AGCTCAGAGTAGCTAGAACAGAGTCAGAGTCACTGCTC TGGTTCTCTGTCCCCAAGTCTTCCTGAGCCTTCTCCCCT TTTATGTCTTCCCTCTCCTCCTCCGGGCCCCTAGCCTCC CAAACCCCCATTGCCCGCTGGCTCCTTGGGCACAGAAC CACACCTTCCTGCCTGGCGGCTGGGAGCCTGCAGGAGC CTGGAGCCTGGTTGGGCCTGAGTGGTCAGTCCCAGACT CGCCGTCCCGCCTGAGCCTTGTCTCCCTTCCCAGGGCTC CCACTGCAGCAGCTCGGGGGACCCCGCTGAGTACAACC TGCGCTCGCGCACCGTGCTGTGCGGGACCTGCGGGCAG CCTGCCGACAAGGCATCTGCCAGCGGCTCAGGAGCCCA GGTGGGCGGACCCATCTCCTCTGGCTCTTCTGCCTCCAG TGTCACGGTCACTCGCAGCTACCGCAGTGTGGGGGGCA GTGGGGGTGGCAGCTTCGGGGACAATCTGGTCAACCCGC TCCTACCTCCTGGGCAACTCCAGCCCCCGAACCCAGGT GAGTTGTCTCTGCTTTGTCTCCAAATCCTGCAGGCGGGT CCCTGGTCATCGAGGGGTAGGACGAGGTGGCCTTGCAG GGGGGAGAGCCTGCCTTCTCTTCCGCAGCCCGGGGGAG TGGGAGCCTCCTCCCCACAGCCTGAGTCCTAGACAGCC CACCTCTGCATCCTGCCCCCTTGTCTGAGCCCCAGACT GGAGGGCAGGGGCAGGGCTGGAGTGTGAGGGATGGGG GAGATGCTACCTCCCTTCTAGGGGGCCAGGGGAGGGAG GGTCTGGGTCCAGGCCCTGCTGCTCACACCTCTCTCCTC TGTTTTCTCTCTTAGAGCCCCCAGAACTGCAGCATCATG TAA	
4	ATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCCGCAGCG GGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTCGCCCACCCGC ATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGCAGGAGC TCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGTGTGCGC TCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCCTTCGCAT CACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAGGTGTCCG GCATCAAGGCCGCTACGAGGCCGAGCTCGGGGATGC CCGCAAGACCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGCGCGCCC GCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGAGGAGTTT	Последователь ность ламина А/С минигена 2

AAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAGGAGGGTG
 ACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGACCTGGAG
 GCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGAGCACTGC
 TCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGAGCTGCAT
 GATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGGCAGCCCT
 AGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGAGATGCTG
 CGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAGACCATGA
 AGGAGGAACTGGACTTCCAGAAGAACATCTACAGTGA
 GGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGAGACCCGA
 CTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGTGAGTTTGA
 GAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACTGCGGGCC
 CAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAGAAGGAGC
 TGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACAATGCCAGG
 CAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGTGGGGGCTG
 CCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATCCGCATCGAC
 AGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCAGAAGCAGCT
 GGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGACCTGGAGGAC
 TCACTGGCCCCGTGAGCGGGACACCAGCCGGCGGCTGCT
 GGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGAGATGCGGGCA
 AGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTACCAGGAGCTTC
 TGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGAGATCCACGCC
 TACCGCAAGCTCTTGAGGGGCGAGGAGGAGAGGCTAC
 GCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCGCAGCCGTGGC
 CGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGTGGGGG
 CAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACCTGGAGTCCACTGAG
 AGCCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCACGCACTAGCGG
 GCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGAGGAGGGCAAG
 TTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATGAGGACCAGTC
 CATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCAGAATGGAGAT
 GATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCCACCAAAGTTCACC
 CTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATCTGGGCTGCAG
 GAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCCTACCGACCTGGTG
 TGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGCGGGAACAGCC
 TGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGGGGAAGTAAGT
 AGGCCTGGGCCTGGCTGCTTGCTGGACGAGGCTCCCCC
 TGATGGCCAACATCGGAGCCAGCTGCCCCCAACCCAAG
 TTTGCCAATTCAGGGCCCCCTTTCTAGAGCTCTCTGTTGC
 AGGCTCCAGACTTCTCCACCCAGTAGGCAAACCAAAAAG
 ATGCTTCCTCAACAGCACAAAGGGGTGGAAGTTAGACAG
 TGAGGATTGTTAAAGGCAGAGCCATACTCCTACCCGGA
 GAGCTTGACAGTGTCCTCTGGGGTGGAAATGAGTTCC
 TTAGCTCCATCACCACAGAGGACAGAGTAAGCAGCAG
 GCCGGACAAAGGGCAGGCCACAAGAAAAGTTGCAGGT
 GGTCAGTGGGGTAGACATGCTGTACAACCTTCCCTGG
 CCCTGACCCTTGACCTGGTTCCATGTCCCCACCAGGA
 AGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTGAAGTGTGG
 TTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGACCTGCT
 CCATCACCACCACGTGAGTGGTAGCCGCCGCTGAGGCC
 GAGCCTGCACTGGGGCCACCCAGCCAGGCCTGGGGGC
 AGCCTCTCCCCAGCCTCCCCGTGCCAAAAATCTTTTCAT
 TAAAGAATGTTTTGGAACCTTACTCGCTGGCCTGGCCTT
 TCTTCTCTCTCCTCCCTATACCTTGAACAGGGAACCCAG

	GTGTCTGGGTGCCCTACTCTGGTAAGGAAGGGAGTGGG AACTTTCTGATGCCATGGAATATTCCTGTGGGAGCAGT GGACAAGGGTCTGGATTTGTCTTCTGGGAAAGGGAGGG GAGGACAGACGTGGGGCATGCCCCGCCCTGCCTCTCTCC CCCATTTCTTGTTCATGCATATCCTCTCATTTCCCTCATT TTTCCTGCAAGAATGTTCTCTCTCATTCCTGACCGCCCC TCCACTCCAATTAATAGTGCATGCCTGCTGCCCTACAA GCTTGCTCCCGTTCTCTCTTTTTCCTCTTAAGCTCAGA GTAGCTAGAACAGAGTCAGAGTCACTGCTCTGGTTCTC TGTCCCCAAGTCTTCCTGAGCCTTCTCCCCTTTTATGTC TTCCCTCTCCTCCTCCGGGGCCCCTAGCCTCCCAAACCCC CATTGCCCCGCTGGCTCCTTGGGCACAGAACCACACCTT CCTGCCTGGCGGCTGGGAGCCTGCAGGAGCCTGGAGCC TGGTTGGGCCTGAGTGGTCAGTCCCAGACTCGCCGTCC CGCCTGAGCCTTGTCTCCCTTCCCAGGGCTCCCACTGCA GCAGCTCGGGGGACCCCGCTGAGTACAACCTGCGCTCG CGCACCGTGCTGTGCGGGACCTGCGGGCAGCCTGCCGA CAAGGCATCTGCCAGCGGCTCAGGAGCCCAGGTGGGC GGACCCATCTCCTCTGGCTCTTCTGCCTCCAGTGTACG GTCACTCGCAGCTACCGCAGTGTGGGGGGCAGTGGGG GTGGCAGCTTCGGGGACAATCTGGTCAACCGCTCCTAC CTCCTGGGCAACTCCAGCCCCCGAACCCAGAGCCCCCA GAACTGCAGCATCATGTAA	
5	ATGGAGACCCCGTCCCAGCGGGCGCGCCACCCGCAGCG GGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTCGCCCACCCGC ATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGCAGGAGC TCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGTGTGCGC TCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCCTTCGCAT CACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAGGTGTCCG GCATCAAGGCCGCTACGAGGCCGAGCTCGGGGATGC CCGCAAGACCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGCGCGCCC GCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGAGGAGTTT AAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAGGAGGGTG ACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGACCTGGAG GCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGAGCACTGC TCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGAGCTGCAT GATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGGCAGCCCT AGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGAGATGCTG CGGCGGGTGATGCTGAGAACAGGCTGCAGACCATGA AGGAGGAACTGGACTTCCAGAAGAACATCTACAGTGA GGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGAGACCCGA CTGGTGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGTGAGTTTGA GAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACTGCGGGCC CAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAGAAGGAGC TGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACAATGCCAGG CAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGTGGGGGCTG CCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATCCGCATCGAC AGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCAGAAGCAGCT GGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGACCTGGAGGAC TCACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCCGGCGGCTGCT GGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGAGATGCGGGCA AGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTACCAGGAGCTTC	Последователь ность ламина А/С минигена 3

	TGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGAGATCCACGCC TACCGCAAGCTCTTGGAGGGCGAGGAGGAGAGGCTAC GCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCGCAGCCGTGGC CGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGTGGGGG CAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACTGGAGTCCACTGAG AGCCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCACGCACTAGCGG GCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGAGGAGGGCAAG TTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATGAGGACCAGTC CATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCAGAATGGAGAT GATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCACCAAAGTTCACC CTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATCTGGGCTGCAG GAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCCTACCGACCTGGTG TGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGCGGGAACAGCC TGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGGGGAAGAAGTG GCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTGACTGTGGTTGA GGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGACCTGCTCCAT CACCACCACGTGAGTGGTAGCCGCCGCTGAGGCCGAGC CTGCACTGGGGCCACCCAGCCAGGCCTGGGGGCAGCCT CTCCCCAGCCTCCCCGTGCCAAAAATCTTTTCATTAAAG AATGTTTTGGAACTTTACTCGCTGGCCTGGCCTTTCTTC TCTCTCCTCCCTATACCTTGAACAGGGAACCCAGGTGT CTGGGTGCCCTACTCTGGTAAGGAAGGGAGTGGGAACT TTCTGATGCCATGGAATATTCCTGTGGGAGCAGTGGAC AAGGGTCTGGATTTGTCTTCTGGGAAAGGGAGGGGAG GACAGACGTGGGGCATGCCCCGCCCTGCCTCTCTCCCC ATTCTTGTTGCATGCATATCCTCTCATTTCCCTCATTTTT CCTGCAAGAATGTTCTCTCTCATTCCTGACCGCCCCCTCC ACTCCAATTAATAGTGCATGCCTGCTGCCCTACAAGCT TGCTCCCGTTCTCTCTTCTTTTCTCTTAAGCTCAGAGT AGCTAGAACAGAGTCAGAGTCACTGCTCTGGTTCTCTG TCCCCAAGTCTTCTGAGCCTTCTCCCCTTTTATGTCTTC CCTCTCCTCCTCCGGGCCCCCTAGCCTCCCAAACCCCCAT TGCCCGCTGGCTCCTTGGGCACAGAACCACACCTTCCT GCCTGGCGGTGGGAGCCTGCAGGAGCCTGGAGCCTG GTTGGGCCTGAGTGGTCAGTCCCAGACTCGCCGTCCCG CCTGAGCCTTGTCTCCCTTCCCAGGGCTCCCCTGCAGC AGCTCGGGGGACCCCGCTGAGTACAACCTGCGCTCGCG CACCGTGCTGTGCGGGACCTGCGGGCAGCCTGCCGACA AGGCATCTGCCAGCGGCTCAGGAGCCCAGGTGGGCGG ACCCATCTCCTCTGGCTCTTCTGCCTCCAGTGTACGGT CACTCGCAGCTACCGCAGTGTGGGGGGCAGTGGGGGT GGCAGCTTCGGGGACAATCTGGTCAACCGCTCCTACCT CCTGGGCAACTCCAGCCCCCGAACCAGAGCCCCCAGA ACTGCAGCATCATG	
6	GTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTGA CTACGGGGATTTC CAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGT TTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACA ACTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTGTGTATGCTCAGGGG CTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAGGAATT CGCCACCATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCC	Конструкция ламина А

GCAGCGGGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTGCGCC
 ACCCGCATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGC
 AGGAGCTCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGT
 GTGCGCTCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCC
 TTCGCATCACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAG
 GTGTCCGGCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGG
 GGATGCCCCGCAAGACCCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGC
 GCGCCCCGCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGA
 GGAGTTTAAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAG
 GAGGGTGACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGA
 CCTGGAGGCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGA
 GCACTGCTCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGA
 GCTGCATGATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGG
 CAGCCCTAGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGA
 GATGCTGCGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAG
 ACCATGAAGGAGGAACCTGGACTTCCAGAAGAACATCT
 ACAGTGAGGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGA
 GACCCGACTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGT
 GAGTTTGAGAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAAC
 GCGGGCCCAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAG
 AAGGAGCTGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACA
 ATGCCAGGCAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGT
 GGGGGCTGCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATC
 CGCATCGACAGCCTCTCTGCCAGCTCAGCCAGCTCCA
 GAAGCAGCTGGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGAC
 CTGGAGGACTCACTGGCCCCGTGAGCGGGACACCAGCC
 GGCGGCTGCTGGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGA
 GATGCGGGCAAGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTAC
 CAGGAGCTTCTGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGA
 GATCCACGCCTACCGCAAGCTCTTGAGGGGCGAGGAG
 GAGAGGCTACGCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCG
 CAGCCGTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACAC
 AGGGTGGGGGCAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACCTGGA
 GTCCACTGAGAGCCGCGAGCAGCTTCTCACAGCACGCAC
 GCACTAGCGGGCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGA
 GGAGGGCAAGTTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATG
 AGGACCAGTCCATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCA
 GAATGGAGATGATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCCAC
 CAAAGTTCACCCTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATC
 TGGGCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCCTAC
 CGACCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGC
 GGGAACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGG
 GGAAGAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTG
 ACTGTGGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATG
 ACCTGCTCCATCACCACCACGGCTCCCACTGCAGCAGC
 TCGGGGGACCCCGCTGAGTACAACCTGCGCTCGCGCAC
 CGTGCTGTGCGGGACCTGCGGGCAGCCTGCCGACAAGG
 CATCTGCCAGCGGCTCAGGAGCCCAGGTGGGCGGACCC
 ATCTCCTCTGGCTCTTCTGCCTCCAGTGTCACGGTCACT
 CGCAGCTACCGCAGTGTGGGGGGCAGTGGGGGTGGCA
 GCTTCGGGGACAATCTGGTCAACCGCTCCTACCTCCTG
 GGCAACTCCAGCCCCCGAACCCAGAGCCCCCAGAAGTG

	CAGCATCATGTAAACTAGTAATAAAAGATCTTTATTTT CATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTTGTGTG	
7	GTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTGTGTATGCTCAGGGG CTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAGGAATT CGCCACCATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCC GCAGCGGGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTTCGCCC ACCCGCATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGC AGGAGCTCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGT GTGCGCTCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCC TTCGCATCACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAG GTGTCCGGCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGG GGATGCCCGCAAGACCCCTTGA CT CAGTAGCCAAGGAGC GCGCCCGCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGA GGAGTTTAAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAG GAGGGTGACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGA CCTGGAGGCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGA GCACTGCTCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGA GCTGCATGATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGG CAGCCCTAGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGA GATGCTGCGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAG ACCATGAAGGAGGA ACTGGACTTCCAGAAGAACATCT ACAGTGAGGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGA GACCCGACTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGT GAGTTTGAGAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACT GCGGGCCCAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAG AAGGAGCTGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACA ATGCCAGGCAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGT GGGGGCTGCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATC CGCATCGACAGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCA GAAGCAGCTGGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGAC CTGGAGGACTCACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCC GGCGGCTGCTGGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGA GATGCGGGCAAGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTAC CAGGAGCTTCTGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGA GATCCACGCCTACCGCAAGCTCTTGGAGGGCGAGGAG GAGAGGCTACGCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCG CAGCCGTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACAC AGGGTGGGGGCAGCGTCACCAAAAAGCGCAA ACTGGA GTCCACTGAGAGCCG CAGCAGCTTCTCACAGCACGCAC GCACTAGCGGGCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGA GGAGGGCAAGTTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATG AGGACCAGTCCATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCA GAATGGAGATGATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCAC CAAAGTTCACCCTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATC TGGGCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCTAC CGACCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGC GGGAACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGG	Конструкция ламина С

	GGAAGAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGGCTCAGTG ACTGTGGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATG ACCTGCTCCATCACCACCACGTGAGTGGTAGCCGCCG TGAAGTAGTAATAAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTG TGTGTTGGTTTTTTGTGTG	
8	GTGATGCGGTTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTGTGTATGCTCAGGGG CTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAGGAATT CGCCACCATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCC GCAGCGGGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTGCCCC ACCCGCATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGC AGGAGCTCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGT GTGCGCTCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCC TTCGCATCACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAG GTGTCCGGCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGG GGATGCCCGCAAGACCCCTGACTCAGTAGCCAAGGAGC GCGCCCCGCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGA GGAGTTTAAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAG GAGGGTGACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGA CCTGGAGGCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGA GCACTGCTCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGA GCTGCATGATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGG CAGCCCTAGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGA GATGCTGCGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAG ACCATGAAGGAGGAACTGGACTTCCAGAAGAACATCT ACAGTGAGGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGA GACCCGACTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGT GAGTTTGAGAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACT GCGGGCCCAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAG AAGGAGCTGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACA ATGCCAGGCAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGT GGGGGCTGCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATC CGCATCGACAGCCTCTCTGCCAGCTCAGCCAGCTCCA GAAGCAGCTGGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGAC CTGGAGGACTCACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCC GGCGGCTGCTGGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGA GATGCGGGCAAGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTAC CAGGAGCTTCTGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGA GATCCACGCCTACCGCAAGCTCTTGAGGGGCGAGGAG GAGAGGCTACGCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCG CAGCCGTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACAC AGGGTGGGGGCAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACCTGGA GTCCACTGAGAGCCGCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCAC GCACTAGCGGGCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGA GGAGGGCAAGTTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATG AGGACCAGTCCATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCA GAATGGAGATGATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCAC CAAAGTTCACCCTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGGTG	Конструкция минигена 1

AGTGGCAGGGCGCTTGGGACTCTGGGGAGGCCTTGGGT
 GGCGATGGGAGCGCTGGGGTAAGTGTCTTTCTCCTC
 TCCAGATCTGGGCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGC
 CCCCCTACCGACCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTG
 GGGCTGCGGGAACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACT
 CCACTGGGGAAGTAAGTAGGCCTGGGCCTGGCTGCTTG
 CTGGACGAGGCTCCCCCTGATGGCCAACATCGGAGCCA
 GCTGCCCCCAACCCAAGTTTGCCAATTCAGGGCCCCCTT
 TCTAGAGCTCTCTGTTGCAGGCTCCAGACTTCTCCACCC
 AGTAGGCAAACCAAAAAGATGCTTCCTCAACAGCACAA
 GGGGTGGAAGTTAGACAGTGAGGATTGTTAAAGGCAG
 AGCCATACTCCTACCCGGAGAGCTTGACAGTGTCCCTC
 TGGGGTGGAATGAGTTCCTTAGCTCCATCACCACAGA
 GGACAGAGTAAGCAGCAGGCCGGACAAAGGGCAGGCC
 ACAAGAAAAGTTGCAGGTGGTCACTGGGGTAGACATG
 CTGTACAACCCTTCCCTGGCCCTGACCCTTGGACCTGGT
 TCCATGTCCCCACCAGGAAGTGGCCATGCGCAAGCTGG
 TCGCTCAGTGACTGTGGTTGAGGACGACGAGGATGAG
 GATGGAGATGACCTGCTCCATCACCACCACGTGAGTGG
 TAGCCGCCGCTGAGGCCGAGCCTGCACTGGGGCCACCC
 AGCCAGGCCTGGGGGCAGCCTCTCCCCAGCCTCCCCGT
 GCCAAAAATCTTTTCATTAAAGAATGTTTTGGAACTTTA
 CTCGCTGGCCTGGCCTTTCTTCTCTCTCCTCCCTATACCT
 TGAACAGGGAACCCAGGTGTCTGGGTGCCCTACTCTGG
 TAAGGAAGGGAGTGGAAGCTTTCTGATGCCATGGAATA
 TTCCTGTGGGAGCAGTGGAACAAGGGTCTGGATTTGTCT
 TCTGGGAAAGGGAGGGGAGGACAGACGTGGGGCATGC
 CCGCCCTGCCTCTCTCCCCCATTCTTGTTGCATGCATAT
 CCTCTCATTTCCCTCATTTTTCCTGCAAGAATGTTCTCTC
 TCATTCTGACCGCCCCCTCCACTCCAATTAATAGTGCAT
 GCCTGCTGCCCTACAAGCTTGCTCCCGTTCTCTCTTCTT
 TTCCTCTTAAGCTCAGAGTAGCTAGAACAGAGTCAGAG
 TCACTGCTCTGGTTCTCTGTCCCCAAGTCTTCCTGAGCC
 TTCTCCCCCTTTTATGTCTTCCCTCTCCTCCTCCGGGCCCC
 TAGCCTCCCAAACCCCCATTGCCCGCTGGCTCCTTGGG
 CACAGAACCACACCTTCCCTGCCTGGCGGCTGGGAGCCT
 GCAGGAGCCTGGAGCCTGGTTGGGCCTGAGTGGTCAGT
 CCCAGACTCGCCGTCCCGCCTGAGCCTTGTCTCCCTTCC
 CAGGGCTCCCACTGCAGCAGCTCGGGGGACCCCGCTGA
 GTACAACCTGCGCTCGCGCACCGTGCTGTGCGGGACCT
 GCGGGCAGCCTGCCGACAAGGCATCTGCCAGCGGCTCA
 GGAGCCCAGGTGGGCGGACCCATCTCCTCTGGCTCTTC
 TGCTCCAGTGTACGGTCACTCGCAGCTACCGCAGTG
 TGGGGGGCAGTGGGGGTGGCAGCTTCGGGGACAATCT
 GGTCACCCGCTCCTACCTCCTGGGCAACTCCAGCCCCC
 GAACCCAGGTGAGTTGTCTCTGCTTTGTCTCCAAATCCT
 GCAGGCGGGTCCCTGGTCATCGAGGGGTAGGACGAGG
 TGGCCTTGCAAGGGGGGAGAGCCTGCCTTCTCTTCCGCA
 GCCCCGGGGAGTGGGAGCCTCCTCCCCACAGCCTGAGT
 CCTAGACAGCCCACCTCTGCATCCTGCCCCCTTGTCTG
 AGCCCCAGACTGGAGGGCAGGGGCAGGGCTGGAGTGT
 GAGGGATGGGGGAGATGCTACCTCCCTTCTAGGGGCCA

	GGGGAGGGAGGGTCTGGGTCCAGGCCCTGCTGCTCACA CCTCTCTCCTCTGTTTTCTCTCTTAGAGCCCCCAGAACT GCAGCATCATGTAAACTAGTAATAAAAGATCTTTATTT TCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG	
9	GTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTGTGTATGCTCAGGGG CTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAGGAATT CGCCACCATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCC GCAGCGGGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTGCGCC ACCCGCATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGC AGGAGCTCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGT GTGCGCTCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCC TTCGCATCACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAG GTGTCCGGCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGG GGATGCCCCGAAGACCCCTGACTCAGTAGCCAAGGAGC GCGCCCGCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGA GGAGTTTAAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAG GAGGGTGACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGA CCTGGAGGCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGA GCACTGCTCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGA GCTGCATGATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGG CAGCCCTAGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGA GATGCTGCGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAG ACCATGAAGGAGGAACCTGGACTTCCAGAAGAACATCT ACAGTGAGGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGA GACCCGACTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGT GAGTTTGAGAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACT GCGGGCCCAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAG AAGGAGCTGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACA ATGCCAGGCAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGT GGGGGCTGCCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATC CGCATCGACAGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCCAGCTCCA GAAGCAGCTGGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGAC CTGGAGGACTCACTGGCCCCGTGAGCGGGACACCAGCC GGCGGCTGCTGGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGA GATGCGGGCAAGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTAC CAGGAGCTTCTGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGA GATCCACGCCTACCGCAAGCTCTTGGAGGGCGAGGAG GAGAGGCTACGCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCG CAGCCGTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACAC AGGGTGGGGGCAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACCTGGA GTCCACTGAGAGCCGCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCAC GCACTAGCGGGCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGA GGAGGGCAAGTTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATG AGGACCAGTCCATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCA GAATGGAGATGATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCAC CAAAGTTCACCCTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATC TGGGCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCCTAC	Конструкция минигена 2

	CGACCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGC GGGAACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGG GGAAGTAAGTAGGCCTGGGCCTGGCTGCTTGCTGGACG AGGCTCCCCCTGATGGCCAACATCGGAGCCAGCTGCCC CCAACCCAAGTTTGCCAATTCAGGGCCCCCTTTCTAGAG CTCTCTGTTGCAGGCTCCAGACTTCTCCACCCAGTAGGC AAACCAAAAAGATGCTTCCTCAACAGCACAAAGGGGTGG AAGTTAGACAGTGAGGATTGTTAAAGGCAGAGCCATA CTCCTACCCGGAGAGCTTGACAGTGTCCCTCTGGGGTG GAAATGAGTTCCTTAGCTCCATCACCACAGAGGACAGA GTAAGCAGCAGGCCGGACAAAGGGCAGGCCACAAGAA AAGTTGCAGGTGGTCACTGGGGTAGACATGCTGTACAA CCCTTCCCTGGCCCTGACCCTTGGACCTGGTTCCATGTC CCCACCAGGAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCA GTGACTGTGGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAG ATGACCTGCTCCATCACCACCACGTGAGTGGTAGCCGC CGCTGAGGCCGAGCCTGCACTGGGGCCACCCAGCCAG GCCTGGGGGGCAGCCTCTCCCCAGCCTCCCCGTGCCAAA AATCTTTTCATTAAAGAATGTTTTGGAACCTTTACTCGCT GGCCTGGCCTTTCTTCTCTCTCCTCCCTATACCTTGAAC AGGGAACCCAGGTGTCTGGGTGCCCTACTCTGGTAAGG AAGGGAGTGGGAACCTTTCTGATGCCATGGAATATTCCT GTGGGAGCAGTGGACAAGGGTCTGGATTTGTCTTCTGG GAAAGGGAGGGGAGGACAGACGTGGGGCATGCCCGCC CTGCCTCTCTCCCCATTCTTGTTGCATGCATATCCTCT CATTTCCCTCATTTTTCTGCAAGAATGTTCTCTCTCATT CCTGACCGCCCCCTCCACTCCAATTAATAGTGCATGCCT GCTGCCCTACAAGCTTGCTCCCGTTCTCTCTTCTTTTCT CTTAAGCTCAGAGTAGCTAGAACAGAGTCAGAGTCACT GCTCTGGTTCTCTGTCCCCAAGTCTTCCTGAGCCTTCTC CCCTTTTATGTCTTCCCTCTCCTCCTCCGGGCCCCCTAGC CTCCCAAACCCCCATTGCCCGCTGGCTCCTTGGGCACA GAACCACACCTTCCTGCCTGGCGGCTGGGAGCCTGCAG GAGCCTGGAGCCTGGTTGGGCCTGAGTGGTCAGTCCCA GACTCGCCGTCCCGCCTGAGCCTTGTCTCCCTTCCCAGG GCTCCCCTGCAGCAGCTCGGGGGACCCCGCTGAGTAC AACCTGCGCTCGCGCACCGTGCTGTGCGGGACCTGCGG GCAGCCTGCCGACAAGGCATCTGCCAGCGGCTCAGGA GCCCAGGTGGGCGGACCCATCTCCTCTGGCTCTTCTGC CTCCAGTGTACGGTCACTCGCAGCTACCGCAGTGTGG GGGGCAGTGGGGGTGGCAGCTTCGGGGACAATCTGGT CACCCGCTCCTACCTCCTGGGCAACTCCAGCCCCCGAA CCCAGAGCCCCCAGAACTGCAGCATCATGTAACTAGT AATAAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGT TTTTTGTGTG	
10	GTGATGCGGTTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTGTGTATGCTCAGGGG CTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAGGAATT	Конструкция минигена 3

CGCCACCATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCC
 GCAGCGGGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTGCGCC
 ACCCGCATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGC
 AGGAGCTCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGT
 GTGCGCTCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCC
 TTCGCATCACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAG
 GTGTCCGGCATCAAGGCCGCCTACGAGGCCGAGCTCGG
 GGATGCCCCGAAGACCCCTTGA CT CAGTAGCCAAGGAGC
 GCGCCCGCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGA
 GGAGTTTAAGGAGCTGAAAGCGCGCAATACCAAGAAG
 GAGGGTGACCTGATAGCTGCTCAGGCTCGGCTGAAGGA
 CCTGGAGGCTCTGCTGAACTCCAAGGAGGCCGCACTGA
 GCACTGCTCTCAGTGAGAAGCGCACGCTGGAGGGCGA
 GCTGCATGATCTGCGGGGCCAGGTGGCCAAGCTTGAGG
 CAGCCCTAGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCAGGATGA
 GATGCTGCGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGGCTGCAG
 ACCATGAAGGAGGAAGTGGACTTCCAGAAGAACATCT
 ACAGTGAGGAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGA
 GACCCGACTGGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGT
 GAGTTTGAGAGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAAGT
 GCGGGGCCAGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAG
 AAGGAGCTGGAGAAGACTTATTCTGCCAAGCTGGACA
 ATGCCAGGCAGTCTGCTGAGAGGAACAGCAACCTGGT
 GGGGGCTGCCACGAGGAGCTGCAGCAGTCGCGCATC
 CGCATCGACAGCCTCTCTGCCAGCTCAGCCAGCTCCA
 GAAGCAGCTGGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGAC
 CTGGAGGACTCACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCC
 GGCGGCTGCTGGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGA
 GATGCGGGCAAGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTAC
 CAGGAGCTTCTGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGA
 GATCCACGCCTACCGCAAGCTCTTGAGGGGCGAGGAG
 GAGAGGCTACGCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCG
 CAGCCGTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACAC
 AGGGTGGGGGCAGCGTCACCAAAAAGCGCAAAGTGGGA
 GTCCACTGAGAGCCGCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCAC
 GCACTAGCGGGCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGA
 GGAGGGCAAGTTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATG
 AGGACCAGTCCATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCA
 GAATGGAGATGATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCAC
 CAAAGTTCACCCTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACGATC
 TGGGCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCCTAC
 CGACCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCTGC
 GGGAACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACTGG
 GGAAGAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTG
 ACTGTGGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATG
 ACCTGCTCCATCACCAACACGTGAGTGGTAGCCGCCGC
 TGAGGCCGAGCCTGCACTGGGGCCACCCAGCCAGGCCT
 GGGGGCAGCCTCTCCCCAGCCTCCCCGTGCCAAAATC
 TTTTCATTAAAGAATGTTTTGGAAGTTTACTCGCTGGCC
 TGGCCTTTCTTCTCTCTCCTCCCTATACCTTGAACAGGG
 AACCCAGGTGTCTGGGTGCCCTACTCTGGTAAGGAAGG
 GAGTGGGAAGTTTCTGATGCCATGGAATATTCCTGTGG

	GAGCAGTGGACAAGGGTCTGGATTTGTCTTCTGGGAAA GGGAGGGGAGGACAGACGTGGGGCATGCCC GCCCTGC CTCTCTCCCCCATTCTTGTTGCATGCATATCCTCTCATTT CCCTCATTTTTTCTGCAAGAATGTTCTCTCTCATTCCTG ACCGCCCCCTCCACTCCAATTAATAGTGCATGCCTGCTG CCCTACAAGCTTGCTCCCGTTCTCTCTTCTTTTCCTCTTA AGCTCAGAGTAGCTAGAACAGAGTCAGAGTCACTGCTC TGGTTCTCTGTCCCCAAGTCTTCCTGAGCCTTCTCCCCCT TTTATGTCTTCCCTCTCCTCCTCCGGGCCCCCTAGCCTCC CAAACCCCCATTGCCCCGCTGGCTCCTTGGGCACAGAAC CACACCTTCCTGCCTGGCGGGCTGGGAGCCTGCAGGAGC CTGGAGCCTGGTTGGGCCTGAGTGGTCAGTCCCAGACT CGCCGTCCCGCCTGAGCCTTGTCTCCCTTCCCAGGGCTC CCACTGCAGCAGCTCGGGGGACCCCGCTGAGTACAACC TGCGCTCGCGCACCGTGCTGTGCGGGACCTGCGGGCAG CCTGCCGACAAGGCATCTGCCAGCGGCTCAGGAGCCCA GGTGGGCGGACCCATCTCCTCTGGCTCTTCTGCCTCCAG TGTCACGGTCACTCGCAGCTACCGCAGTGTGGGGGGCA GTGGGGGTGGCAGCTTCGGGGACAATCTGGTCACCCGC TCCTACCTCCTGGGCAACTCCAGCCCCCGAACCCAGAG CCCCCAGAACTGCAGCATCATGTAAACTAGTAATAAAA GATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTG TG	
11	AATAAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGT TTTTTGTGTG	Последовательность сигнала полиаденилирования
70	GTGAGTTCGCCCAGGTGGCTGCGTGCCCTGGCGGGGAGT GGAGAGGGCGGGCGGGCCGGCGCCCCCTGGCCGGCCGCA GGAAGGGAGTGAGAGGGCCTGGAGGGCCGATAACTTTG CCATAGTCTCCTCCCTCCCCGGAAGTGGCCCCAGCGGG TGA CTGGCAGTGTCAAGGGGAATTGTCAAGACAGGAC AGAGAGGGGAAGTGGTGGTCTCTGGGAGAGGGTCGGGG AGGATATAAGGAATGGTGGGGGTATCAGGGACAAGTT GGGGCTGGGGCCGGCCTGAATTCGGTCAGATTGGGATT TGCCAACTATTTGGAGCCGGGGGGAGGGGCTTGAGCA AAACAGAACTAGCCCTGCCAGCTCGAAGAACTCTGGGC ACCCAGGACACATCGGAGTGGCAGAAAGGGTCCTGTT AGAACTTTGTTAGCGGGCTTGGCACTGTGCTAGCTTTG CCCAAGCTGGCTCTGAACACATGATGCCCCACTAAGACA TAACTCTCAAGTTGGCATCTGTCCAGCGTGTGAGCG AGGTCAGGAAGGCAGGGCAATCCCCCTTTTCCCTCCCA AGGGCTTGGCGGTGGCCCCCCCCCTCAGCATGACCTTGTC CTGGGTTCTAAGGGTTGGGAAGTTCTCCCTCACTCTGCC ACTCTGCGTGTCTGGGACCTTCCTTGGGCTCTGACAGG CCCACCAAAAGAGCTCCGGGAGATGAGAGATCGGCTC CCCCGCAGCTCCCACAGCCCTTGGCCTGCTTGGCCCAG GAATGCAAGGGAGGGAGGGAGGCAGAGGGCAGAGGC TCCCAGCTCAGGAAGTTGTGTTATGCCAGGTCTGGCC GCACTCCTCCCTTGGCCCTCTGCCTAGTGTCTTCGAGGG TTGGGGGCACTGTCCTTCCCTCCTTGGGGTGAGCCACTT TCATTTTCCCAGCGGGGCCAGGCAGTCTTTGCTCGGGC	Интрон 1 ламина А и ламина С

CCATCCTCTTAGCTGCTGACGTTTTGATCTTTGTCTTATT
 GAAGTGCTGGAATACAGTGACATTTTTGAAATCCAGCC
 GTTGGAAGATTCAGGCCACTCCCACCTTTACCCACCCCT
 GCCCCACCCTACCCACCCCTACTCAACTGCACCTTCTTC
 TTTTCTAAAAAAGCCTTTGGGAGCTTGGAAGTATAGGC
 CCTCTCTTCCAGCCCCATCAAAATTTGTTTCCCTTCTTC
 CTGCCTTCCCTTTCTCTATGCAGACCCAGGCCAAGAGC
 ACTAAGGGTGCTTGGAGATCCGTAAAGGGCTGTTGGCT
 TTGACTTCTTCTCTCTCTTTTATCATCTACTCCAAACTTC
 TGCTCTTCCCTAGAACCCTTTGCTAGGTGTGGTTTTGTG
 CCCAGGCTGGAGTGCAATGGCACAATCTCGGCTCACTG
 CAACCTCCGCCTCCCAGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTC
 AGCCTCCCGAATAGCTGAGATTACAGGCATGTGCCACC
 ATGCCGGGCTAATTTTGTATTTCTAGTAGAGATGGGGT
 TTCTCCATGTTTCGTCAGGCTAGTCTTGAACCTCCCAACCT
 CAGGTGATCCACCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTAGG
 ATTACAGGCATGAGCCACCACGCTGGGCCCATCACCCCT
 TCTTTCTGAAGAGTCAATGGAAGTTGTGTGTAGGAAGA
 CAGGCTTAACGGTTTTTTTTTTGAGACAGGGTCTTACTCT
 GTCACCCAGACTGGAGTGAAGTGGTGCGATCTTGGCTC
 ACCACAACCTCTGCCTCCCAGGCTCAAAGATTCTCCT
 GCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTATAAGTGTGTG
 CCACCACACATGGCTATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTA
 ATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTCACCATGTTGGCTAGG
 CTGGTCTCAAACCTCCTGACTTCAAATGATCCACCTGCCT
 CGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCTAC
 CATGCCCGGCCATCAACCTTTATTTTGTTTTTTTGAGAC
 GGAGTCTTGCTTTGTTGCCCAGGCTGGAGTACAGTAGT
 GTGACCTCAGGTCAGTCAACCTCTGCCTCCCAGGTTC
 AAGCCATGCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAAGTAGCTGGGA
 CTATAGGTGCCTGCCACCACGCCCGGCTACTTTTTATAT
 TTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGGT
 GATCTCGAACTCCTGACCTCAAGTGATCTGCCTGCCTC
 AGCCTCCCAAAGTGTTGGGATTAGAGACGGGAGCCACT
 GCGCCTGGCTTCTTTTTTTCTTGAGATAGGGTTTCACTC
 TGTTACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCAAGGTCATGGCT
 CACTGCAGCCTCTACCTCTCTGGCTCAAGCCATCCTCCC
 GCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACCACAGGCAGGCA
 CCACCACCCACAGCTAATGTTTTTGTATTATTTGTAGA
 GATGGGGTTTTGCCATGTTGCCACAGTCTTGAACCTCT
 GGGTTCAATTCTGCTGAAAGAGACCACACCTGTCCTTTTC
 TTTATTTTTATTATATTTTTTCAGAGACAGGGCCTTGCCC
 TGTTGCTCAGGCTAGAGTGCAATGGTACAATCATAACT
 TGCTGCAGCCTGGAACCTCCTCCTGGGCTCAAGCGATCC
 TACCGTCTCACCTTCCGGAATAGCTGAGACTAAGGGCA
 GGCACCACCACGCTTGGCTAATTTTTTTTTTTTTTTTTT
 TTTTTTGCTTTTTGTTTGTAAAGATGGAACTTGCTATG
 TTGCTCAGCTGGTTCGGAAGTTTGGCCTCAAGCAATCC
 TCCTGCCTCGGCCTCCGGAAGCACTGGGATTACAGGCA
 TAAGCCACCAGGCCTGACGCCAGGCCTGTCTTTTTTCTA
 CTAGTGATATGAACAATTTAGTTAGCAAGACAGATAGG
 AAGCAAGGAAGGGGAGACCCAGAGAATTCGTTGCATT

CTAAACTAGTCCACTCATCTACCAAAGCCCTGTGAAGG
 ACATTTTTTAGCAGTTTTAGCAGTTTTCTGGTCAAACTT
 TGATCGAGAAACAGATTGAGTGGATTTCGATATTCTCTT
 GCTCACCCAGCCACGCCAGTTTGTCTCCTCTGCCTCCTA
 GTGCAGCTGTCCAGGCCTGGGACACCAGGCGGGTATGT
 GCGCATGTGGGGCAGGGCGGAGGTGGTGTGTGTACTTG
 TTATATTTAGCCACCTCCCTCTGTTCTCCCCACTGATC
 CTGGCTGGAAAGGCTGGGCTTCCGAAAAGAGAGGTG
 GATTTGCACACCTGGATCCCAAGCTGATAGAAAGTGGG
 GTGAAGACAAAGGGGACTCAGACTGGGGTGTCTGTCTT
 CTTCTATGCCACAGTAGGAGGAGCCAGGATTGGTTAC
 TCCCTGCTGGGTCTGCTGTGCTCAGAGTGAGGTAGAGA
 AGTGGGTAGAGTAAAGAATTTGGGAGAGGAAAAAAGG
 CATTTTCCCAACCCCTCCCACCAAAGCCTAGAGAGAAG
 GTGTTGTCTGGTTTAATGTTTAATTAGAGCTCAGAGTTC
 AGGGCCAGATTTGGAGTTGGGATGGAAAGTTGTTTTTA
 AGACCCTGTAGCAATTTTGTACCCAGCCTGGGTACCTC
 AACCACACTCAGGAGTTTGGGGGACCTTCTGTTGGGCT
 GGATTATAGGCTCCAAGAAGAAACCCCTTTCGCCAATA
 CTCTCTCTCTTCTTTTTTTGAGACAGGGTCTTGTTCTG
 TTGCCCAGGCTGGGGTGCAGTGGCATGATCACAGCTCA
 CTGCAACGTCAGCCTCACAGGCTCTGGTGATTCTCCCA
 CCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAAGTGTGTGC
 CACCATGCCAGCTAATTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTT
 GAGACGGAGTCTTGTTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAG
 TGGTGCGATCTCGGCTCATTGCAACCTCCACCTCCAG
 GTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCT
 GGGACTACAGGCACATGCCATCACGCCCAGTTAATTTT
 TGTATTTTTAGTAGAGTTGGGGTTTCACCATGTTGGCCA
 GGATGGTCTTGATCTCTTGACCTCGTGATCCGTCCACCT
 TGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCAC
 CGTACCCGGCCACTAATTTTTATATATTTTGTAGAGATG
 GGGTTTCACCGTGTTGCCCAAGCTGGTCTCGAACTCCT
 AGGCTCAAGTAATCCACCTGCCTTGGCCTTGGCCTCCC
 AAAGTGCTGGGATGTATAGGCATGAGCTACCGCACCTG
 GTACCCCTGCCCTTCTCTGTCTCTTTCTAGTCTGTAG
 CCAAGGGATTTGGATACCCAAGTGCAGGCAGAATGG
 GAAGGTTGTAAGCACCAGGGAAGCCTGTCTGGAGTCCA
 GGCTTGCAGCTGGGCCCCACCCAGGCAAGGCAGCTGG
 GTGGATGACTCAGATGCTGCCCCCTCCCTCCCACCCT
 GGTGGCTTTACAGAAGACAGCAGGAGACAGGGTGGAG
 ACAGCAGTTGTCTTAAAGGGAGGAGTGGTGGTCTGAAT
 GTCTACCTCTTCTGCCCCCTCCCCATTGCATCCTGGAG
 TCCCTTGCCTGGCTCCTTCCTGAGACCCTCTGGTGGTGT
 CTGGACACATAGCTCTCTCTGGACAGGTAACATGCACA
 AGTAATTAGAATCCAGAGTTGAGTTCAGAGTTATGGAT
 TGGGCTGCAGGATAGTGCCAGGGTCTGTGCCTTCCCAT
 GTGAAACTGATGGAGGAAGGCTGAGTCAGAAGTGGGG
 AGATCCGAGGCCCCACAAAGCAGAAGCGCTACTTCCACT
 CCAAAAAGGCCCTGGTGCTTGACAACTTCTGGATTGC
 CCACTGTTGCAGCCCCAGTGTGGACAGGCAGGGAGATG
 CAGGCTCCAGTTCATGTAGGCTCTGATCAAGACAAGAA

CAGCAAAGGCCACAGAGGCACAGATGCTTGTCCCATGT
 CACACAATAAAGGGGTCAGCACTTGATCACAGGCCTTA
 TGACTTCCAGCTGGGTGTGCTCTTACCATTAAGCCTCAC
 TTCTCTAGCTTGGGGGACAGGTTGGAGGGAGGATCTAG
 AGGGTGAGGTAAGGTGAAGTCAGGTAGCTGAGGCTCA
 CTTCTGCAGCCTGGAAACTCTGCTCTGGGGCCAGTGAC
 ACCTTAGTGCTCTATGGCCATACTTCGTGGCTCATGCCT
 GTAATCCCAGTGCTTTGGGAGGCTAAGGCAGGAGGATC
 ACTTGAGGCCAGGAGTTTGAGACCAGTCTGGGCAACAT
 AGCAAGACCCCCTTCTGTACAAAAAATTAGCCGGTCA
 ACACCTGTAGTCCAGCTGCTTGGGAAGCTGAGGCGGGA
 GGATCACCTGAAGCCAGGAGTTTGAGGCTATTGTGAGC
 TATGACTGCACTACTGCACTCTAGCCTGGGAGAGAGAA
 AGACCCTGTCTCTGAAAAAGAAAAAACAACAAAA
 CTCTGCTGTCCTGCAGGGCCTGTTAGCATATGATCGAT
 AGCCTTTGCTCCAGCCTATACCTGGACCCAGGACCCCT
 GCCAGCCCCTCAATCGTGAGACGGTCAGAGCTCTGGGA
 GGCTGGTGATTCTTGTCTTGAGACTATCTTGAGACTTGT
 CATGGGAATTGTCCACCCGGATTGAAAGGAAGCTGTGC
 CTTTTGGCAGACCCATTAGGTAAATGGGGTTGGAGACC
 TTTGAGGATGCATGGGCCCTGGGCTTTATCTGAGGGTA
 TCTCCTGGTGTTACCTCTCCAACCCTCCACCACCAAATC
 CATTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGACAGTCTCGC
 TCCCTGGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCATGATCTTGG
 CTTACTGCAATCTCCACCTCCCAGGCTCAAGTGATCCTC
 CCACCTCAGCCTCCCAAGAAGCTGGGACTATAGGCACG
 TGCCACATGCTCGGCTAATTTTTCTATTTTAGTAGAGA
 CCAGGTTTCACCATGTTACTCAGGCTGGTCTTGAACCTC
 GGGGCTTAAGCAGTCCACCCACCTTGACCTCCCAAAGT
 GCTGAGAGCCACTGAGCCTAGCCCAAATCCACGTTCTG
 ATTCAAAGGGAAAGAAGAAGGGTGCAGCTAAACCTGG
 GGGGTGAGAAGTACTTAAAAAGCCCAAGAGAAACAAA
 AGAGAGAATAATTCTCACTAGGACCCCCTATTGCCTT
 CCCACTATTGGTGCCCTTGCTTGGCACTTCCCCTGGCCT
 CCAGGAGTCTGAGACTTACTCTTCCATGGATGTGCCCA
 TTGCCCCCACTTCCAGGTCCACCCCCCAGTGATTTCGGTA
 GCTTAGTGTCTGCGCTGAAGCCCAGGACAGCTGGATGG
 ACAACTGGTAGATCCCTTCACCTACCAACTGTGCTTTCT
 GCTCCCCCTCCCCCTTGCTTCCCTCCTCCCCAGCCCCTCG
 CCACCCCCTAGCAGCTGCAGCAGCCAAGACCAAGTCTTC
 AGAGACCCAGACACAAGGGCAGGGTTCATTCCATTCTC
 ACCTCCTTGGGGTCCCAGTGTACTGATAGGCCGAACCTC
 TAATATTATAGGAGATCTCTGGAAGATTGCAGGGTCTC
 TTATCCCTCAATAAGGGGCAAGGCAAGCCGGGCGCAGT
 GGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGAGAAGCCGAG
 GGGAACAGATCACTTCAGGTCAGGAGTTAAGAGACCA
 GCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTCTCTACTAAAAA
 TACAAAAATTAACCAGAAATCGCTTGAACCCAGGAGG
 CAGATGTTGCAGTGAGCCGAGATCACGCCACTGCACTC
 CAGCCAGGGCGACAGAGCAAGATTCCGTCTCAAAAAA
 ATAATACTAATAATAATAATAATAAAGGGGCAAGG
 TAGTCCACCAACAAAATGACAGGCAGTGTGATATAGTG

GACACCCTAGCCCTCGGTGCCCTTAGTTCTGTGTGTGGC
 CCTTTCACATAAATTGCTGTGTGACCTTGAGCAAATCGCC
 TCCCCTTTCTGGCTTTCCCTTAGCTGTAAAAGAAAGGGAT
 TGGAGCGGAAAGTCTCCAGAGACCTTTTAGGTTCCAAA
 GTAGTACAGTGACCCACAAAGTGAGAAAACAGTCTTCT
 AAAATACCAAGTTATTAATAGTAAAATCAAATATAAAT
 AATGTGAATATAGTTAATAGCTAATGTTGTTCTCAATA
 GAAATGTTTCCACAAAGCTGTGGAATTAAACATACTAC
 CACATTTCTCTATTTCCCCGTGAAAGTTTGTTAGAAATG
 GTTAAATTGTGACATTACCCTCTTGGCAAATGTTTTGTT
 TTCATTGCTACTAGGAAAGGGCAACTCGTTTTTCGATGC
 CTCTCCCTTCTGGACGGTGGAAGGGGCTGTGTCATAGA
 GTAGGAACGGGAGATGCGGCACAGGAATGGCTCCCAT
 TGACCCGGGTTGGGGGCTAGGGCGAAGGCCTAGGAGA
 GGCAGAACTGTTACCTTAGAGCTGGCCAGGATTAGAGA
 ACAGTGCCTGGAACCGGGGGGAGGGGCACGGTGACCT
 TGGGCTGCCCACCTTCTACCCTTCCAGCACCCATACTGG
 CTCCCCCAACCTGCGGCTGGGCTGGGAGGAGGTCTTGG
 CCCCTACCAATCCCTTAAGGAAGGGGAAAGAGTTTGGG
 AAGGGGAGTCTCCCTTCACCCCTGCCTCCCCCAAGTT
 GTGAGAGAGGAAGCCGGAATCCTGCCTGCTGAAGCCA
 GGAATAATTCTGGCTGAGATCCCAGGCCCGGCAGGGGC
 GCTGAGTCATGGTAGAGGGCAGAGTGAGAGTGAGACA
 GGAGACCCTAAGCTTGTCCAGTCAGAAAAGCAGAGGC
 TGAGGGGTGGCCTTTTCTTGAGAACTACATTCAAGTTG
 CAGCAAGAAGGACAGTGGTCTGAATTTGACGGGGACA
 AATGGAAGGGAGATAGGACACATGAGTTCCTTTAGGTC
 TGGCTCAGGGGAGCTAGACTTCATTTCAAGGGGTCTAG
 GTTCTGGGCAGTTGAGAAGGAGGCTATTTGGGGTCACC
 AAGGCTCCCCCTTTCTTCCCAAAGCTCTAACACTGCCACC
 TTCTGCTGGCTAGGAGAGAGCTGTGTCTTCTGAGGCTA
 GAGCTGGAATGCAGTGAGACCAGACTGCCTAGGTCCTC
 CCTCACTTCTTCTCCTGACCTTGGGGTGTGGCTCCCCT
 CTCTCCCAGTGTCTCAGGGTTAATAACTATGTGCCACC
 AGATAGAGAGTTAAGGGGCTGCTGAATTGGCTTCTTGT
 GAAGGGGAATCCCCTAAATGTCCCTCGTTTTGGTCACTG
 GCCTCCCTCCCGCCCCCTTCAGGACATTCTACTATCTTC
 TTAGGCCATCCCTCCCTCCTCCAGGCACTACTTCTTTTG
 CTCTATCCCCAAGCCCCACCCCTGCATTTTTGTGACAAC
 ACCGGAATGATTTCTAGAGAGAGAGGCCAGGAAGAAG
 GAAAGTGGCACTTGGCAGGAGACCTTGCAGGGGGCGG
 CTGGTGAGGAAGCCAGCCGCCATTGTCCAGGACCCCA
 GTGCCCTGGCCTCCGGCCTCAGGCTTCTCCTGCCTCTGT
 ACAATGCCACGTTGATACGCCCAGCAGCTGTGACTCAG
 GCCTGGCCCCCTGCCAGGCCCAGCACTTCTACTGGAGT
 TGCGTCTGAACATGTCAACAGGCTTCCTATCCCTCTCTC
 AGCACCAGTTCTCCCCACTTCAGCCCCTCCCTCTGCCTG
 GAATTAAAACCTGGCTTTGTCTTAGGGAAGGACAGCTG
 GGAGCCTAGTGGCTCTGGTAGGGGATCTGAGAGGCCTC
 AGACCCTAGGCATATTTGGCTGTTTGGCAGGTGTCACG
 CCAAGGGAAGCGTGTGGAAGCAGAGCCATGCCTGCT
 GTGGGTGCACATGCCCGCGTGAGGGAGTCGGGGTGTTT

CATCCTGGGGCACCTGTGGGCTTTTGAGGTGTATGATA
 TTCAGAACTTCACAGGTTGGGGTTTGGGGAAGGCTCAA
 GGGGCTTCTAAGTCCCTGGAACAGCTGCCCCCTCAGT
 TCCTCTCTCTCTCTCTCTTTTTTTTTTGAGATGGAGTCTCG
 CTCTGTTGCCCAGGCTAGAATGCAGTGGCGCGATCTTG
 GCTCACTGCAAACCTCCGCCTCCTGGGTTCAGTGATTCT
 CCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGACTATAGGTGC
 CCGCCACCATGCCTGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGA
 AATGGGGTTTCACCATGCTGGCCAGGATGGTCTCAAAC
 TCCTGACCTCGTGATCCACCCACCTTGGCCTCCCAAAGT
 GCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACTGCGCCCAGCCTCA
 GTTCCTCTCTTTAAGGTCTCCTTCCAGAGAGGGATAGC
 ACCTCAAATGCCAGGGAGGGGAATTCTCCACATCCTGC
 CCTTACCCGAGTTGTGGCAGACCCACAGACTAGCCAAG
 AAACCAAGCAGTGGTTACTTTGCCGGGTGGGGGGGAG
 GTAGGGGCTATCAAACCTCATGATTGGCCGCACACAAA
 GGTGTGAGTATGTGTATTTGAGGGTGGGTGGGAGTG
 GCACTTTCACTAGGCCTCCGTATCACTCTCTGACTGGGG
 TATCTCCAGCAAGCGAGACAGAGGCAGACACGCTTCC
 CAGACTGTCTTACTGGGTCTCTCTGTGTTATTCTCTGCA
 GTGTCTGTGTGTATCGTGCCATTTTCTATGTTTTGCACC
 AATCTGCTGTGAGTGTCTCAGGTGACCTGGGGGCAGG
 TTTTGTAGTGCCTGAGCCTACCCGTCTCCAGGCTTTAGTT
 TCCCCCTGTAAAAGTATAGGAGTTGGTTCAAGAGAAGG
 TTCCTCTAGAAGCCTTGAGCCTGTGAACCGTCTAGTCTC
 CGGGTATTTGTGGGACACACAGAAAAAGCCCCACGAC
 CCAACAGGTAGAACACTGGCTGAAATCAGCAGGGCAG
 AGCTGAGACAGGCTCAAGTAGGCTGAGGGGTAGGGAG
 GTTTTGGGTGAATGGGAGGGAGGGACAGAGAGAAGGA
 GGATATATTGCAGTAGGAGGAGTTGCTGGAACAAAAG
 GAGGGGTGGTAGGAGTGGCTTGGGGTGGCAGCAGAAG
 ACGCCCTGTCACATGGCGGGAAGTCAGCCTGGGCAGA
 GGTCTAGGTGTCCAGGAGGGGCTGGGTGTGGTGGCTCA
 CGCTGTAAATCCCAGGACTTTGGGAGGCTGATGCAGGA
 GGATCACGTGAGGTCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCC
 AACATGGCGAAACCCTATCTCTACTAAAAATGCCAAA
 ATTAGCTGGGTGTGGTGGCAGGCGCCTGTAATCCCAGC
 TACTCTGGAGGCTGAGGCACAAGAATTGCTTGAACCTG
 GGAGGTGGAGGTTGCAGGGAGCCGAGATCGCGCCACT
 CTACTCTAGCCTGGGCAACACAGTGAGACTCTGTCTCA
 AAAATAATAATAATAGGGGCTGGGCGCGGTGGCTCAT
 GACTGTAATCCCAGCATTTTGGGAGGTGGAGGCGGGTG
 GATCACCTGAGGTCAGGAGTCCGAGACCAGCCTGGCCA
 ACATGGCAAACTCCGTCTCTACTAAAAATAGAAAAAT
 TAGCTAGGCATGGTGGTGCAGGCCTGTAATCCAGCTAC
 TCGGGAGGCTGAGAAGCAGGAGAATCACTTGAACCTG
 GGAGGTGAAGGTTGCAGTGAGATCACCTGGGCGACAG
 AATGAGACTCCACCTCAAAATAATAATAATAGTAATAA
 TAATAAATGAAAAATTTTAAATTAACAATTAAAAAT
 TTTAAATTAATAAATAACAATAATAGATGCCAGGAGGA
 TACAGGAGAGCATTTGCCACCAGGCGGACTCCCTGTAC
 CCACCCGGCCACAGGGGGCGATGTTCTTGGGAGACAG

GAAATGCCCAGGGGCTGGGAGACCCTCTGCTCTTCTGC
 TCCCTTCCTGTGTGCTGCCTGGCAATGGGGAACTCTGA
 GGGCTGGTGAGCAGGGCTGCTGAGGAGTGGGTCTAAG
 GAGTCCCTGCAGGGCTGGGCCAGCTCCTCCACCTCCCC
 TTTGTCTTCCCCCTCCCACTTGTTATTTTTAGCTACAGTGT
 CTGTCCCTCTTGCTTCTCCCCCAGATTGGGAGAGGAAA
 CGGAGGCCTCTCCCTCCGGGCCTAGCCTGTTGCCCCCA
 GCAACCGGGCCCAAACAGGCCTGTGGCCCGGCCCTGGCT
 TCCATATCTGGCATCAGAGTTGGGCTGAGCAGGGTGAC
 TCAGAGGGTGGGTCAGCGCCTGGCCCGGTGCCACCTA
 GCCCCTTTGCTGTGCTGGTGCCTTTCTTCCCCAAACAGC
 CCAAGGGCCCGGGCCTGCTGCAGCTGGGGAGCCGGA
 CTTCTTGTCCCACCAGGCACAGCTCTTCAGACCCCTGC
 CTTGGGTCACATTTGCAAGTGCCAACTCTCATTCTACC
 TTATTCTTTTCTCTCTGTTCCCCTCCCCACCCCCTCTCT
 TCCCTCTTTCTGAGATCAGATTTGCCAGTGATGGGAAG
 AGTTAGAAACAGGATGCCAGCCCTTCTCGCCTCAAGA
 GGCCACTGGGATGCAGCCACTCCTGTGCTTGGGGAACC
 TGGAGGATGCAAGGGAAAGGACTGGCACTCTGCTGGC
 ACAGCACCCGGCCTGGGGCAGGACACGGGCGAAGCCA
 GGGTCTCCCCTGTGAGCACTAGAGGATTTCCCGACCCC
 TGCCCGGGTATTGTGTGCCTGAGCATGAGTCACCTGAG
 GGGCCCAGGTTCCCACCCTTCCCAGCTCCTCTGGCCTGC
 CCCACCCTGTCCTCCCTGCCAACCAGCACGGGGACGG
 CACTCAGCGTGTGCTCAGCTTTCCTGATGCCAACCCCC
 AGTGGAGTGGGCTGCACCACCACCCTGGGACCGAATGC
 CTGGCTAGGGTCTACTTTGGTCCCTGCTAGGTCTGAGG
 ACCCCTCCTAGGAAGGAAATGGCACTTGGGGGCGGGG
 GCAGGGAGGAGGGAGGAGAGACACTGGGCTCTACTGT
 ACCCCTAGTCATCTCTTGGGGTGTGCGTGTGGCTCCCTG
 GCCACAGAGCTCCCAAGGTCTGAGTCATGAGCCCATGG
 GTGATAGTGGCTTCTTCCCCGCAGATGGGAGCTCCCCG
 TGCTAAGAAAACCACAAAGGTTCTTCCTCACTTCCCT
 CTCTGCTCGTGGTTTTTCTCATCTGCAGGGTGTGTCTTA
 GTCCTTTAATCTCCTCTCTTTGCAGTGCTAGTCAAAACC
 TCCACCAGGGAAAGACAAATAACCCCCCTTACTGTTTTT
 TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGATGGAGTCTCGCTCT
 GTCACCCATGCTGTAGTGCAGTGGCACAATCTCGGCTC
 ACTGCAACCTCCGCCTCCCAAGTTCAAGTGATCCTCCT
 ACCTCAGCCTCCTCAGTAGCTGGGACTACAGGTGCACA
 CCACCGTACCCAGCTAAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGA
 TAGAGTCTCACTCTGTACCCAGGCTGGAGTACAGTGG
 TACAATCTCAACTCACTACAATCTCCGCCTCCCAGGCTC
 AAGCAATTCTCGTGTCTCAGCCTCCCAAGTTGCTGGGA
 CTATGGACGTGCACCACCTTGCCCGACTAATTTTTGTAT
 TTTTGATAGAGTCAGAGTTTCACCATGTTGGCAGGCTG
 GTCTCGAACTCCTGGCCTCAAGTGATCCACCTGCCTTG
 GCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACCA
 CACTCAGCCAGCCCCCTTACTTTCCTTGGAGACCATATA
 CTGTGGCTTGTGCCAAAGTGGTACAGCATGGATTTC
 GCTCCCTATCTACTTGCTGCGGGACCCTAGATATAGCT
 TTCTGTGCCTATTTCTCAATTGCATAGGAATAGCACCT

ATCGCATAGGGTAGCTGTGAAGATGACGTGAGTTAACA
 TAATATTTAGAGCAGTGCTTGGTACCTAATAAGCTCTA
 TATAAGTGTTTGCTATTATATTATTATTACTGCCAC
 CACCGCTTTTGCAAGCAGCAGAAGGTGAAGAGGTTAG
 ACTGAAGAAAAAATTCTGTGCTCATCAGCCCATAAGC
 TCGCAGAGCACAGGGATCATGCATCTATGTTTTCTCA
 GTCAGTGTCTGCCAGGCACTGGCAAGGAAAGGCTGTTA
 CCAGGGGGAACTCCAGGAATTCCTCCTGGCACCTAAGG
 AGGCTGGGGAGACAGGACTAGGGAAAAGGTGCCCTTG
 AGACACCTTCTGAAATCATCCCATTCGCTTCCAGCTTCT
 TTCAGCTCAGGCTGGCTGGTCAGGGAAACGCTTTGTGC
 CATAGTGTCTGCCCTCTTCCTCCTCCTGGCTTCTCCATT
 CTCTCTGGAACCTTGTGGCTTAGGAAAGCAGTGAGGTGG
 AGGAGGAGGAACCCTAGATCAGCAGCTAGAATTGACT
 GGAATGCTGCTGCTGGCTTTCGGTAATTGACACTGGGC
 CATTACCTTCCTCCTTTGCACCTCAGTTTCCTCATCTAT
 AAAAGGGAGAGGGTTGAGCTGAATCAACTCTAAGCTC
 CTTCTAGTTCTCTAAATTCTGAGAGCCTCCTAGTACAGC
 CAGCAGCAGCCATTAGCCTTCAGGGTAGAGAGGCCTCT
 TCTGGGAAGCCCCAGCCAGCCTGGGGGTCAGCCCAAG
 GAGCTCGGAATCTAAGTTGCCCCAGTTGCTTCACTTTAC
 CAGCGGTTTTCTTCATTTTCCCTCCTCCCCCTGCAGCT
 GCTTCAGCTTCGGAAAAGTTCTGAAGTCATGGAAAGTT
 GGGGCTGTGCTCCCAGCCAGGGGCTAGGCCGGATGGC
 AGCCAAAACCTGAGCTGGGTTTTGACTTTATTTTTAGCT
 TTTCTGACTGAGACAGAGGAGGGAATACATTCTCCGGT
 TCTGGAAGGGGCTCTTTTTTGCAGGAGACAGACACTTA
 CATTAAACAACCTTGTTCTGAGGTGTGGCCAGAGGCCTG
 GACTGAGCAAGTGTGCAGGCTGGGGGAGCTTCCTCTGG
 CTTCTCATGTCTTCCCCTGCCCCCTCTGAGTGTCACTCT
 ATCCTCCTCCCTGCCTGGTGGGGGGAGGTGGGGGTGAC
 TCCTTTTTTGGACTCTCCTAAGCAGAACACTGCCTGGGT
 CTCGTCCTCCAGAGCTTCTGCAAATCTAGCCTTCCCTAT
 CCCTCTTCACAGTGAATTGCTGGGCCTCTTGGAGTTTAG
 GACTTTTGTGGTAGAAGAAAAATGTTGGCAGGGCTGCT
 TTTCTCCTTTCCAGGATAGATTTTTCCTTCTGCCCACGC
 TTGGTTTTCTTTTTTCCATCTGCTGTGGTGGGCTCATG
 CTTAAGCACTGATGAGTTACAGATGGCAGCTGGAACCA
 GGTCTCTGGATCTTTCCTCCGCTCCCTGGGTCTGCTG
 CTTTCTCTCACCTATATTTGTGAAGCAATTGTAACATC
 TAGAAAGTTCTTGGGTTCTCTGGAGGTTTTTAAGAAAA
 TAGGACCTTTCTATTTCTCCAGTCCACTAGCAAAAATA
 ATCAGGGGGCCAGAAAAAGGTGAGGGAGGTGGCAGAGG
 CAGCGCTGTTGACTGGTTATAGCTAAAGCTTTACCCA
 CTTTGAGGAGCAGGGAGGCTTAAAGCTGGGGCCCAGA
 TGGACCTGGAGGCCTGGGATCCACATCTGGAACCAGAT
 GCTGAGGCTATGGTAGATGGGTAGGGCTCAGCCTTCTC
 CCAGGGCACGGATGAGGCAGGAGGGAGGGAGGCAGG
 GACCCCTCTGTTCACTGCAGATCAGGGCACCCAGACTG
 GGTCTGAGAAAGGAAAGGGTCAATATTGTGCCTGGTC
 ATCCTTGTCTGAGGTCCCTCTGAGCTCTAACCAGACTTT
 CCTTCCCCACAGTCCCACATGTGTAAAAGGGACTAGGA

	GAGGTGACCAGTACCTTTGGGGCTCAGATCGAGAAGTG CTAGGGACATGTGGGCCATGAGCTTAGTTGTCAGGCTC CTCAGAGGGAGGGAAGCTTGGCCAAAGGGAAGTGAGT AGAGTCCAGGGAGAAGGCTAAGTAAGGCCCTGTGTGG GAAGGGGCAGGAGACAAAGGTACCCCTGTCTCTTTGGG AAAGAATGGGAGGAGAGAGAGGGGAAAAGCATTTCATAT CACGGGGTAGAGCTCTGCCCTTGGCCCCAGGCACGTTC CTGAGCCCTGAGTCATGGGAAGGGTGGAGAAGCAGGA AGGGGGTTTTCAAGGACCTTGGGGAGGTGGGAGCCCA GCCCCAGAGGCAAGCAGATGCAAACCAACCTAATGCA AGGATGCCCTCTCCTGGTAATTGCAGGCATAGCAGCGC CAGCCCCCATGGCTGACCTCCTGGGAGCCTGGCACTGT CTAGGCACACAGACTCCTTCTCTTAAATCTACTCTCCCC TCTCTTCTTTAG	
71	GTGAGGCCACCCTGCAGGGCCCCACCCATGGCCCCACCT AACACATGTACACTCACTCTTCTACCTAGGCCCTCCCC ATGTGGTGCCTGGTCTGACCTGTCACCTGATTTTCAGAG CCATTCACCTGTCCTAGAGTCATTTTACCCACTGAGGTC ACATCTTATCCTAATTTGGCTGCCAATGGGATCTACCAC AGTGAATTTAAAATAATCCAGGAGGCCGGGCATGGTG GTTACGCCTGTAATCCCAGCACTTTAGGAGGCCGAGG TGGGCCGATCACGAGGTCAGGAGATCGAGATCATCCTG ACTAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAA AAAATTAGCCTGGCATGGTGGCGGGCGCCTGTAGTCCC AACTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAG CCTGCGAGGCAGAGCTTGCAGTGAGCTGAGATCATGCC ACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGTGAGACTCCGTC TCAAAAAAATAATAATAATAATAATAAAAAATAATCCA GGCCATGTGTGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCATT TTGGGAGGCCAAGGAGGCAGGATTGCTTGAGTCCAGG AGTTTGAGACCAGCCTGGGCAACACAGACCCCATCTCT AGAAAATAAAAAATTTAAAGAAATTAGCTGGGCATGGT GGTGTGCACCTATAGTCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAG GCAGGAGGATGGCTTGAACCTGAGAGGTCGAGGATAC AGTGAGCTGTGATTGCACCACTGCACTTCAGCCTGGGT GACAGAGGGGAAACCCCTGTCTCTACATAAATAAATACAT AAAATAAAATAATCCACAAGCCATTTCTACTTAACTTT GCAATGAACTGTACCTGACCCTAGATCCCTCCCAGTTT GGCCCTCCGGTATACAAGGGCCTCCTATAGGCCCTTGT GATTTCTCTGGGGAAAAGGAGGACTGGAGTTGATCATT TATTGAGGCCATCAGAAGCGGATGGCTAATTACATATG GGACATGTGTTAATAATGCTTTGTGTATATAGAGTGGC CTTTACTTTCAAAACACTCTTCTCCAATTTATCATGTTA AAAGCTAGGAATTGGGCTGGGTGCAGTGGCTCACGCCT ATAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCGGGTGGATC ATTTGAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGTCTGACCAACAT GGTTAACTCCGTCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCC AGGCGTGGTGGCACACACCTGTAGTCCCAACAACCTACT TGTGAGGCTGAGGCAGGAAAATCATTTGAACCCAGGAT CAGAGGTTGTGGTGAACCTGAGATTGCACCATTGCACTC CAGCCTGGGCAACAAGAGCAAACTCTATCTCAAAAA AAATAAAAAATAGCCAGGCACGGTGGCTCATGCCTGTA	Интрон 2 ламина А и ламина С

ATCCTAGCACTTTGGGAGGCAGAGGTGGGCAGATCACC
 TGAGGTTAGGAGTTCGAGACTAGCCTGGCCAACATGGT
 GAAACCCCATCTCTACTACAAATACAAAAATTAGCTAG
 GCATGGTGGCAGCCACCTGTAATCCCAGCTACTTGGGA
 GGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCCGGGAGGTGG
 AGGTTGCAGTGAGCCAAGATCGGGTCACAGCACTCCAG
 CCTAGGCAACAGAGCGAGACTCCATCTCAAAAAACA
 TAAATAAATAAAAAATAAAAAATAATAAATAAAAAG
 CTAAGAATCAAAGAAGCAGTTTATTCCTAATTTACAG
 TCTCATCTGTTTCATAGTGGGGCCAGGATTAGAGTCAGT
 GGCCAAGCTTCCATCCTGGGTCTTTCCCTTCCCAGGCC
 CTACCATCATAGTATAACCAGGGAAAGACCTGGAGAAG
 CCAGCAGGTTGACCACCGAACCAAGGCTGGGCCACCTT
 CCTCCTGGGTCTGGTCTCCAGCCTCCCAGTTGTACCCTT
 CCCCAGCCCTTCCTGGATGCACTGATCAGCCTGTGCTT
 CCTTGCCCTGTTTTTCTTTATAAATAGAGCCATGTTCTC
 CTCTCTCTCTCTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGATG
 GAGTCTTACTCTGTCAACCAGGCTGGAGTGCAATGGCA
 CGATCTCAGCTCACTGCAACCTCTGTCTCCCAGGTTCAA
 GCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATT
 ACAGGTGCCCACCACCATGCCCAGCTACTTTTTGGATTT
 TTAGTAGAGACAGGGTTTCACCATGTTGGTCAGGCTGG
 TCTTGAACCTCCTGACCTTAGGTGTTCTGCCCCGCTCAGC
 CTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCACG
 CCTGGCAAGACGTGTTCTCTCTATGTTGTTGAGGCTGGT
 CTTGAACTCCTGGCTGCAAGAGATCTTCCTGCCTCAGC
 CTCCCAATGTGCTGGGATTATAGGCATGAGCCACCACA
 CTTAGCCCAGCCTGTGCTTTCTTAAATGAAAATCTAAG
 CATA CGGCTGGGTGTGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCA
 GCATTTTGGGAGGCCAAGGTGGGCAGATCACGAGGTC
 AGGAGATCGAGACTATCCTGGCCAACATGGTGAAACCC
 TGTCTCTACTAAAGATACAAAAATTAGCTGGGTGTGGT
 GGCCCATGTCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGACTGAG
 GCAGGAGAATGGCATGAACCTGGGAGGCAGAGCTTGC
 AGTGAGCTGAGATCGCGCCACTGCTCTCCAGCCTAGGT
 GACAGAGCGAGACTCCATCTCAAAAAAATAAAAA
 TAAAAAAAAGAAAATCTAAGCGTGGTGCTCCCCTGCTC
 AAACATCCTCAGGTTCTTTTCATGGCAGATAAGGGCAT
 CTCTTCATGAGCCAGCCCCTGCCTACTGACCCAGCCAC
 CTCTCCCATCCCTTCCCACCCCGTACTTCAGGCTTCAGC
 AGTACTGATCTTTCCAAAGACCCCAAGACACACATGCC
 TTCATACCTCTGTGCCTGTACATGCTTGTTTCTGCCCTT
 GAAATCATGACAGTAGCTCTCTGTAGGCCCCGCTAGCC
 TGTCCCTTGGGTCTTAGCCTCTTGGAGGCCTTCCCAGAG
 CCCCCAAAAGTACCCAGGCATACTTTGGTTCCTTCTC
 TCATGTCCCCTCAGTACTTTGCACATACCTCCTTTATAG
 CAGTTGCTATGTTGTGCCAGAGAAGGGAGTCCTGTGGC
 TGGGGGGCATATATCTTTTCTTTTGGAGACAGAGTCTAG
 CTGTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAAGTAGTGCGATCTCG
 GCTCACTGCAACCTCCACCTCCTGGATTCAAGCGATTCT
 TGTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGCGT
 GTGCCACCATCATGCCTGGCTACTTTTTTGTATTAGATA

	TATATTTTCTCTCTTAGCACAGTACCTACCAAGAGTGAG TGAGTAGATGTCCTGACCCCTGCAGGCATCCAAGGCCC TCCTTCCCTGGACCTGTTTCCACATGTGTGAAGGGGTGC ACAGGCAGCAGCCACCTCTCAGCTTCCTTCCAGTTCTT GTGTTCTGTGACCCCTTTTCCTCATCTCTGCCTGCTTCCT CACAG	
72	GTGGGGACTGTGCTTTGCAAGCCAGAGGGCTGGGGCTG GGTGATGACAGACTTGGGCTGGGCTAGGGGGGACCAG CTGTGTGCAGAGCTCGCCTTCCTGAGTCCCTTGCCCTAG TGGACAGGGAGTTGGGGGTGGCCAGCACTCAGCTCCCA GGTTAAAGTGGGGCTGGTAGTGGCTCATGGAGTAGGGC TGGGCAGGGAGCCCCGCCCCCTGGGTCTTGGCCTCCCAG GAACTAATTCTGATTTTGGTTTCTGTGTCTTCCTCCAA CCCTTCCAG	Интрон 3 ламина А и ламина С
73	GTGCTTGCTCTCGATTGGTTCCTCACTGCCTCTGCCCT TGGCAGCCCTACCCTTACCCACGCTGGGCTATGCCTTCT GGGGATCAGGCAGATGGTGGCAGGGAGCTCAGGGTGG CCCAGGACCTGGGGCTGTAGCAGTGATGCCCAACTCAG GCCTGTGCCTCCACCCCTCCCAGTCACCACAGTCCTAA CCCTTTGTCCTCCCCCTCCAG	Интрон 4 ламина А и ламина С
74	GTGATACCCACCTCACCCCTCTCTCCAGGGGCCTAGA GTCTGGGCCGGATGCAGGCTGGAAGCCCAGGGTTGGG GGTGGGGGTGGGGGTGGGAGGTTCCCTGAGGAGGAGAG GGATGAAAAGTGTCCCCACAACCACAGAGAAGGGTCG CAGGATGTGGAGTCAGATGGCCTGTGTGCTGTTTCTGT ACACTCTTACCTCACCTTCACTTCTCAGGGCTTTGGTTT TCCCATTTCGAAAATGGAGGCTGTTCTTAATCTCCCTAAC TCAGAGTTGCCACAGGACTCTGCAATGTGAGGTGTAA AAGCATCAGTATTTTTCTAGTTGGCTGTGCTATTTGTGA CAGGAGAAAAAGTCTAGCCTCAGAACGAGAGGTTTCA GTTAGACAAGGGGAAGGACTTCCCAGTTGCCAGCCAA GACTATGTTTAGAGCTTGTGATGTTCAAGAGCTGGCTCT GATGAGGGCTCTGGGGAAGCTCTGATTGCAGATCCTGG AGAGAGTAGCCAGGTGTCTCCTACACCGACCCACGTCC CTCCTTCCCCATACTTAGGGCCCTTGGGAGCTCACCAA ACCTTCCACCCCCCTTCAG	Интрон 5 ламина А и ламина С
75	GTGGGCTGGGGAGACGTCGGGGAGGTGCTGGCAGTGT CCTCTGGCCGGCAACTGGCCTTGA CTAGACCCCCACTT GGTCTCCCTCTCCCCAG	Интрон 6 ламина А и ламина С
76	GTAGGCTCCTGCTCAGGGTCTAAGGGGATACAGCTGCA TCAGGGAGAGAGTGGCAAGACAGAAGGATGGCATGTG GAGAGAGGAACATCCTTGCCCTCAGAGGGTGGACCAG GGTGAGCCTGTATATCTCCTCCACACTCTGGTTCCAGGC CTGGCTCCTGGACTCTTTGGCTGTGAGACCTTGAGCAG GTTATTTAACCTCTCAGAGCATCAGTTTCCTCATCTGTA AAATGGGGATGAATACTGATCCCTAAGTCTTTGAGTTG TCAGGAAGATGAAAGATAAGGTATCCGTGTGCCTGGTG CTGCGTATGTGTCCACAGATCATGGCTATTATCCCCGG GGGAAGGGCAGTGACAGGGGTGTGTGTAGATGGAAGG AGAGGCCTCAATTGCAGGCAGGCAGAGGGCTGGGCCT TTGAGCAAGATACACCCAAGAGCCTGGGTGAGCCTCCC CGACCTTCCTCTTCCCTATCTTCCCGGCAG	Интрон 7 ламина А и ламина С

77	GTGAGTGGCAGGGCGCTTGGGACTCTGGGGAGGCCTTG GGTGGCGATGGGAGCGCTGGGGTAAGTGTCTTTTCTC CTCTCCAG	Интрон 8 ламина А и ламина С
78	GTAAGTAGGCCTGGGCCTGGCTGCTTGCTGGACGAGGC TCCCCCTGATGGCCAACATCGGAGCCAGCTGCCCCAA CCCAAGTTTGCCAATTCAGGGCCCCCTTTCTAGAGCTCTC TGTTGCAGGCTCCAGACTTCTCCACCCAGTAGGCAAAC CAAAAGATGCTTCCTCAACAGCACAAAGGGGTGGAAGTT AGACAGTGAGGATTGTAAAGGCAGAGCCATACTCCTA CCCGGAGAGCTTGACAGTGTCCCTCTGGGGTGGAATG AGTTCCTTAGCTCCATCACACAGAGGACAGAGTAAGC AGCAGGCCGGACAAAGGGCAGGCCACAAGAAAAGTTG CAGGTGGTCACTGGGGTAGACATGCTGTACAACCCCTTC CCTGGCCCTGACCCTTGACCTGGTTCCATGTCCCCACC AG	Интрон 9 ламина А и ламина С
79	GTGAGTGGTAGCCGCGCTGAGGCCGAGCCTGCACTGG GGCCACCCAGCCAGGCCTGGGGGCAGCCTCTCCCCAGC CTCCCCGTGCCAAAAATCTTTTCATTAAAGAATGTTTTG GAACTTTACTCGCTGGCCTGGCCTTTCTTCTCTCTCCTC CCTATACCTTGAACAGGGAACCCAGGTGTCTGGGTGCC CTACTCTGGTAAGGAAGGGAGTGGGAACCTTTCTGATGC CATGGAATATTCCTGTGGGAGCAGTGGACAAGGGTCTG GATTTGTCTTCTGGGAAAGGGAGGGGAGGACAGACGT GGGGCATGCCCCGCCCTGCCTCTCTCCCCATTCTTGTTG CATGCATATCCTCTCATTTCCCTCATTTTTCTGCAAGA ATGTTCTCTCTCATTCCTGACCGCCCCCTCCACTCCAATT AATAGTGCATGCCTGCTGCCCTACAAGCTTGCTCCCGTT CTCTCTTCTTTTCCTCTTAAGCTCAGAGTAGCTAGAACA GAGTCAGAGTCACTGCTCTGGTTCTCTGTCCCCAAGTCT TCCTGAGCCTTCTCCCCCTTTTATGTCTTCCCTCTCCTCCT CCGGGGCCCCCTAGCCTCCCAAACCCCCATTGCCCGCTGG CTCCTTGGGCACAGAACCACACCTTCCTGCCTGGCGGC TGGGAGCCTGCAGGAGCCTGGAGCCTGGTTGGGCCTGA GTGGTCAGTCCCAGACTCGCCGTCCCGCCTGAGCCTTG TCTCCCTTCCCAG	Интрон 10 ламина А
80	GTGAGTTGTCTCTGCTTTGTCTCCAAATCCTGCAGGCGG GTCCCTGGTCATCGAGGGGTAGGACGAGGTGGCCTTGC AGGGGGGAGAGCCTGCCTTCTCTTCCGCAGCCCGGGGG AGTGGGAGCCTCCTCCCCACAGCCTGAGTCCTAGACAG CCCACCTCTGCATCCTGCCCTCTTGTCTGAGCCCCAGA CTGGAGGGCAGGGGCAGGGCTGGAGTGTGAGGGATGG GGGAGATGCTACCTCCCTTCTAGGGGCCAGGGGAGGG AGGGTCTGGGTCCAGGCCCTGCTGCTCACACCTCTCTC CTCTGTTTTCTCTCTTAG	Интрон 11 ламина А
81	ATGGAGACCCCGTCCCAGCGGCGCGCCACCCGCAGCG GGGCGCAGGCCAGCTCCACTCCGCTGTCGCCCACCCGC ATCACCCGGCTGCAGGAGAAGGAGGACCTGCAGGAGC TCAATGATCGCTTGGCGGTCTACATCGACCGTGTGCGC TCGCTGGAAACGGAGAACGCAGGGCTGCGCCTTCGCAT CACCGAGTCTGAAGAGGTGGTCAGCCGCGAGGTGTCCG GCATCAAGGCCGCTACGAGGCCGAGCTCGGGGATGC CCGCAAGACCCTTGACTCAGTAGCCAAGGAGCGCGCCC	Экзон 1 ламина А и ламина С

	GCCTGCAGCTGGAGCTGAGCAAAGTGCGTGAGGAGTTT AAGGAGCTGAAAGCGCG	
82	CAATACCAAGAAGGAGGGTGACCTGATAGCTGCTCAG GCTCGGCTGAAGGACCTGGAGGCTCTGCTGAACTCCAA GGAGGCCGCACTGAGCACTGCTCTCAGTGAGAAGCGC ACGCTGGAGGGCGAGCTGCATGATCTGCGGGGCCAGG TGGCCAAG	Экзон 2 ламина А и ламина С
83	CTTGAGGCAGCCCTAGGTGAGGCCAAGAAGCAACTTCA GGATGAGATGCTGCGGCGGGTGGATGCTGAGAACAGG CTGCAGACCATGAAGGAGGAACTGGACTTCCAGAAGA ACATCTACAGTGAG	Экзон 3 ламина А и ламина С
84	GAGCTGCGTGAGACCAAGCGCCGTCATGAGACCCGACT GGTGGAGATTGACAATGGGAAGCAGCGTGAGTTTGAG AGCCGGCTGGCGGATGCGCTGCAGGAACTGCGGGCCC AGCATGAGGACCAGGTGGAGCAGTATAAGAAGGAGCT GGAGAAGACTTATTCTGCCAAG	Экзон 4 ламина А и ламина С
85	CTGGACAATGCCAGGCAGTCTGCTGAGAGGAACAGCA ACCTGGTGGGGGCTGCCCACGAGGAGCTGCAGCAGTC GCGCATCCGCATCGACAGCCTCTCTGCCCAGCTCAGCC AGCTCCAGAAGCAG	Экзон 5 ламина А и ламина С
86	CTGGCAGCCAAGGAGGCGAAGCTTCGAGACCTGGAGG ACTCACTGGCCCGTGAGCGGGACACCAGCCGGCGGCTG CTGGCGGAAAAGGAGCGGGAGATGGCCGAGATGCGGG CAAGGATGCAGCAGCAGCTGGACGAGTACCAGGAGCT TCTGGACATCAAGCTGGCCCTGGACATGGAGATCCACG CCTACCGCAAGCTCTTGGAGGGCGAGGAGGAGAG	Экзон 6 ламина А и ламина С
87	GCTACGCCTGTCCCCCAGCCCTACCTCGCAGCGCAGCC GTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGT GGGGGCAGCGTCACCAAAAAGCGCAAACTGGAGTCCA CTGAGAGCCGCAGCAGCTTCTCACAGCACGCACGCACT AGCGGGCGCGTGGCCGTGGAGGAGGTGGATGAGGAGG GCAAGTTTGTCCGGCTGCGCAACAAGTCCAATGAG	Экзон 7 ламина А и ламина С
88	GACCAGTCCATGGGCAATTGGCAGATCAAGCGCCAGA ATGGAGATGATCCCTTGCTGACTTACCGGTTCCCACCA AAGTTCACCCTGAAGGCTGGGCAGGTGGTGACG	Экзон 8 ламина А и ламина С
89	ATCTGGGCTGCAGGAGCTGGGGCCACCCACAGCCCCC TACCGACCTGGTGTGGAAGGCACAGAACACCTGGGGCT GCGGGAACAGCCTGCGTACGGCTCTCATCAACTCCACT GGGGAA	Экзон 9 ламина А и ламина С
90	GAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTGACTGT GGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGACCTG CTCCATCACCACCAC	Экзон 10 ламина А
91	GAAGTGGCCATGCGCAAGCTGGTGCGCTCAGTGACTGT GGTTGAGGACGACGAGGATGAGGATGGAGATGACCTG CTCCATCACCACCACGTGAGTGGTAGCCGCGCTGA	Экзон 10 ламина С
92	GGCTCCCCTGAGCAGCTCGGGGGACCCCGCTGAGTA CAACCTGCGCTCGCGCACCGTGCTGTGCGGGACCTGCG GGCAGCCTGCCGACAAGGCATCTGCCAGCGGCTCAGG AGCCCAGGTGGGCGGACCCATCTCCTCTGGCTCTTCTG CCTCCAGTGTACGGTCACTCGCAGCTACCGCAGTGTG GGGGGCAGTGGGGGTGGCAGCTTCGGGGACAATCTGG TCACCCGCTCCTACCTCCTGGGCAACTCCAGCCCCCGA	Экзон 11 ламина А

	ACCCAG	
93	AGCCCCCAGAACTGCAGCATCATGTAA	Экзон 12 ламина А

Таблица 2: Список некоторых раскрытых здесь аминокислотных последовательностей.

SEQ ID NO	Аминокислотная последовательность	Название
12	METPSQRRATRSGAQASSTPLSPTRITRLQEKEDLQELND RLAVYIDRVRSLETENAGLRLRITESEEVVSREVSGIKAAY EAEELGDARKTLDSVAKERARLQLELSKVREEFKELKARN TKKEGDLIAAQARLKDLEALLNSKEAALSTALSEKRTLEG ELHDLRGQVAKLEAALGEAKKQLQDEMLRRVDAENRLQ TMKEELDFQKNIYSEELRETKRRHETRLVEIDNGKQREFE SRLADALQELRAQHEDQVEQYKKELEKTYSAKLDNARQ SAERNSNLVGAAHEELQQSRIRIDSLSAQLSQLQKQLAAK EAKLRDLEDLRLARERDTSRRLLAEKEREMAEMRARMQQ QLDEYQELLDIKLALDMEIHAYRKLLLEGEEERLRLSPSPTS QRSRGRASSHSSQTQGGGSVTKKRKLESTESRSSFSQHAR TSGRVAVEEVDEEGKFVRLRNKSNEDQSMGNWQIKRQN GDDPLLTYRFPPKFTLKAGQVVTIWAAGAGATHSPPTDL VWKAQNTWGCNSLRTALINSTGEEVAMRKLVRSVTVV EDDEDEDGDDLLHHHHGSHCSSSGDPAEYNLRSRTVLCG TCGQPADKASASGSGAQVGGPISSGSSASSVTVTRSYRSV GGSGGGSFGDNLVTRSYLLGNSSPRTQSPQNC SIM	Последователь ность преламينا А
13	METPSQRRATRSGAQASSTPLSPTRITRLQEKEDLQELND RLAVYIDRVRSLETENAGLRLRITESEEVVSREVSGIKAAY EAEELGDARKTLDSVAKERARLQLELSKVREEFKELKARN TKKEGDLIAAQARLKDLEALLNSKEAALSTALSEKRTLEG ELHDLRGQVAKLEAALGEAKKQLQDEMLRRVDAENRLQ TMKEELDFQKNIYSEELRETKRRHETRLVEIDNGKQREFE SRLADALQELRAQHEDQVEQYKKELEKTYSAKLDNARQ SAERNSNLVGAAHEELQQSRIRIDSLSAQLSQLQKQLAAK EAKLRDLEDLRLARERDTSRRLLAEKEREMAEMRARMQQ QLDEYQELLDIKLALDMEIHAYRKLLLEGEEERLRLSPSPTS QRSRGRASSHSSQTQGGGSVTKKRKLESTESRSSFSQHAR TSGRVAVEEVDEEGKFVRLRNKSNEDQSMGNWQIKRQN GDDPLLTYRFPPKFTLKAGQVVTIWAAGAGATHSPPTDL VWKAQNTWGCNSLRTALINSTGEEVAMRKLVRSVTVV EDDEDEDGDDLLHHHHVSGSRR	Последователь ность ламина С
14	METPSQRRATRSGAQASSTPLSPTRITRLQEKEDLQELND RLAVYIDRVRSLETENAGLRLRITESEEVVSREVSGIKAAY EAEELGDARKTLDSVAKERARLQLELSKVREEFKELKARN TKKEGDLIAAQARLKDLEALLNSKEAALSTALSEKRTLEG ELHDLRGQVAKLEAALGEAKKQLQDEMLRRVDAENRLQ TMKEELDFQKNIYSEELRETKRRHETRLVEIDNGKQREFE SRLADALQELRAQHEDQVEQYKKELEKTYSAKLDNARQ SAERNSNLVGAAHEELQQSRIRIDSLSAQLSQLQKQLAAK EAKLRDLEDLRLARERDTSRRLLAEKEREMAEMRARMQQ QLDEYQELLDIKLALDMEIHAYRKLLLEGEEERLRLSPSPTS QRSRGRASSHSSQTQGGGSVTKKRKLESTESRSSFSQHAR	Изоформа ламина А/С минигена 1 (экзоны 1-8)

	TSGRVAVEEVDEEGK FVRLRNKS NEDQSMGNWQIKRQN GDDPLTTY	
15	RFPPKFTLKAGQVVTIWAAGAGATHSPPTDLVWKAQNT WGCGNSLRTALINSTGE	Изоформа ламина A/C минигена 1 (экзон 9)
16	EVAMRKLVR SVTVVEDDEDEDGDDLLHHHHVSGSRR	Изоформа ламина C минигена 1 (экзон 10)
17	EVAMRKLVR SVTVVEDDEDEDGDDLLHHHH	Изоформа ламина A минигена 1 (экзон 10)
18	GSHCSSSGDPAEYNLR SRTLVC GTCGQPADKASASGSGA QVGGPISSGSSASSVT VTRSYRSVGGSGGSGFDNLVTRS YLLGNSSPRTQ	Ламин A минигена 1, экзон 11
19	SPQNCSIM	Ламин A минигена 1, экзон 12
20	METPSQRRATRSGAQASSTPLSPTRITRLQEKEDLQELND RLAVYIDRVRSLETENAGLRLRITESEEVVSREVSGIKAAY EAE LGDARKTLDSVAKERARLQLELSKVREEFKELKARN TKKEGDLIAAQARLKDLEALLNSKEAALSTALSEKRTL ELHDLRGQVAKLEAALGEAKKQLQDEMLRRVDAENRLQ TMKEELDFQKNIYSEELRETKRRHETRLVEIDNGKQREFE SRLADALQELRAQHEDQVEQYKKELEKTYSAKLDNARQ SAERNSNLVGAAHEELQQSRIRIDSLSAQLSQLQKQLAAK EAKLRDLED SLARERDTSRRL LAEKEREMAEMRARMQQ QLDEYQELLDIKLALDMEIHAYRKLL EGEEERLRLSPSPTS QRSRGRASSHSSQTQGGGSVTKKRKLESTESRSSFSQHAR TSGRVAVEEVDEEGK FVRLRNKS NEDQSMGNWQIKRQN GDDPLTTYRFPPKFTLKAGQVVTIWAAGAGATHSPPTDL VWKAQNTWGCGNSLTALINSTGE	Изоформа ламина A/C минигена 2 (экзоны 1-9)
21	METPSQRRATRSGAQASSTPLSPTRITRLQEKEDLQELND RLAVYIDRVRSLETENAGLRLRITESEEVVSREVSGIKAAY EAE LGDARKTLDSVAKERARLQLELSKVREEFKELKARN TKKEGDLIAAQARLKDLEALLNSKEAALSTALSEKRTL ELHDLRGQVAKLEAALGEAKKQLQDEMLRRVDAENRLQ TMKEELDFQKNIYSEELRETKRRHETRLVEIDNGKQREFE SRLADALQELRAQHEDQVEQYKKELEKTYSAKLDNARQ SAERNSNLVGAAHEELQQSRIRIDSLSAQLSQLQKQLAAK EAKLRDLED SLARERDTSRRL LAEKEREMAEMRARMQQ QLDEYQELLDIKLALDMEIHAYRKLL EGEEERLRLSPSPTS QRSRGRASSHSSQTQGGGSVTKKRKLESTESRSSFSQHAR TSGRVAVEEVDEEGK FVRLRNKS NEDQSMGNWQIKRQN GDDPLTTYRFPPKFTLKAGQVVTIWAAGAGATHSPPTDL VWKAQNTWGCGNSLRTALINSTGEEVAMRKLVR SVTVV EDDEDEDGDDLLHHHHGSHCSSSGDPAEYNLR SRTLVC TCGQPADKASASGSGAQVGGPISSGSSASSVT VTRSYRSV GGSGGSGFDNLVTRSY	Зрелая последовательн ость ламина A

22	[Резерв]	
23	[Резерв]	
24	GSHCSSSGDPAEYNLRSTVLCGTCGQPADKASASGSGA QVGGPISSGSSASSVTVTRSYRSVGGSGGGSFGDNLVTRS YLLGNSSPRTQSPQNC SIM	Изоформа ламмина А минигена 2 (экзоны 11-12)
25	[Резерв]	
26	[Резерв]	
27	[Резерв]	
28	[Резерв]	
29	[Резерв]	

Таблица 3. Список репрезентативных последовательностей нуклеиновой кислоты регуляторных элементов

SEQ ID NO:	Последовательность нуклеиновой кислоты	Длина
30	GTAAGGTAAGAATTGAATTTCTCAGTTGAAGGATGCTT ACACTCTTGTCCATCTAG	56 п.о.
31	GTGTGTATGCTCAGGGGCTGGGAAAGGAGGGGAGGGA GCTCCGGCTCAG	49 п.о.
32	GTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTGACTCACGGGGATTTC CAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGT TTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACA ACTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTAAGGTAAGAATTGAA TTTCTCAGTTGAAGGATGCTTACACTCTTGTCCATCTAG	266 п.о.
33	GTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTGACTCACGGGGATTTC CAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTGT TTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACA ACTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCTGGTACCGTGTGTATGCTCAGGGG CTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAG	259 п.о.
34	GTGATGACGTGTCCCAT AAGGCCCTCGGTCTAAGGCT TCCCTATTTCTTGGTTCGCCGGCGGCCATTTTGGGTGGA AGCGATAGCTGAGTGGCGGCGGCTGCTGATTGTGTTCT AG	117 п.о.
35	GTGATGACGTGTCCCAT ACTTCCGGGTCAGGTGGGCGG GCTGTCTTGACCTTCTTTGCGGCTCGGCCATTTTGTCCC AGTCAGTCCGGAGGCTGCGGCTGCAGAAGTACCGCCTG CG	117 п.о.
36	GTGATGACGTGTCCCATATTTTCATCTCGCGAGACT TGTGAGCGGCCATCTTGGTCTTGCCTGACAGATTC TCCTATCGGGGTACAGGGACGCTAAGATTGCTACC TGGACTTTC	117 п.о.
37	GTGATGACGTGTCCCATGGCCTCATTGGATGAGAGGTC	117 п.о.

	CCACCTCACGGCCCCGAGGCGGGGCTTCTTTGCGCTTAA AAGCCGAGCCGGGCCAATGTTCAAATGCGCAGCTCTTA GTC	
38	GTGATGACGTGTCCCATCCCCCTCCACCCCCTAGCCC GCGGAGCACGCTGGGATTTGGCGCCCCCCTCCTCGGTG CAACCTATATAAGGCTCACAGTCTGCGCTCCTGGTACA CGC	117 п.о.
39	CCCCCTCCACCCCCTAGCCCGCGGAGCACGCTGGGAT TTGGCGCCCCCCTCCTCGGTGCAACCTATATAAGGCTC ACAGTCTGCGCTCCTGGTACACGC	100 п.о.
40	GGCCTCATTGGATGAGAGGTCCCACCTCACGGCCC GAGGCGGGGCTTCTTTGCGCTTAAAAGCCGAGCCG GGCCAATGTTCAAATGCGCAGCTCTTAGTC	100 п.о.
41	GGGTGGGGCCCCGCGCGTATAAAGGGGGCGCAGGCG GGCTGGGCGTTCCACAGGCCAAGTGCGCTGTGCTC GAGGGGTGCCGGCCAGGCCTGAGCGAGCGA	100 п.о.
42	GGTGCGATATTCGGATTGGCTGGAGTCGGCCATCAC GCTCCAGCTACGCCACTTCCTTTTCGTGGCACTATA AAGGGTGCTGCACGGCGCTTGCACTCT	100 п.о.
43	ACTTCCGGGTCAAGTGGGCCGGCTGTCTTGACCTTCTTT GCGGCTCGGCCATTTTGTCCAGTCAGTCCGGAGGCTG CGGCTGCAGAAGTACCGCCTGCG	100 п.о.
44	GCTGAGCGCGCGCGATGGGGCGGGAGGTTTGGGGT CAAGGAGCAAACCTCTGCACAAGATGGCGGCGGTAG CGGCAGTGGCGGCGCGTAGGAGGCGGTGAG	100 п.о.
45	ATTTTCATCTCGCGAGACTTGTGAGCGGCCATCTTGGTC CTGCCCTGACAGATTCTCCTATCGGGGTACAGGGACG CTAAGATTGCTACCTGGACTTTC	100 п.о.
46	TGGGACCCCCGGAAGGCGGAAGTTCTAGGGCGGAA GTGGCCGAGAGGAGAGGAGAATGGCGGCGGAAGGC TGGATTTGGCGTTGGGGCTGGGGCCGGCGG	100 п.о.
47	AAGGCCCTCGGTCTAAGGCTTCCCTATTTCTGTTTCG CCGGCGGCCATTTTGGGTGGAAGCGATAGCTGAGTGGC GGCGGCTGCTGATTGTGTTCTAG	100 п.о.
48	AGTGACCCGGAAGTAGAAGTGGCCCTTGCAGGCAA GAGTGCTGGAGGGCGGCAGCGGCGACCGGAGCGGT AGGAGCAGCAATTTATCCGTGTGCAGCCCC	100 п.о.
49	GGGAGGGGGCGCGCTGGGGAGCTTCGGCGCATGCGC GCTGAGGCCTGCCTGACCGACCTTCAGCAGGGCTG TGGCTACCATGTTCTCTCGCGCGGGTGTCG	100 п.о.
50	ACTGCGCACGCGCGGGTCGCACCGATTACGCCC CCTTCCGGCGCCTAGAGCACCGCTGCCGCCATGTTG AGGGGGGGACCGCGACCAGCTGGGCCCCCT	100 п.о.
51	CCCTCGAGGGGGCGGAGCAAAAAGTGAGGCAGCAAC GCCTCCTTATCCTCGCTCCCGCTTTCAGTTCTCAATA AGGTCCGATGTTCTGTGTATAAATGCTCG	100 п.о.
52	CTTGGTGACCAAATTTGAAAAAAAAAAAAAACCGCG CCAACCTCATGTTGTTTTCAATCAGGTCCGCCAAGTT TGTATTTAAGGAACTGTTTCAGTTCATA	100 п.о.
53	GGCTGAGCTATCCTATTGGCTATCGGGACAAAATTT GCTTGAGCCAATCAAAGTGCTCCGTGGACAATCGCC GTTCTGTCTATAAAAAGGTGAAGCAGCG	100 п.о.

54	GGAAGTGCCAGACCGGAGGTGCGTCATTCACCGGCGA CGCCGATACGGTTCCTCCACCGAGGCCCATGCGAAGCT TTCCACTATGGCTTCCAGCACTGTC	100 п.о.
55	CCCTCGAGGGGCGGAGCAAAAAGTGAGGCAGCAAC GCCTCCTTATCCTCGCTCCCGCTTTCAGTTCTCAATA AGGTCCGATGTTCTGTGTATAAATGCTCG	100 п.о.
56	CTTGGTGACCAAATTTGAAAAAAAAAAAAAACCGCG CCAACATCATGTTGTTTTCAATCAGGTCCGCCAAGTT TGTAATTTAAGGAACTGTTTCAGTTCATA	100 п.о.
57	GGCTGAGCTATCCTATTGGCTATCGGGACAAAATTT GCTTGAGCCAATCAAAGTGCTCCGTGGACAATCGCC GTTCTGTCTATAAAAAGGTGAAGCAGCG	100 п.о.
58	GGAAGTGCCAGACCGGAGGTGCGTCATTCACCGGC GACGCCGATACGGTTCCTCCACCGAGGCCCATGCG AAGCTTTCCACTATGGCTTCCAGCACTGTC	100 п.о.
102	GCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCT GACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAA TGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTT TCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAA CTGCCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGC CAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAAT GGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTAT GGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGT TCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCAC CCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGT GCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCG CGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGG CGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATC AGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGA GGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGC GCGCGGCGGGCG	584 п.о.

Таблица 4: Дополнительные раскрытые здесь последовательности нуклеиновой кислоты

SEQ ID No	Последовательность нуклеиновой кислоты	Источник/ геномная локализация
59	GTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATA GCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCA TTGACGTCAATGGGAGTTTTGTTTTGGCACCAAAATCAA CGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATT GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTC TATATAAGCAGAGCT	Промотор CMV
60	TCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCT CCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTT TTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGG GGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGC CAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGG CGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAG CGCGCGGCGGGCG	Промотор CBA

61	GCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCAC TTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCC CCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGC ATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTT GGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG	Используемый энхансер CMV выше промотора СВА
62	GTA CT TATATAAGGGGGTGGGGGCGCGTTTCGTCCTCAGTCGCGATCGAACACTCGAGCCGAGCAGACGTGCCTACG GACC	SCP
63	GGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCA GTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGCTAAGTCCACGCTA GCGTCTGTCTGCACATTTTCGTAGAGCGAGTGTTCGGAT ACTCTAATCTCCCTAGGCAAGGTTTCATATTTGTGTAGGT TACTTATTCTCCTTTTGTGACTAAGTCAATAATCAGAA TCAGCAGGTTTGGAGTCAGCTTGGCAGGGATCAGCAGC CTGGGTTGGAAGGAGGGGGTATAAAAGCCCCTTCACC AGGAGAAGCCGTC	SerpE_TTR
64	GTTTGCTGCTTGCAATGTTTGCCCATTTTAGGGTGGACA CAGGACGCTGTGGTTTCTGAGCCAGGGCTAGCGGGCGA CTCAGATCCCAGCCAGTGGACTTAGCCCCGTGTTTGCTC CTCCGATAACTGGGGTGACCTTGGTTAATATTCACCAG CAGCCTCCCCCGTTGCCCTCTGGATCCACTGCTTAAAT ACGGACGAGGACAGGGCCCTGTCTCCTCAGCTTCAGGC ACCACCACTGACCTGGGACAGTGAATCGCCAC	Proto1
65	TGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAG CGGTTTTGACTCACGGGGATTTC AAGTCTCCACCCCAT TGACGTCAATGGGAGTTTGT TTTGGCACCAAAATCAAC GGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTG ACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCT ATATAAGCAGAGCT	minCMV
66	GTTTGCTGCTTGCAATGTTTGCCCATTTTAGGGTGGACA CAGGACGCTGTGGTTTCTGAGCCAGGGGGCGACTCAGA TCCCAGCCAGTGGACTTAGCCCCGTGTTTGCTCCTCCGAT AACTGGGGTGACCTTGGTTAATATTCACCAGCAGCCTC CCCCCGTTGCCCTCTGGATCCACTGCTTAAATACGGAC GAGGACAGGGCCCTGTCTCCTCAGCTTCAGGCACCACC ACTGACCTGGGACAGTGAATC	UCL-HLP
67	CGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGAC CGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACG	CMVe

	TATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTG ACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACT TGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCC CCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCA TTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTG GCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG	
68	GTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACC GCCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGT ATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGA CGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTT GGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCC CTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCAT TATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGG CAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGG TCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCT CCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATTTATTTT TTAATTATTTTGTGCGAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGC GGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAA TCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGA GGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGC GCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCCTCGCCCCGTG CCCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCCGCCCCGCCCCGGCTC TGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGA CGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGTTTA ATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCT TAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAG CGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGA GCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGC GCTGCGGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTG TGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGCCCCGCG GTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGC GGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGG CGCGGCGGTGCGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCT CCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGG	CAG

	GCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGG GCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGC GGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGG CGCGGCGGCCCCGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCGC GGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCG AGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGG AGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCCGCACCCCTCTAGC GGGCGCGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGA AATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCC GTCCCCTTCTCCATCTCCAGCCTCGGGGCTGCCGCAGG GGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGG GTTGCGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCT CTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTCTACAGC TCCTGGGCAACGTGCTGGTTGTTGTGCTGTCTCATCATT TTGGCAAAGAATT	
69	GCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCC ACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTTCGGCAATT GAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTG GGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCG AGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGC CGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAA CACAGG	EFS
100	GAGTGGGTAAGTGTGAAAAATCTGCATGTGTGGCTGAA GATGGGCACAGACACGGTCAAGTCTGTATGTGAGAGT GCTGAACTGGGGTTCTGTGTGAAAATCTGCCTGAGGCG GCAGGGAGAATCACTGCCATTGCGTGAGCAGGTTGGAT GTTGGCCACTCTATCAGGAGCATTAGGGAAGGGGTGG GGACTCCAGACGTGTCCCCAAACCAGGGTGGCCTCAAG ACCTTGGGAGAACACTTGTCTGAAGACTTGGGGAACAG AAGGAGACCAGGCATGGCACTTATGCAGACTGAGGCC AGGACAGAATTTCTTGACAAAAGAAAAGTGAAGCCATG GAGATGGACAACAGATCCCTTCCCTGGGCACCATACTG CAGCTTTTAGTCCCTAGCACTGGGGGCTCCAGTACTAA CAGCAGGAAGATGCTCCCAGCCTGGGACTGTGTGAGG GAGGTCAGAATGGGAAGGAGAGGCTGGGGAACAGGG	Myh6

	GAGGAAAGCCCATGGTTGGGAGGCGGAGGACAGGCAT TTGGCCTGCAGGAGAAGGTGACCCTCACCCATGTTTTTC AGTTCACCCTTCGGGTAAAAATAACTGAGGTAAGGGC CATGGCAGGGTGGGAGAGGCGGTGTGAGAAGGTCCTG TCTTCCCACTATCTGCTCATCAGCCCTTTGAAGGGGAG GAATGTGCCCAAGGACTAAAAAAGGCCGTGGAGCCA GAGAGGCTGGGGCAGCAGACCTTTCTTGGGCAAATCA GGGGGCCCTGCTGTCCTCCTGTACCTCCAGAGCCAAA GGATCAAAGGAGGAGGAGCCAGGAGGGGAGAGAGGT GGGAGGGAGGGTCCCTCCGGAAGGACTCCAAATTTAG ACAGAGGGTGGGGGAAACGGGATATAAAGGAACTGGA GCTTTGAGGACAGATAGAGAGACTCCTGCGGCCCAGGT AAGAGGAGGTTTGGGGT	
101	AGCAGTCTGGGCTTTCACATGACAGCATCTGGGGCTGC GGCAGAGGGTTCGGGTCCGAAGCGCTGCCTTATCAGCGT CCCCAGCCCTGGGAGGTGACAGCTGGCTGGCTTGTGTC AGCCCTTCGGGCACTCACGTATCTCCATCCGACGGGTT TAAAATAGCAAACTCTGAGGCCACACAATAGCTTGG GCTTATATGGGCTCCTGTGGGGGAAGGGGGAGCACGG AGGGGGCCGGGGCCGCTGCTGCCAAAATAGCAGCTCA CAAGTGTTGCATTCTCTGCGCGCCGGGCACATTCC TGCTGGCTCTGCCCCGCCCCGGGGTGGGCGCCGGGGGGA CCTTAAAGCCTCTGCCCCCAAGGAGCCCTTCCCAGAC AGCCGCCGGCACCCACCGCTCCGTGGGAC	cTnT

Включение посредством ссылки

[226] Все публикации, патенты и патентные заявки, упомянутые в настоящем описании, включены посредством ссылки так, как если бы каждая отдельная публикация, патент или патентная заявка были конкретно и отдельно включены посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конструкция нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид ламина А и полипептид ламина С или их биологически активный вариант и/или фрагмент, где указанная конструкция содержит по меньшей мере интрон 8 или интрон 11 человеческого гена LMNA дикого типа.

2. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, где интрон 8 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 77, или ее фрагмент.

3. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, где интрон 11 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 80, или ее фрагмент.

4. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-3, где нуклеотидная последовательность дополнительно содержит интрон 10 человеческого гена LMNA дикого типа.

5. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.4, где интрон 10 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 79, или ее фрагмент.

6. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-5, где нуклеотидная последовательность дополнительно включает интрон 9 человеческого гена LMNA дикого типа.

7. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.6, где интрон 9 содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 78, или ее фрагмент.

8. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-7, где нуклеотидная последовательность включает интроны 8 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа.

9. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, где нуклеотидная последовательность включает интрон 8 человеческого гена LMNA дикого типа.

10. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, где нуклеотидная последовательность включает интрон 11 человеческого гена LMNA дикого типа.

11. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-10, где нуклеотидная последовательность дополнительно содержит интроны 9 и 10 человеческого гена LMNA дикого типа.

12. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-11, где нуклеотидная последовательность содержит интроны 8, 9, 10 и 11 человеческого гена LMNA дикого типа.

13. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-12, где конструкция нуклеиновой кислоты не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа.

14. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-12, где конструкция нуклеиновой кислоты не содержит интроны 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа.

15. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-14, где конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит интрон 9 человеческого гена LMNA дикого типа и не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа.

16. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-15, где конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит интрон 10 человеческого гена LMNA дикого типа и не содержит по меньшей мере одного интрона, соответствующего интронам 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа.

17. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-16, где конструкция нуклеиновой кислоты содержит интроны 8-11 человеческого гена LMNA дикого типа и не содержит интроны 1-7 человеческого гена LMNA дикого типа.

18. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-17, где регуляторный элемент имеет не более, чем 500 пар оснований.

19. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-17, где регуляторный элемент имеет не более, чем 900 пар оснований.

20. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-17, где регуляторный элемент имеет не более, чем 800 пар оснований (п.о.), 700 п.о., 600 п.о., 500 п.о., 400 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о.

21. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-20, где регуляторный элемент представляет собой любой из следующих элементов или их комбинаций: любую из SEQ ID NO: 30-58, SEQ ID NO: 102, CBA, CMV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, My h6, десмина, cTnT, α -MHC, MLC-2, CAG или EFS.

22. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-21, где регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA или minCMV или их комбинацию.

23. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.21, где регуляторным элементом является SEQ ID NO: 33.

24. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.21, где регуляторным элементом является CBA.

25. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.21, где регуляторным элементом является minCMV.

26. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-25, где регуляторный элемент является селективным по отношению к типу клеток.

27. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-26, где регуляторный элемент селективно экспрессируется в кардиомиоцитах.

28. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.27, где регуляторный элемент представляет собой любой из Myh6, десмина, cTnT, α -MHC или MLC-2 или их

комбинацию.

29. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.26, где регуляторным элементом является сTNT.

30. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.29, где регуляторный элемент сTNT содержит SEQ ID NO: 101.

31. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30, где конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

32. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30, где конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

33. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30, где конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

34. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30, где конструкция нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая представляет собой последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8, или ее оптимизированный по кодонам вариант и/или фрагмент.

35. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-34, где нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, или его биологически активный фрагмент, и полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, или его биологически активный фрагмент.

36. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-34, где нуклеотидная последовательность кодирует полипептид ламина А, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, или его биологически активный фрагмент, и полипептид ламина С, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, или его биологически активный фрагмент.

37. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-36, где нуклеотидная последовательность дополнительно содержит сигнал полиаденилирования.

38. Вирусный вектор, содержащий конструкцию нуклеиновой кислоты по любому

из пп. 1-37.

39. Вирусный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид ламина А и полипептид ламина С, или его биологически активный вариант и/или фрагмент, где указанная нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере интрон 8 или интрон 11 человеческого гена LMNA дикого типа.

40. Вирусный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 8 гена LMNA дикого типа.

41. Вирусный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 11 гена LMNA дикого типа.

42. Вирусный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интрон 8 и интрон 11 гена LMNA дикого типа.

43. Вирусный вектор по любому из пп. 39-42, где нуклеотидная последовательность дополнительно кодирует один или более из интронов 9 и 10 гена LMNA дикого типа.

44. Вирусный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую: (а) экзоны 1-12 гена LMNA дикого типа; и (b) интроны 8-11 гена LMNA дикого типа.

45. Вирусный вектор по любому из пп. 38-44, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 80% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодам варианту и/или фрагменту.

46. Вирусный вектор по любому из пп. 38-44, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 90% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодам варианту и/или фрагменту.

47. Вирусный вектор по любому из пп. 38-44, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 95% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированному по кодам варианту и/или фрагменту.

48. Вирусный вектор по любому из пп. 38-44, где нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 8 или ее оптимизированный по кодам вариант и/или фрагмент.

49. Вирусный вектор по любому из пп. 38-48, где нуклеотидная последовательность кодирует: а) полипептид ламина А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и b) полипептид

ламина С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13.

50. Вирусный вектор по любому из пп. 38-48, где нуклеотидная последовательность кодирует: а) полипептид ламина А, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и б) полипептид ламина С, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13.

51. Вирусный вектор по любому из пп. 38-50, где нуклеотидная последовательность кодирует полипептид, имеющий аминокислотную последовательность любой одной или более из SEQ ID NO: 12-19 или 21.

52. Вирусный вектор по любому из пп. 38-51, где нуклеотидная последовательность не содержит нуклеотидную последовательность, соответствующую интронам 1-7 гена LMNA дикого типа.

53. Вирусный вектор по любому из пп. 38-52, где нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом.

54. Вирусный вектор по любому из пп. 38-53, где нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим менее, чем 500 п.о.

55. Вирусный вектор по любому из пп. 38-53, где нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим менее, чем 900 п.о.

56. Вирусный вектор по любому из пп. 38-55, где нуклеотидная последовательность функционально связана с регуляторным элементом, имеющим не более, чем 800 п.о., 700 п.о., 600 п.о., 500 п.о., 400 п.о., 300 п.о., 250 п.о., 200 п.о., 150 п.о., 140 п.о., 130 п.о., 120 п.о., 110 п.о., 100 п.о., 70 п.о. или 50 п.о.

57. Вирусный вектор по любому из пп. 53-56, где регуляторный элемент представляет собой любой из следующих элементов или их комбинаций: любую из SEQ ID NO: 30-58, SEQ ID NO: 102, CBA, CMV, SCP, SERpE_TTR, Proto1, minCMV, UCL-HLP, CMVe, My h6, десмина, cTnT, α -MHC, MLC-2, CAG или EFS.

58. Вирусный вектор по любому из пп. 53-56, где регуляторный элемент представляет собой любую из SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, CBA или minCMV или их комбинацию.

59. Вирусный вектор по любому из пп. 53-58, где регуляторным элементом является SEQ ID NO: 33.

60. Вирусный вектор по любому из пп. 53-58, где регуляторным элементом является CBA.

61. Вирусный вектор по любому из пп. 53-58, где регуляторным элементом

является minCMV.

62. Вирусный вектор по любому из пп. 53-59, где регуляторный элемент является селективным по отношению к типу клеток.

63. Вирусный вектор по любому из пп. 53-62, где регуляторный элемент селективно экспрессируется в нейронах, в клетках сетчатки, в почечных клетках, в клетках скелетных мышц, в адипоцитах или в кардиомиоцитах.

64. Вирусный вектор по любому из пп. 53-63, где регуляторный элемент селективно экспрессируется в кардиомиоцитах.

65. Вирусный вектор по п.64, где регуляторный элемент представляет собой любой из Myh6, десмина, сTnT, α -MHC или MLC-2 или их комбинацию.

66. Вирусный вектор по любому из пп. 62-65, где регуляторным элементом является сTNT.

67. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.65 или 66, где регуляторный элемент сTNT содержит SEQ ID NO: 101.

68. Вирусный вектор по любому из пп. 38-67, где нуклеотидная последовательность дополнительно содержит сигнал полиаденилирования.

69. Вирусный вектор по любому из пп. 38-68, где вирусный вектор представляет собой вектор аденоассоциированного вируса (AAV).

70. Вирусный вектор по п.69, где вектор AAV представляет собой AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8, AAV9, scAAV1, scAAV2, scAAV5, scAAV6, scAAV8 или scAAV9.

71. Вирусный вектор по п.69 или 70, где нуклеотидная последовательность дополнительно содержит последовательность 5'-концевого инвертированного повтора (ITR) AAV и последовательность ITR 3'AAV.

72. Вирусная частица, содержащая вирусный вектор по любому из пп. 38-71.

73. Вирусная частица по п.72, где вирусная частица содержит капсидные белки AAV.

74. Вирусная частица по любому из пп. 69-73, где AAV представляет собой AAV6 или AAV9.

75. Клетка-хозяин, содержащая конструкцию нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-36, вирусный вектор по любому из пп. 38-71 или вирусную частицу по любому из пп. 72-74.

76. Фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-36, вирусный вектор по любому из пп. 38-71, вирусную частицу по любому из пп. 72-74, клетку-хозяина по п.75, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

77. Способ лечения ламинопатии у индивидуума, включающий введение терапевтически эффективного количества конструкции нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-37, вирусного вектора по любому из пп. 38-71, вирусной частицы по любому из пп. пп. 72-74, клетки-хозяина по п.75 или фармацевтической композиции по п.76 индивидууму, нуждающемуся в этом.

78. Способ экспрессии полипептида ламина А и полипептида ламина С или их биологически активного варианта и/или фрагмента у индивидуума, включающий введение указанному индивидууму терапевтически эффективного количества конструкции нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-36, вирусного вектора по любому из пп. 38-71, вирусной частицы по любому из пп. 72-74, клетки-хозяина по п.75 или фармацевтической композиции по п.76.

79. Способ повышения уровня экспрессии функционального полипептида ламина А и функционального полипептида ламина С или их биологически активного варианта и/или фрагмента у индивидуума, где указанный способ включает введение указанному индивидууму терапевтически эффективного количества конструкции нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-36, вирусного вектора по любому из пп. 38-71, вирусной частицы по любому из пп. 72-74, клетки-хозяина по п.75 или фармацевтической композиции по п.76.

80. Способ по п.78 или 79, где индивидуум страдает ламинопатией.

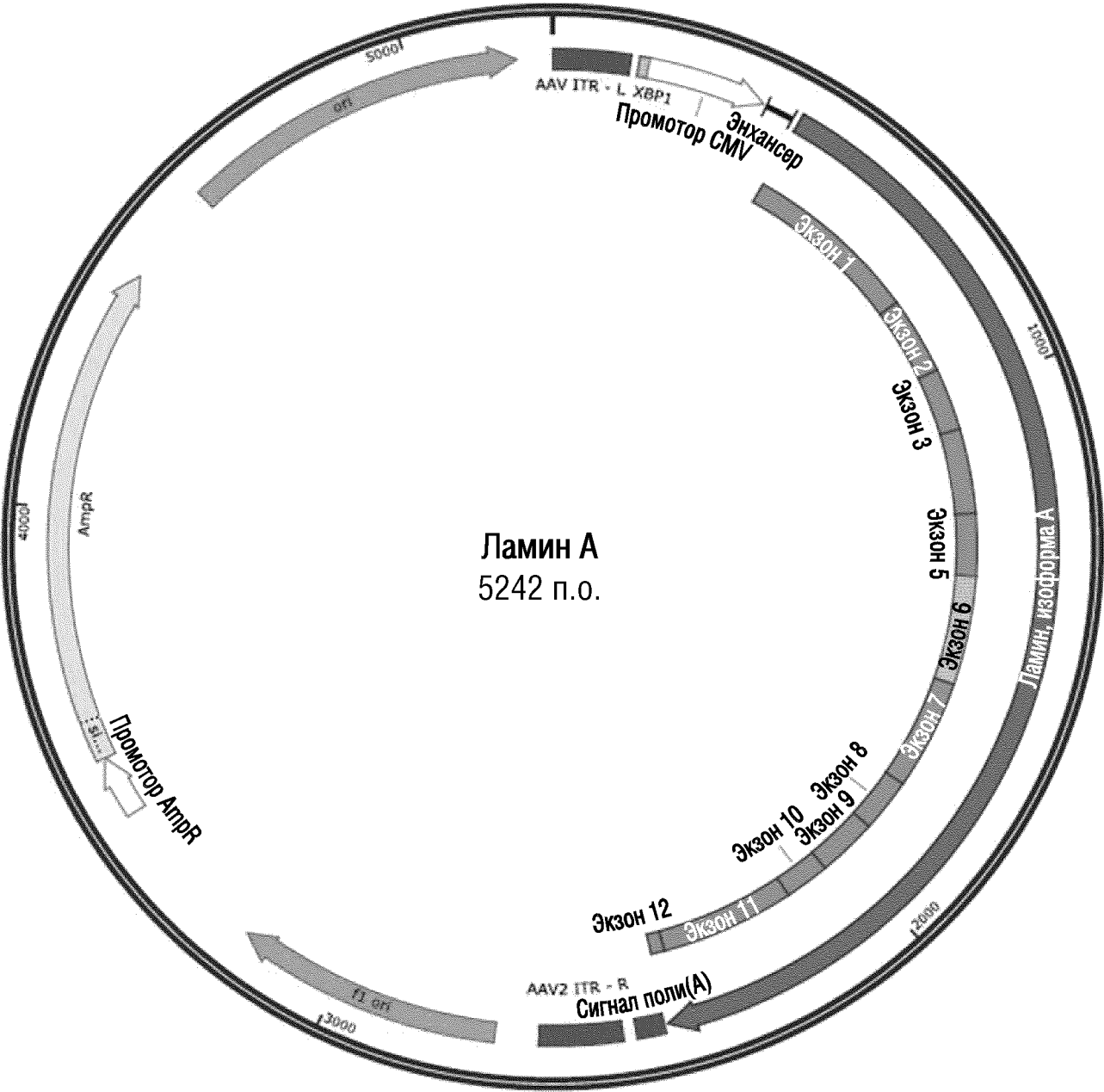
81. Способ по п.77 или 80, где ламинопатия представляет собой любое одно или более из: болезни Шарко-Мари-Туфа, мышечной дистрофии Эмери-Дрейфуса, семейной частичной липодистрофии, синдрома прогерии Хатчинсона-Гилфорда, мышечной дистрофии конечностей-поясничного отдела, врожденной мышечной дистрофии, ассоциированной с LMNA, челюстно-подъязычной дисплазии, аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка, наследственной фибрилляции предсердий, увеличения объема левого желудочка или дилатационной кардиомиопатии.

82. Способ по любому из пп. 77-81, где указанную конструкцию нуклеиновой кислоты, вирусный вектор, вирусную частицу, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию вводят интрамиокардиально, внутривенно, внутримышечно, интратекально, подкожно, системно, или местно в миокард.

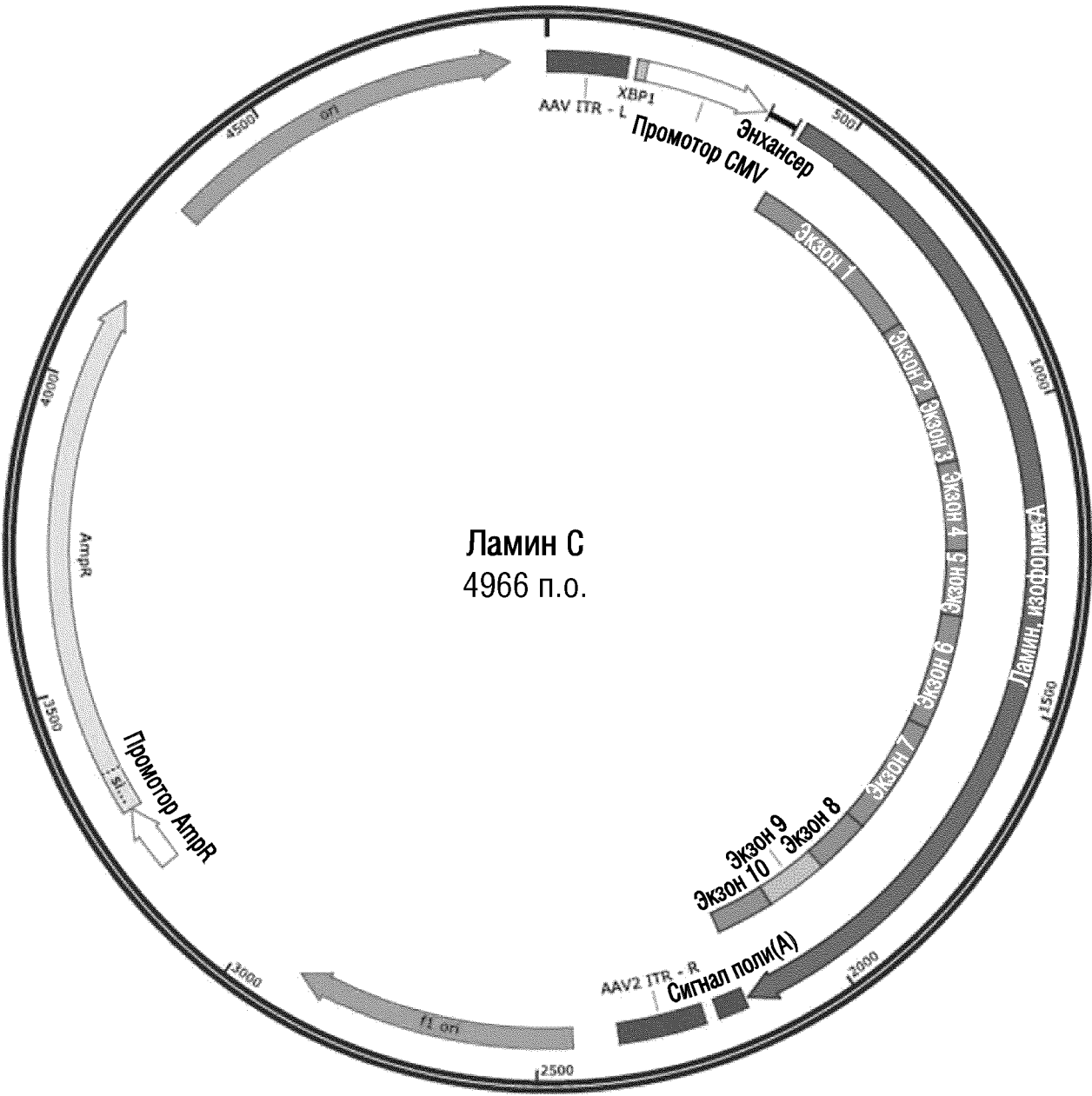
83. Способ по любому из пп. 77-81, где указанную конструкцию нуклеиновой кислоты, вирусный вектор, вирусную частицу, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию вводят внутривенно или системно.

По доверенности

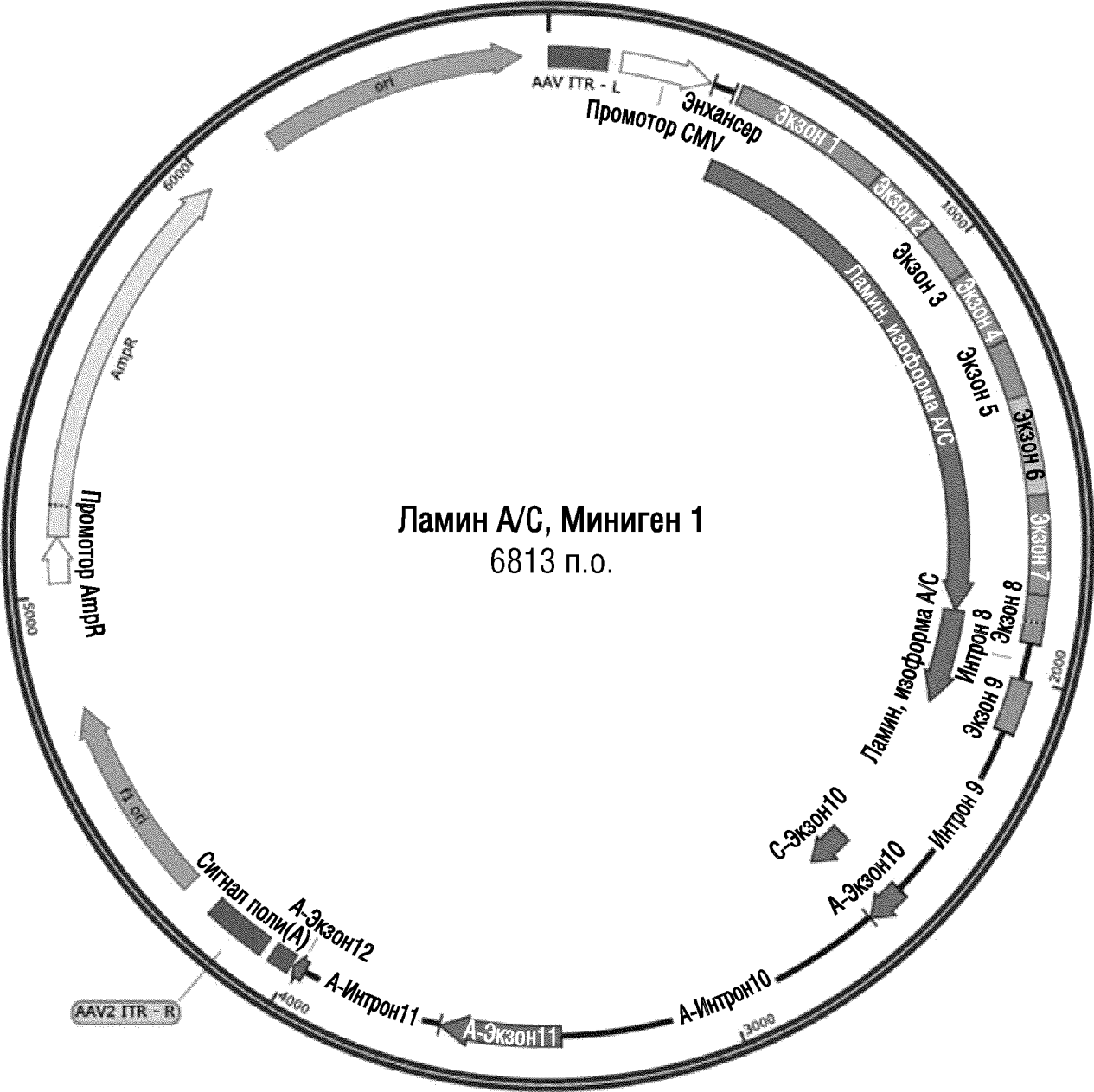
ФИГ.1



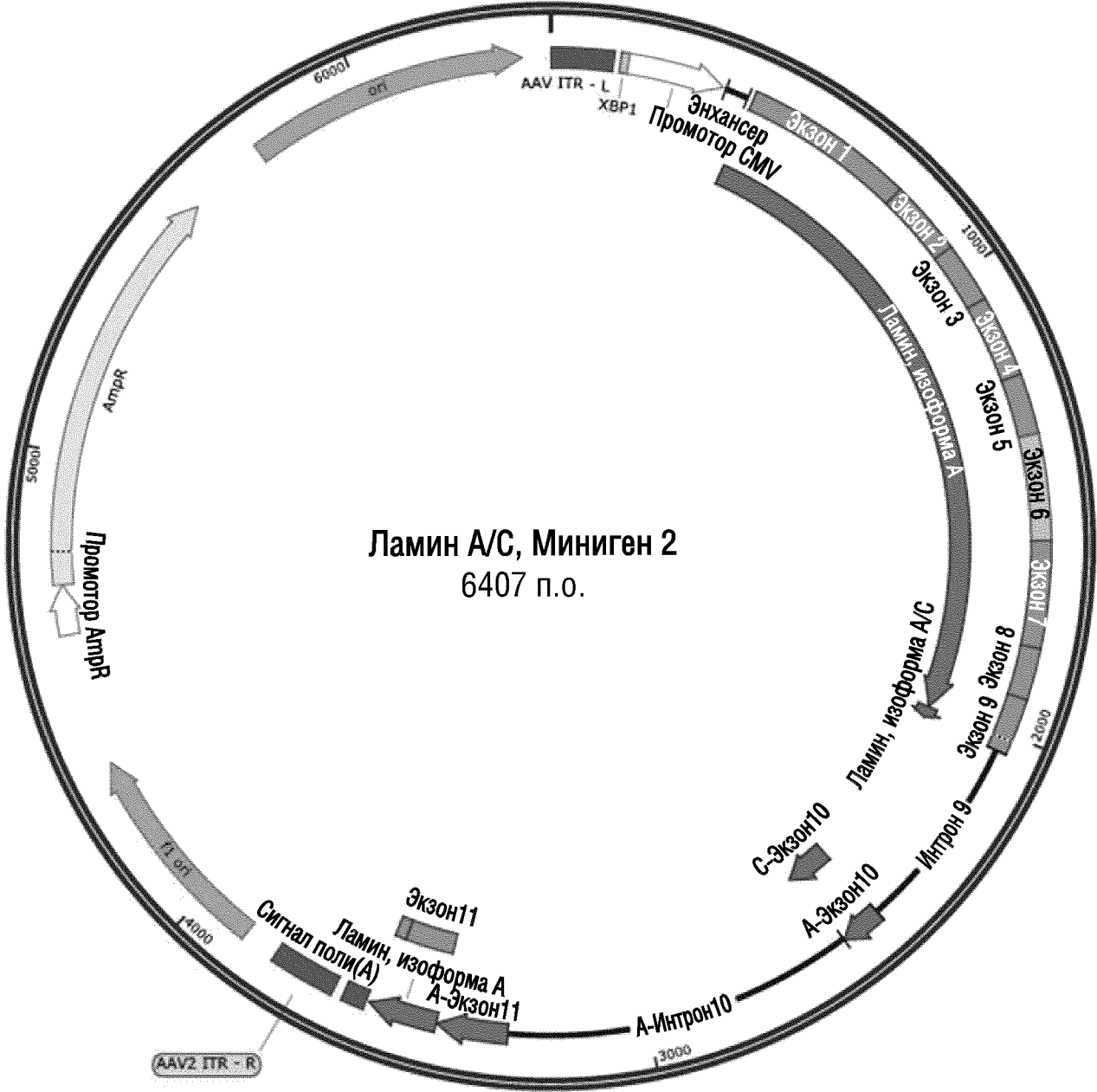
ФИГ.2



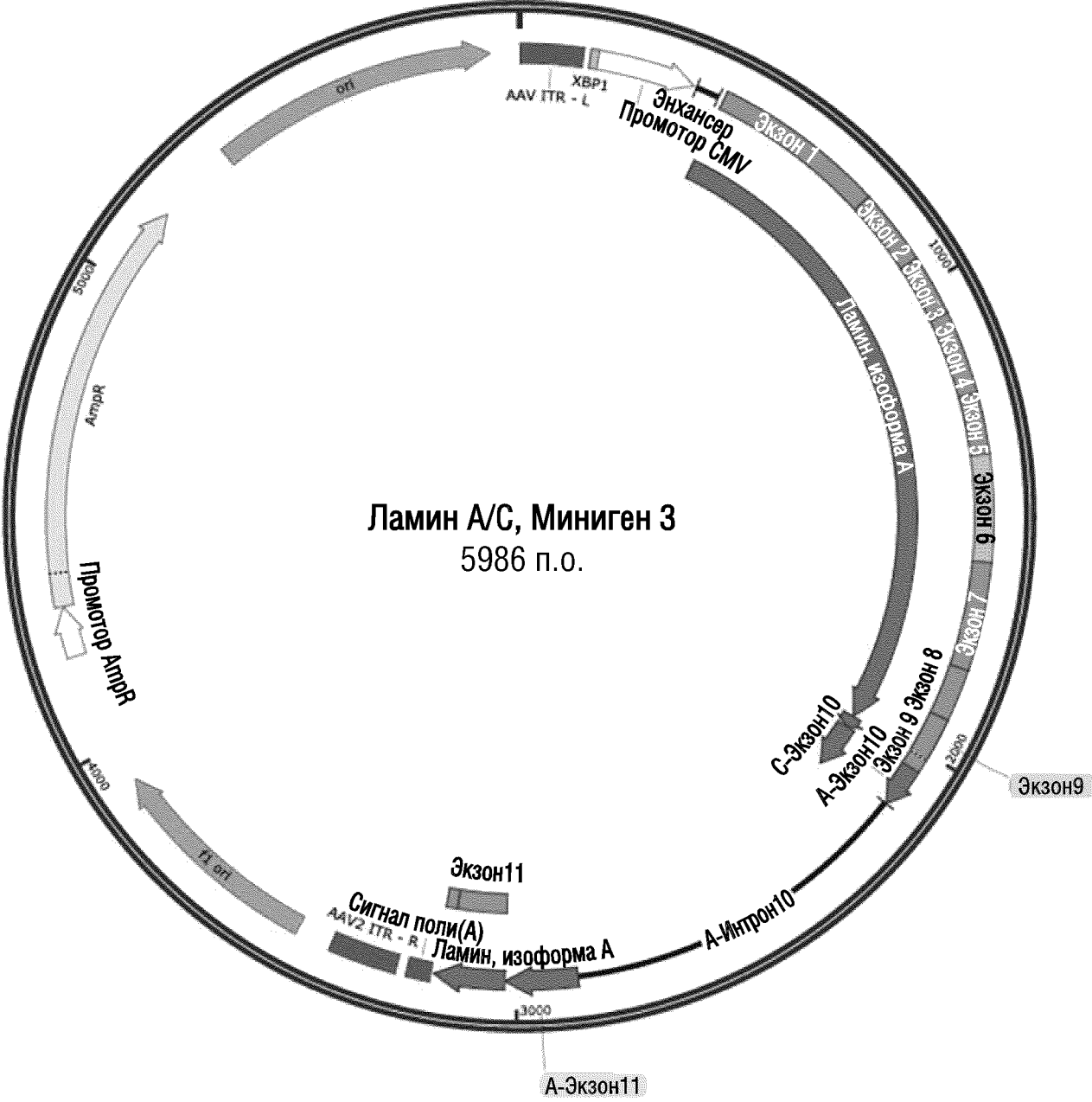
ФИГ.3



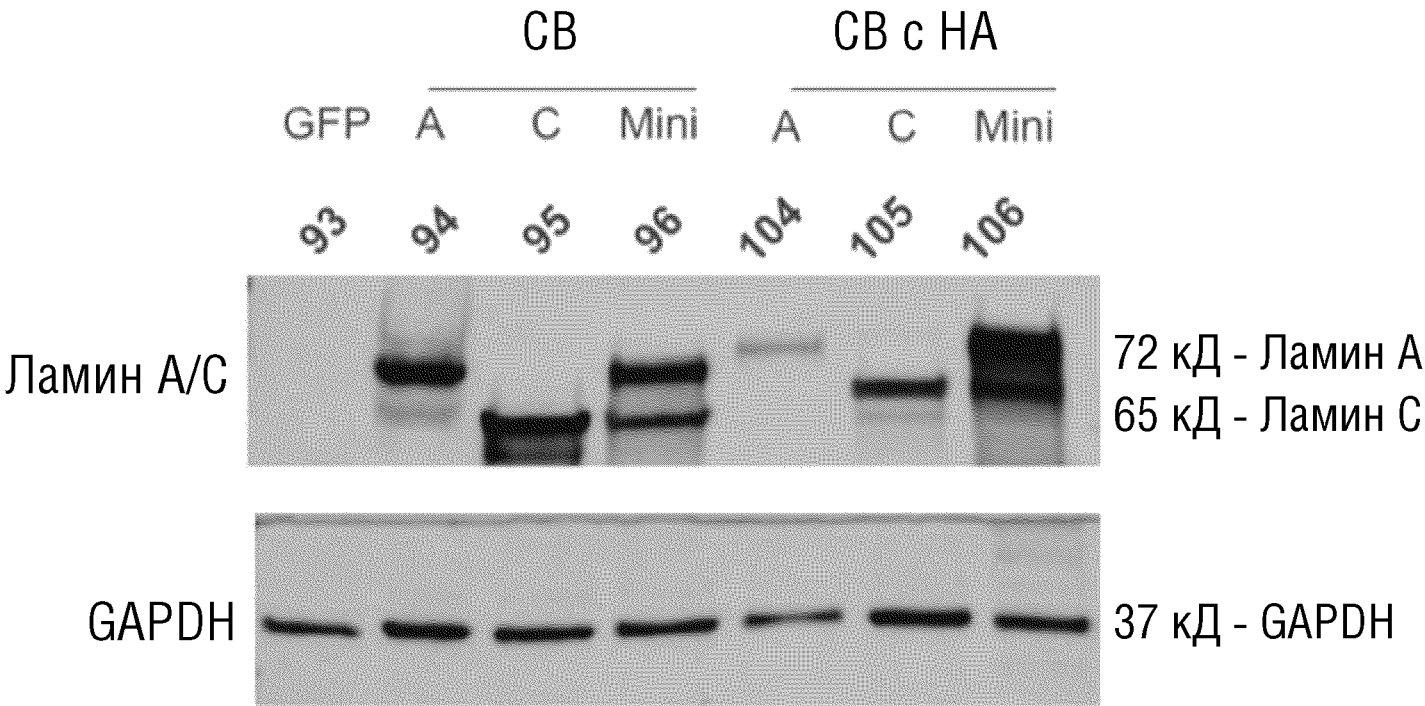
ФИГ.4



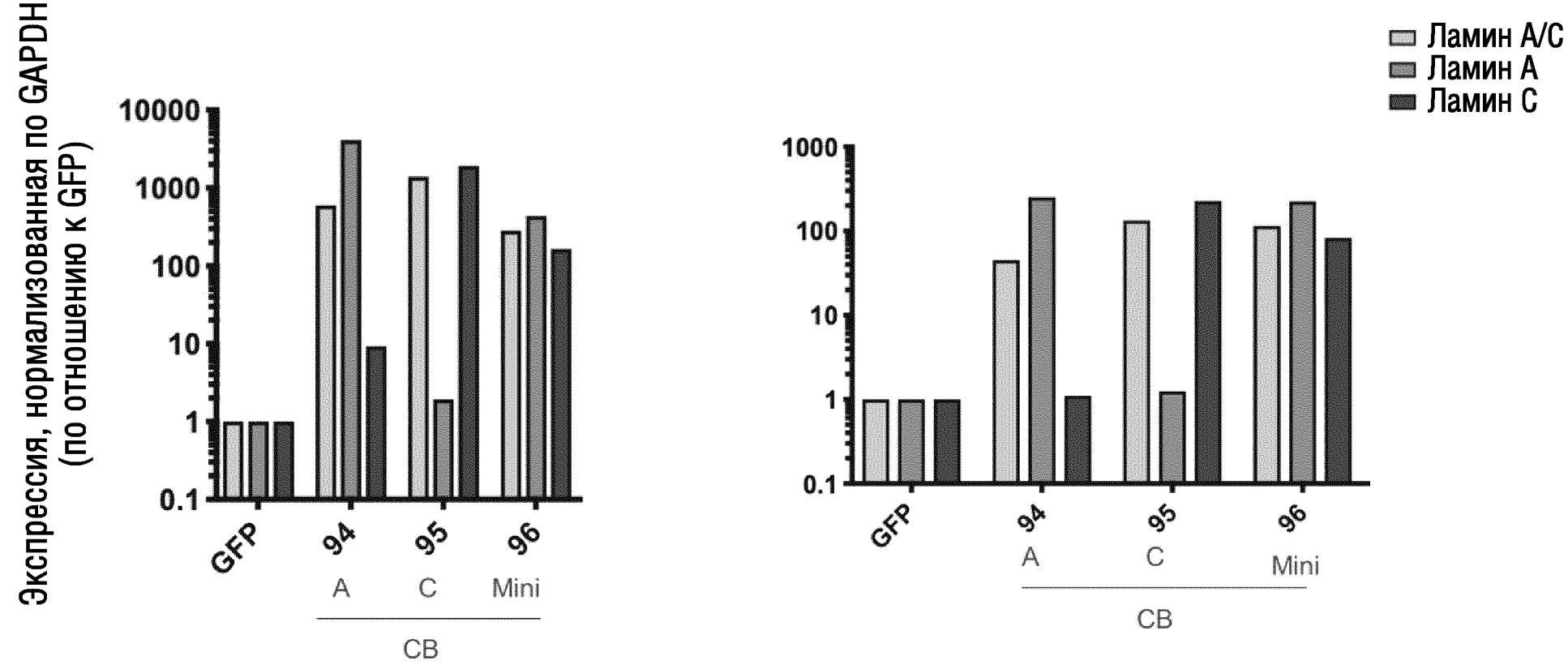
ФИГ.5



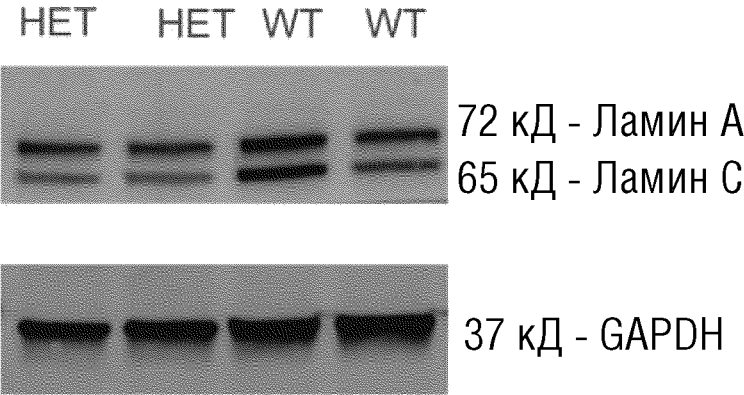
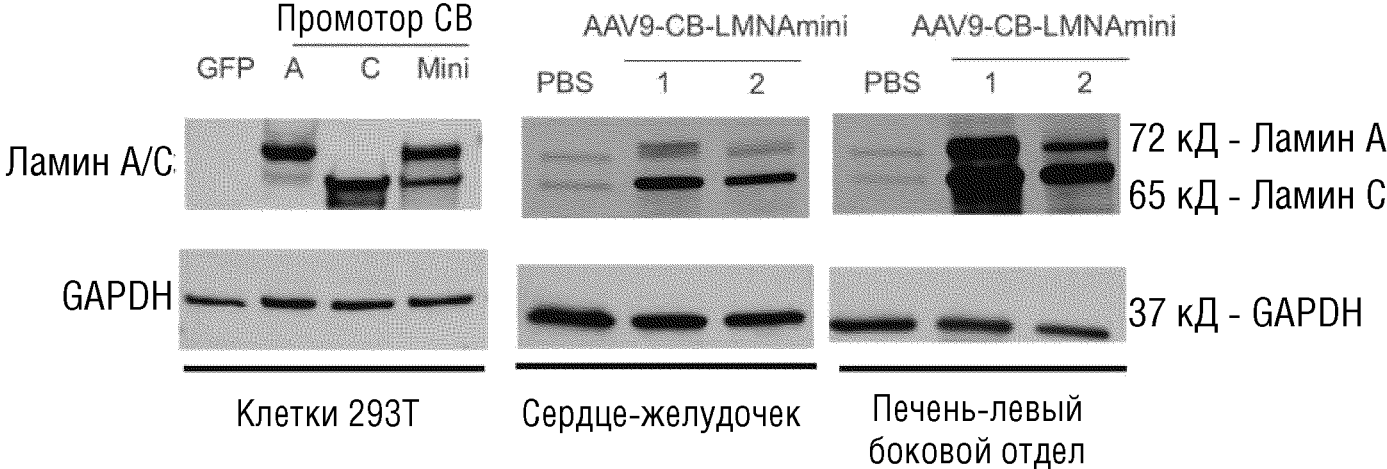
ФИГ.6



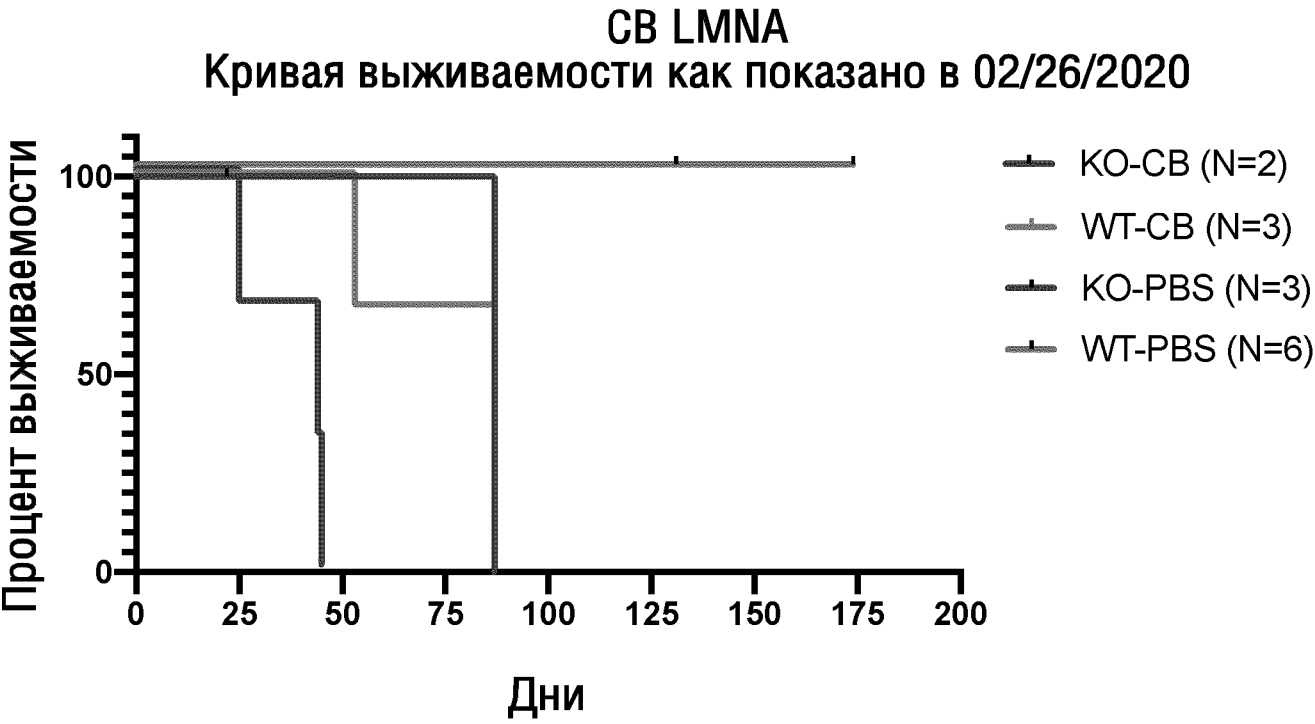
ФИГ.7



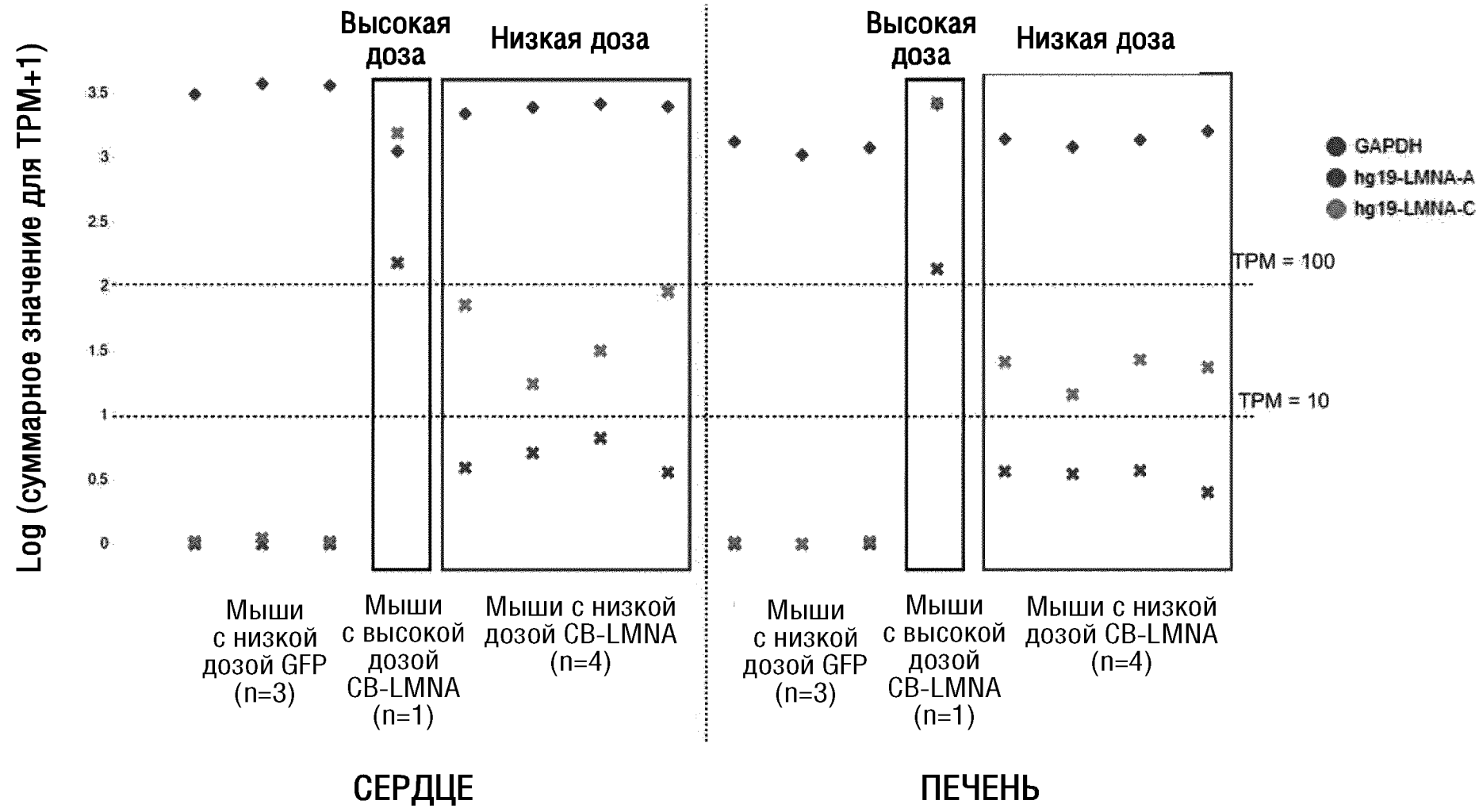
ФИГ.8



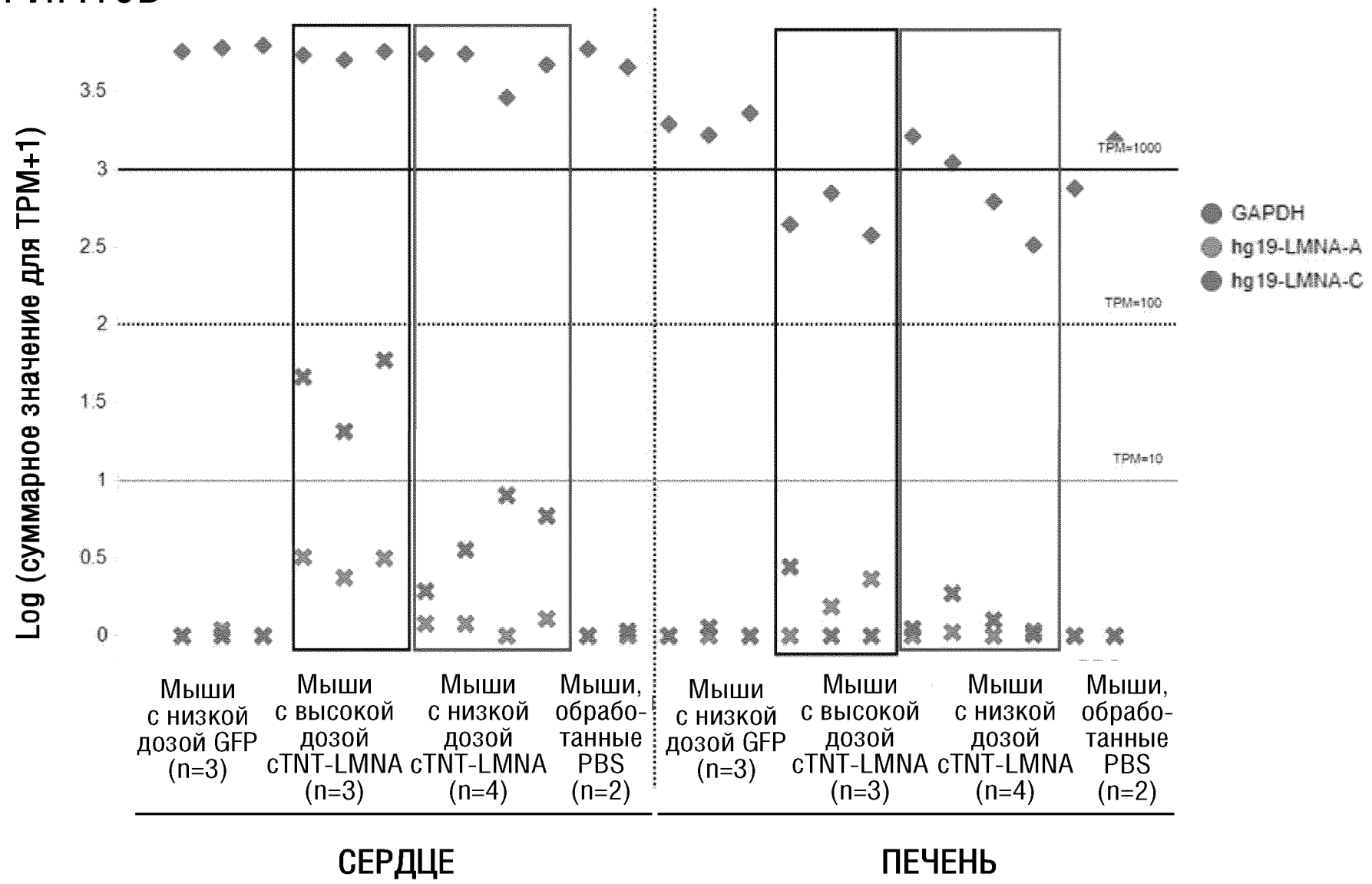
ФИГ.9



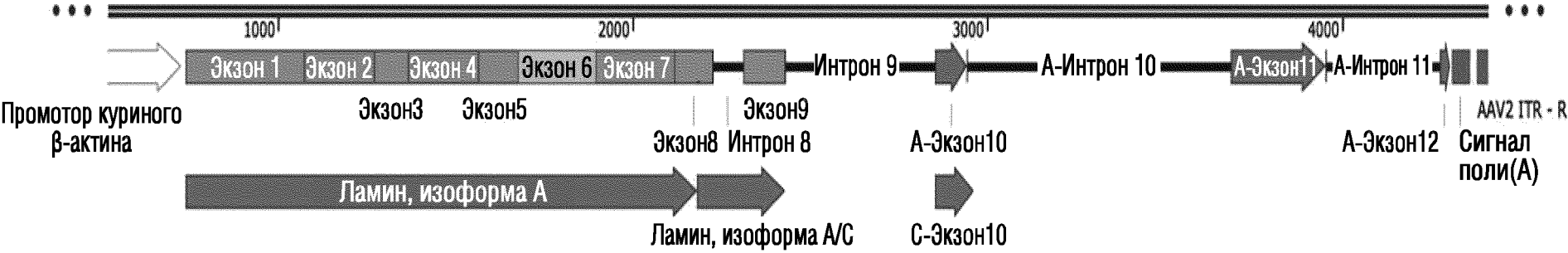
ФИГ.10А



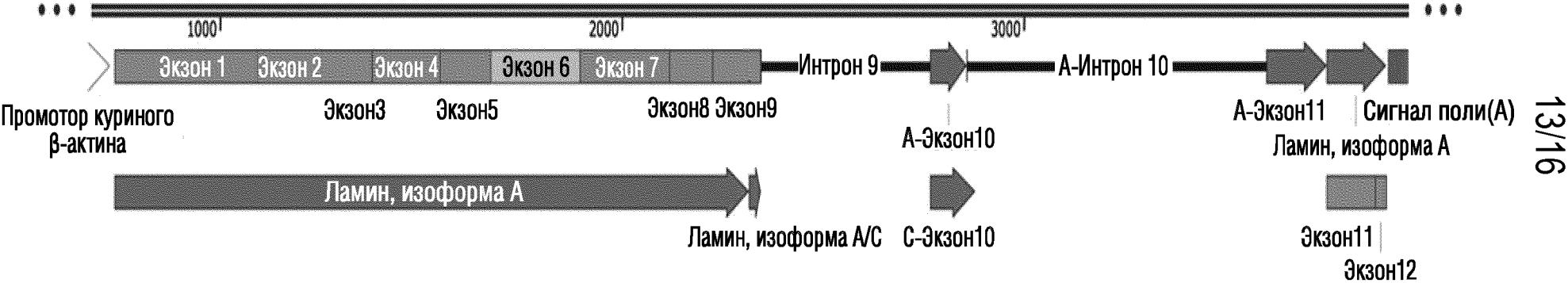
ФИГ.10В



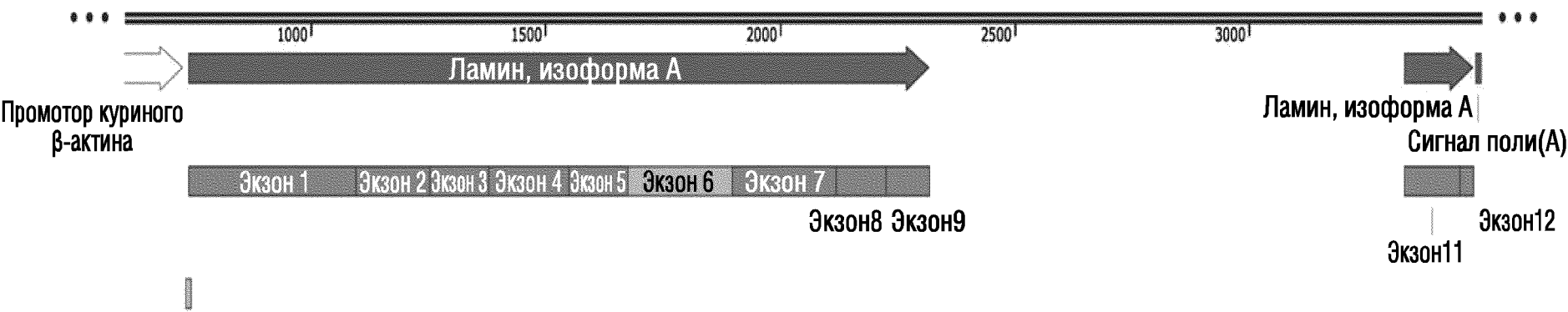
ФИГ.11А



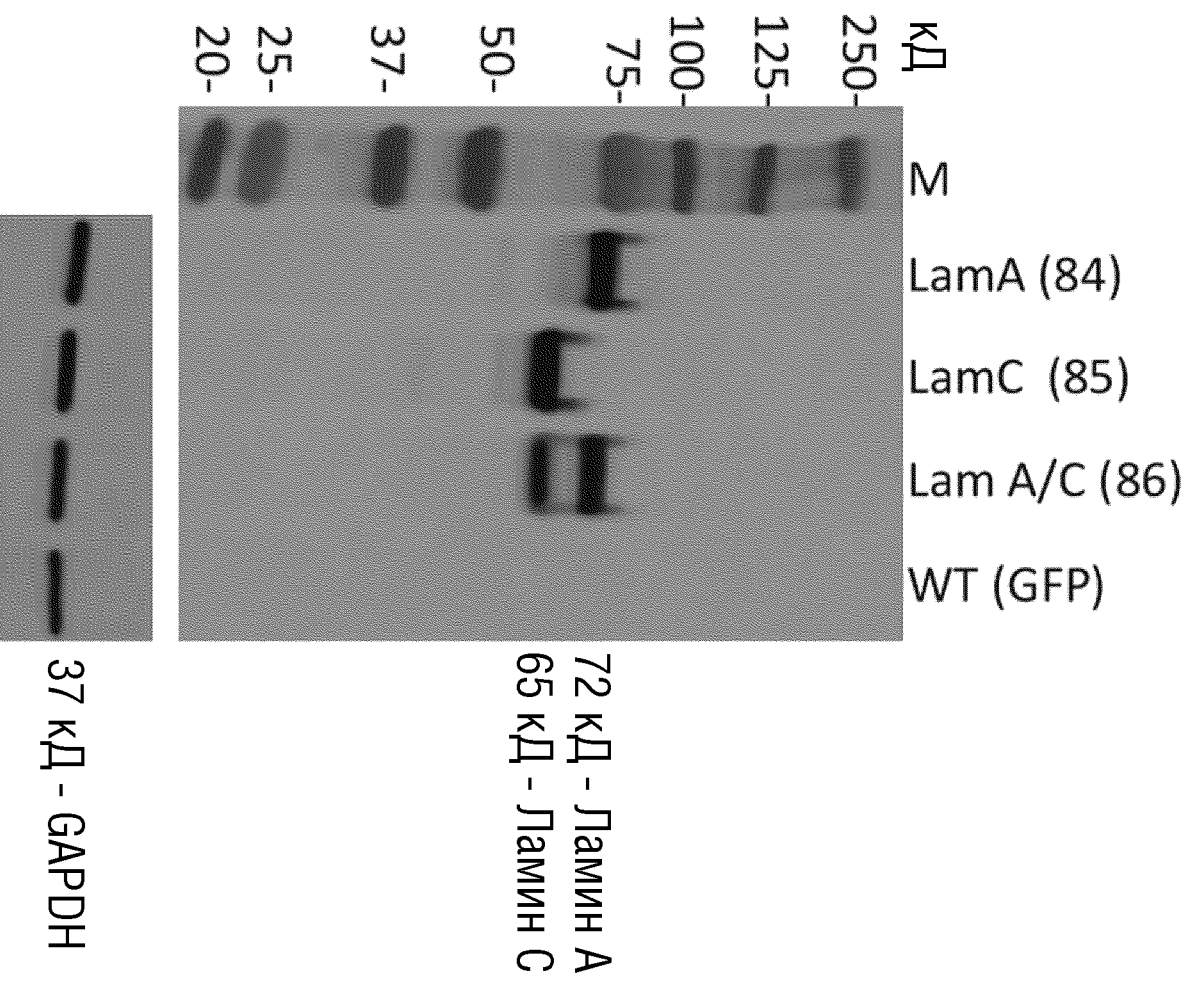
ФИГ.11В



ФИГ.11С



Фиг.12



ФИГ.13

