

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192815 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.24(22) Дата подачи заявки
2020.04.14(51) Int. Cl. C12N 15/52 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 15/11 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)(54) ОПОСРЕДУЕМАЯ AAV-ВЕКТОРОМ ДЕЛЕЦИЯ КРУПНОЙ МУТАЦИОННОЙ
"ГОРЯЧЕЙ ТОЧКИ" ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ ДЮШЕННА

(31) 62/833,760

(32) 2019.04.14

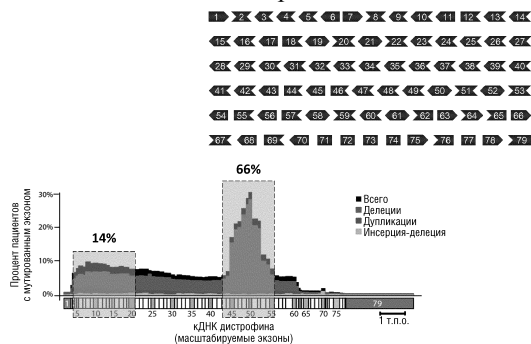
(33) US

(86) PCT/US2020/028148

(87) WO 2020/214609 2020.10.22

(71) Заявитель:
ДБЮК ЮНИВЕРСИТИ (US)(72) Изобретатель:
Герсбах Чарльз А., Булаклак Карен,
Робинсон-Хамм Жаклин Н. (US)(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении раскрываются терапевтические мишени для коррекции гена дистрофина человека посредством редактирования гена и способы их применения.



202192815

A1

A1

202192815

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-571149EA/032

ОПОСРЕДУЕМАЯ AAV-ВЕКТОРОМ ДЕЛЕЦИЯ КРУПНОЙ МУТАЦИОННОЙ «ГОРЯЧЕЙ ТОЧКИ» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ ДЮШЕННА

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] В настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США № 62/833760, поданной 14 апреля 2019 г., которая в полном объеме вводится в настоящее описание посредством ссылки.

Заявление относительно исследований, спонсируемых Федеральными Органами

[0002] Настоящее изобретение было сделано при государственной поддержке в соответствии с грантом R01AR069085, выданным Национальным Институтом Здравоохранения. Правительство имеет определенные права на это изобретение.

Область изобретения

[0003] Настоящее изобретение относится к области изменения экспрессии генов, к геномной инженерии и геномной модификации генов с использованием систем на основе кластеризованных регулярно перемежающихся коротких палиндромных повторов (CRISPR)/CRISPR-ассоциированной Cas9 и вирусной системы доставки. Настоящее изобретение также относится к области геномной инженерии и геномной модификации генов в мышцах, таких как скелетные мышцы и сердечные мышцы.

Введение

[0004] Системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 могут быть использованы для введения сайт-специфичных двухцепочечных разрывов в геномные локусы-мишени. Это расщепление ДНК стимулирует природный механизм репарации ДНК, что приводит к инициации одного из двух возможных путей репарации. В отсутствие донорной матрицы, разрыв будет репарироваться посредством негомологичного соединения концов (NHEJ), то есть, пути репарации с вероятностью ошибки, который приводит к небольшим инсерциям или делециям ДНК. Этот метод может быть применен для нацеленной дизрупции, делеции или модификации рамки считывания последовательностей генов-мишеней. Однако, если донорная матрица продуцируется вместе с нуклеазами, то клеточный механизм будет репарировать разрыв путем гомологичной рекомбинации, которая усиливается на несколько порядков при расщеплении ДНК. Этот метод может быть применен для внесения конкретных изменений в последовательность ДНК в сайтах-мишенях. Сконструированные нуклеазы были использованы для редактирования генов в различных стволовых клетках и клеточных линиях человека, а также для редактирования генов в печени мыши. Однако, основным препятствием для осуществления этих технологий является доставка к конкретным тканям *in vivo* таким способом, который был бы подходящим, эффективным и обеспечивал бы успешную модификацию генома.

[0005] Наследственные генетические заболевания представляют большую угрозу

для жизни детей в Соединенных Штатах. Эти заболевания в настоящее время являются неизлечимыми, и все лечение ограничивается лишь попытками ослабления симптомов. На протяжении десятилетий, генотерапия рассматривалась как перспективный способ лечения этих заболеваний. Однако, технические ограничения, связанные с безопасной и эффективной доставкой терапевтических генов в клетки пациентов, создают проблемы при применении такого подхода. Мышечная дистрофия Дюшенна (МДД) представляет собой смертельное генетическое заболевание, клинически характеризующееся истощением мышц, потерей способности передвигаться и летальным исходом обычно на третьем десятилетии жизни из-за потери функционального дистрофина. МДД является результатом наследственных или спонтанных мутаций в гене дистрофина. Большинство мутаций, вызывающих МДД, являются результатом делеций экзона(ов), удаляющих трансляционную рамку считывания за пределы основной рамки считывания. Большинство мутаций при МДД представляют собой делеции (~68%) одного или более из 79 экзонов, которые сдвигают рамку считывания и прекращают экспрессию полноразмерного транскрипта. Делеции в основном происходят в двух «горячих точках» гена, которые включают экзоны 2-20 (~ 1/3 от всех делеций) и экзоны 45-55 (~ 2/3 от всех делеций). У пациентов с мышечной дистрофией Беккера (МДБ) с природными делециями в рамке считывания всей области гена с экзонами 45-55 гена дистрофина наблюдалась отсрочка начала развития заболевания и минимальная патология скелетных мышц.

[0006] Дистрофин представляет собой ключевой компонент белкового комплекса, который ответственен за регуляцию целостности и функции мышечных клеток. Пациенты с МДД обычно теряют способность к физической деятельности в детстве, становятся все слабее в подростковом возрасте и умирают в возрасте двадцати лет. Современные экспериментальные стратегии генотерапии МДД требуют многократного введения носителей для временной доставки генов или основаны на постоянной интеграции чужеродного генетического материала в геномную ДНК. Оба эти метода имеют серьезные проблемы, связанные с безопасностью. Кроме того, эти стратегии были ограничены неспособностью доставить большую и сложную последовательность гена дистрофина. Поэтому, все еще остается потребность в более точных и эффективных инструментах редактирования генов для коррекции и лечения пациентов, имеющих мутации в гене дистрофина.

Сущность изобретения

[0007] В одном своем аспекте, настоящее изобретение относится к системе CRISPR-Cas. Система CRISPR-Cas может включать один или несколько векторов, кодирующих композицию, где указанная композиция включает: (a) молекулу первой направляющей РНК (рРНК), нацеленной на интрон 44 дистрофина; (b) вторую молекулу рРНК, нацеленную на интрон 55 дистрофина; (c) белок Cas9; и (d) один или более остонов рРНК Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, система содержит один единственный вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, система содержит два или более векторов, где два или более векторов включают первый вектор и

второй вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, (a) первый вектор кодирует первую молекулу рРНК и вторую молекулу рРНК; и (b) второй вектор кодирует белок Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, (a) первый вектор кодирует первую молекулу рРНК; и (b) второй вектор кодирует вторую молекулу рРНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, первый вектор также кодирует белок Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, второй вектор также кодирует белок Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессия белка Cas9 инициируется конститутивным промотором или мышцеспецифическим промотором. В некоторых вариантах осуществления изобретения, мышцеспецифический промотор включает промотор МНСК7, промотор СК8 или промотор Spc512. В некоторых вариантах осуществления изобретения, один вектор кодирует первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и белок Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор содержит по меньшей мере один двунаправленный промотор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, двунаправленный промотор включает: первый промотор, инициирующий экспрессию первой молекулы рРНК и/или второй молекулы рРНК; и второй промотор, инициирующий экспрессию белка Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, первая рРНК нацелена на полинуклеотид SEQ ID NO: 2 или на его 5'-усеченный вариант. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вторая рРНК нацелена на полинуклеотид SEQ ID NO: 3 или его 5'-усеченный вариант. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок Cas9 представляет собой белок SpCas9, SaCas9 или St1Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, остов рРНК Cas9 представляет собой остов рРНК SaCas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, остов рРНК SaCas9 содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 4 или кодируется этим полинуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, белок Cas9 представляет собой белок SaCas9, кодируемый полинуклеотидом SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор содержит по меньшей мере один полинуклеотид, выбранный из SEQ ID NO: 1-13 и 24. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор представляет собой вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор представляет собой аденоассоциированный вирусный вектор (AAV). В некоторых вариантах осуществления изобретения, AAV-вектор представляет собой AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV-10, AAV-11, AAV-12, AAV-13 или AAVrh.74. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор содержит универсальный промотор или тканеспецифический промотор, функционально связанный с полинуклеотидной последовательностью, кодирующей

первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и/или белок Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, тканеспецифический промотор представляет собой мышцеспецифический промотор.

[0008] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к клетке, содержащей описанную здесь систему.

[0009] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к набору, содержащему описанную здесь систему.

[00010] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к способу коррекции мутантного гена дистрофина в клетке. Этот способ может включать введение в клетку описанной здесь системы.

[00011] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к способу редактирования мутантного гена дистрофина в геноме индивидуума. Этот способ может включать введение индивидууму описанной здесь системы или клетки. Такая система или клетка могут быть введены индивидууму внутримышечно, внутривенно или в их комбинации.

[00012] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к способу лечения индивидуума, имеющего мутантный ген дистрофина. Этот способ может включать введение индивидууму описанной здесь системы или клетки. Такая система или клетка могут быть введены индивидууму внутримышечно, внутривенно или в их комбинации.

[00013] Настоящее изобретение относится и к другим аспектам и вариантам его осуществления, которые будут очевидны исходя из нижеследующего подробного описания и прилагаемых чертежей.

Краткое описание чертежей

[00014] На фиг. 1 показаны две «горячие точки» в дистрофине, в которых может происходить делеция. Ген дистрофина (который может обозначаться геном DMD) является самым крупным из всех известных генов человека (2,3 м.п.о.). Приблизительно 68% мутаций представляют собой делеции крупных экзонов, которые приводят к ошибкам сдвига рамки считывания.

[00015] На фиг. 2 подробно описаны «горячие точки» с мутациями экзонов 45-55. Приблизительно 45% всех мутаций DMD и многие обычно делетированные одиночные экзоны расположены в этой области. У пациентов с делецией экзонов 45-55 в рамке считывания наблюдается более мягкий фенотип дистрофии. AON (антисмысловые олигонуклеотиды) были использованы для индуцирования вырезания экзонов в этой области.

[00016] На фиг. 3 показано вырезание экзонов 45-55 дистрофина. Эта система протестирована на гуманизированной мыши, несущей человеческий ген с делецией экзона 52.

[00017] На фиг. 4 показана инъекция системы для вырезания экзонов 45-55 дистрофина у новорожденных мышей. Новорожденным мышам вводили системные

инъекции через 2 дня после рождения (P2). Мышцы собирали через 8 недель после обработки. ПЦР-полосы показали предполагаемую делецию.

[00018] На фиг. 5 показана экспрессия дистрофина у мышей, подвергавшихся системной обработке. Показано 10-кратное увеличение двойного вектора P2, инъецированного через 8 недель после обработки.

[00019] На фиг. 6 показана традиционная двухвекторная система по сравнению с одновекторной системой. Преимущества одновекторной системы могут включать: наличие всех необходимых компонентов редактирования в одном векторе, возможность увеличивать эффективную дозу, оптимизацию продуцирования других векторов (единого терапевтического агента), использование/включение мышцеспецифических промоторов (СК8, Spc512, МНСК7), и возможность воздействовать на комбинации экзонов и крупных делеций (путем модификации руководящих последовательностей).

[00020] На фиг. 7 проиллюстрировано сравнение конструкций вектора. Показаны все компоненты, объединенные в одном векторе (общая упакованная ДНК <4,8 т.п.о. включает: SaCas9 (~3,2 т.п.о.); минисигнал полиаденилирования (60 п.о.) или сигнал полиаденилирования bGH (232 п.о.); конститутивный промотор EFS (252 п.о.) или мышцеспецифический промотор).

[00021] На фиг. 8 показан объединенный вектор с делецией экзонов 45-55 и анализ *in vitro* клеток НЕК293.

[00022] На фиг. 9А схематически представлена диаграмма гена дистрофина иммортализованных миобластов, выделенных у пациента с МДД, и показана делеция экзонов 48-50. На фиг. 9В показаны результаты ПЦР геномной ДНК и кДНК с делециями от прошедших лечение пациентов с МДД, и эти результаты указывает на то, что экзон 45-55 был эффективно удален с помощью векторов, как подробно описано в настоящей заявке. На фиг. 9С представлен Вестерн-блот-анализ клеточных лизатов, указывающий на то, что необработанные миобласты не продуцируют белок дистрофин, в то время как трансфицированные миобласты экспрессируют менее крупный белок дистрофина по сравнению с позитивным контролем, что соответствует делеции «горячей точки».

[00023] На фиг. 10 представлены изображения клеток сердечной мышцы у новорожденных мышей hDMDΔ52/mdx, которым инъецировали AAV-CRISPR, нацеленный на контрольный локус (верхняя панель) или на экзон 45-55 (нижняя панель). Клетки собирали через 8 недель после инъекции. Клетки окрашивали DAPI или на дистрофин. 10-кратное увеличение, масштаб=200 мкм.

[00024] На фиг. 11 схематически представлена диаграмма вариантов объединенного вектора 5.

[00025] На фиг. 12 представлены изображения мышечных клеток ТА через 8 недель после инъекции указанных векторов при 10-кратном увеличении.

[00026] На фиг. 13 представлены графики, иллюстрирующие экспрессию SaCas9 и рРНК *in vivo* в результате обработки указанными объединенными векторами, как было определено с помощью кол.ОТ-ПЦР с использованием образцов ТА, взятых через 8

недель после инъекции. N=3-4.

[00027] На фиг. 14 представлены графики, иллюстрирующие стабильность объединенных векторов (AIO) *in vivo*. На левом графике представлены результаты кол.ПЦР с использованием образцов ТА, взятых через 8 недель после инъекции. На правых графиках представлены результаты ELISpot-анализа на IFN-гамма против SaCas9. N=3-4 для обоих графиков.

Подробное описание изобретения

[00028] Как описано в настоящей заявке, было обнаружено, что определенные способы и сконструированные рПНК могут быть использованы вместе с системами редактирования генов на основе CRISPR/CRISPR-ассоциированных Cas9 для изменения экспрессии, конструирования генома и коррекции или снижения эффектов мутаций в гене дистрофина, которые приводят к генетическим заболеваниям, таким как МДД. Раскрытые здесь рПНК были созданы для сайтов-мишеней, которые в большей степени поддаются клинической трансляции. Так, например, ген, кодирующий Cas9 *S. pyogenes* (SpCas9), слишком велик для доставки посредством аденоассоциированного вируса (AAV), то есть, вектора, используемого для системной доставки гена в мышцы, если включены все другие необходимые регуляторные последовательности. Вместо этого были отобраны описанные здесь рПНК и был проведен скрининг на их использование вместе с Cas9 *S. aureus* (SaCas9), который приблизительно на 1 т.п.о. меньше, чем SpCas9. Раскрытые здесь рПНК, которые нацелены на последовательности гена дистрофина человека, могут быть использованы вместе с системой на основе CRISPR/Cas9 для нацеливания на экзоны 45-55 гена дистрофина человека, что будет приводить к геномным делециям этой области для восстановления экспрессии функционального дистрофина в клетках, взятых у пациентов с МДД.

[00029] В настоящей заявке также описаны генетические конструкции, композиции и способы доставки системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 и множества рПНК для нацеливания на ген дистрофина. Раскрытый здесь предмет изобретения также относится к способам доставки генетических конструкций (например, векторов) или содержащих их композиций в скелетные мышцы и сердечные мышцы. Вектор может представлять собой AAV, включая модифицированные векторы AAV. В раскрытом здесь изобретении описан способ доставки активных форм терапевтических средств этого класса в скелетную мышцу или в сердечную мышцу, который является подходящим и эффективным и облегчает успешную модификацию генома, а также описаны средства для перезаписи генома человека для терапевтических применений и нацеливания на модели различных видов в целях проведения фундаментальных научных исследований. Способы могут включать использование одного вектора AAV для доставки всех редактирующих компонентов, необходимых для вырезания экзонов 45-55 дистрофина.

[00030] Заголовки разделов и все приведенные здесь описания представлены лишь в иллюстративных целях и не рассматриваются как ограничение объема изобретения.

1. Определения

[00031] Если не указано иное, то все используемые здесь технические и научные термины имеют свои общепринятые значения, понятные специалистам в данной области. В случае возникновения разночтений следует отдать предпочтение определениям, представленным в настоящей заявке. Предпочтительные способы и материалы описаны ниже, хотя для практического осуществления изобретения или проведения анализов согласно изобретению могут быть применены способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным здесь способам и материалам. Все упомянутые здесь публикации, патентные заявки, патенты и другие документы во всей своей полноте включены в настоящее описание посредством ссылки. Раскрытые здесь материалы, способы и примеры приводятся лишь в иллюстративных целях и не рассматриваются как ограничение объема изобретения.

[00032] Используемые здесь термины «содержит(ат)», «включает(ют)», «имеющий», «имеет», «может», «содержит(ат)» и их варианты рассматриваются как неограничивающие переходные фразы, термины или слова, которые не исключают возможность дополнительных действий или использования других структур. Используемые здесь артикли «a», «an» и «the», употребляемые с существительными в формах единственного числа, могут относиться и к существительным во множественном числе, если из контекста описания не следует иное. В настоящем изобретении также рассматриваются другие варианты его осуществления, «содержащие», «состоящие из» и «состоящие по существу из» вариантов или элементов, представленных в настоящей заявке, независимо от того, указаны они конкретно или нет.

[00033] При перечислении имеющихся здесь числовых интервалов, предусматривается, что каждое промежуточное число в данном интервале указано с одинаковой степенью точности. Так, например, для интервала 6-9, помимо чисел 6 и 9 указываются также числа 7 и 8, а для интервала 6,0-7,0, числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0 рассматриваются как точные значения.

[00034] Используемый здесь термин «около» или «приблизительно» означает значения в пределах допустимых ошибок для конкретной величины, которые могут быть определены специалистом в данной области, и будут частично зависеть от того, как это значение измеряется или определяется, то есть, от ограничений системы измерения. Так, например, «приблизительно» может означать значение в пределах 3 или более, чем 3 стандартных отклонений в соответствии с практикой, применяемой в данной области. Альтернативно, «приблизительно» может означать диапазон до 20%, предпочтительно до 10%, более предпочтительно до 5%, а еще более предпочтительно до 1% от заданного значения. В некоторых аспектах изобретения, термин «приблизительно» относится к интервалу значений, которые находятся в пределах 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или меньше в любом направлении (больше или меньше) от указанного эталонного значения, если это не оговорено особо, или если это не очевидно из контекста (кроме случаев, когда такое число превышает 100% от возможного значения). Альтернативно, этот термин, если он

относится к биологическим системам или процессам, может означать число в пределах порядка величины, предпочтительно в пределах 5-кратного, а более предпочтительно в пределах 2-кратного значения.

[00035] Используемые здесь термины «аденоассоциированный вирус» или «AAV» являются синонимами и означают небольшой вирус, принадлежащий к роду *Dependovirus* семейства *Parvoviridae*, который инфицирует человека и приматов некоторых других видов. В настоящее время не известно, вызывает ли AAV какое-либо заболевание, и, следовательно, этот вирус вызывает очень слабый иммунный ответ.

[00036] Используемый здесь термин «связывающая область» относится к области, находящейся внутри области, которая является мишенью для нуклеазы, и которая распознается нуклеазой и связывается с ней.

[00037] Используемые здесь термины «сердечная мышца» или «мышца сердца» являются синонимами и означают тип непроизвольно сокращающейся поперечно-полосатой мышцы, присутствующей в стенках миокарда в соответствии с гистологией сердца. Сердечная мышца состоит из кардиомиоцитов или миокардиоцитов. Миокардиоциты имеют бороздки, похожие на бороздки на клетках скелетных мышц, но содержат только одно уникальное ядро, в отличие от многоядерных скелетных клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения, «состояние сердечной мышцы» относится к патологическому состоянию сердечной мышцы, такому как кардиомиопатия, сердечная недостаточность, аритмия и воспалительное заболевание сердца.

[00038] Используемый здесь термин «кодирующая последовательность» или «кодирующая нуклеиновая кислота» означает нуклеиновые кислоты (молекулу РНК или ДНК), которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую белок. Кодированная последовательность может дополнительно включать сигналы инициации и терминирования, функционально связанные с регуляторными элементами, включая промотор и сигнал полиаденилирования, способные регулировать экспрессию в клетках индивидуума или млекопитающего, которым вводят эту нуклеиновую кислоту. Кодированная последовательность может быть оптимизирована по кодонам.

[00039] Используемый здесь термин «комплемент» или «комплементарный» относится к нуклеиновой кислоте и может означать пары оснований Уотсона-Крика (например, А-Т/У и С-Г) или Хугстена между нуклеотидами или нуклеотидными аналогами молекул нуклеиновой кислоты. «Комплементарность» относится к свойству, общему для двух последовательностей нуклеиновых кислот, то есть, при их антипараллельном выравнивании друг с другом, нуклеотидные основания будут комплементарными в каждом положении.

[00040] Используемые здесь термины «коррекция», «редактирование генома» и «восстановление» относятся к изменению мутантного гена, который кодирует усеченный белок или вообще не кодирует белок, так, что в результате этого наблюдается экспрессия полноразмерного функционального или полноразмерного частично функционального белка. Коррекция или восстановление мутантного гена может включать замену области

гена, в которой имеется мутация, или замену всего мутантного гена копией гена, не имеющего мутации, посредством механизма репарации, такого как гомологически направленная репарация (HDR). Коррекция или восстановление мутантного гена может также включать репарацию мутации сдвига рамки считывания, которая вызывает образование преждевременного стоп-кодона, аберрантного акцепторного сайта сплайсинга или аберрантного донорного сайта сплайсинга, посредством создания двухцепочечного разрыва в гене, который затем репарируется посредством негомологического соединения концов (NHEJ). NHEJ может добавлять или делетировать по меньшей мере одну пару оснований во время репарации, что может приводить к восстановлению правильной рамки считывания и к удалению преждевременного стоп-кодона. Коррекция или восстановление мутантного гена может также включать дизрупцию аберрантного акцепторного сайта сплайсинга или донорной последовательности сплайсинга. Коррекция или восстановление мутантного гена может также включать делецию незначительного сегмента гена за счет одновременного воздействия двух нуклеаз на одну и ту же цепь ДНК с восстановлением правильной рамки считывания посредством удаления ДНК между двумя сайтами-мишенями для нуклеаз и репарацией разрыва ДНК под действием NHEJ.

[00041] Термин «направленный промотор» относится к двум или более промоторам, которые способны регулировать транскрипцию двух отдельных последовательностей в обоих направлениях. В одном варианте осуществления изобретения, один промотор инициирует транскрипцию в направлении от 5' до 3', а другой промотор инициирует транскрипцию от 3' до 5'. В одном варианте осуществления изобретения, двунаправленные промоторы представляют собой двухцепочечные элементы регуляции транскрипции, которые могут инициировать экспрессию по меньшей мере двух отдельных последовательностей, например, кодирующих или не кодирующих последовательностей в противоположных направлениях. Такие промоторные последовательности могут состоять из двух отдельных промоторных последовательностей, действующих в противоположных направлениях, таких как одна нуклеотидная последовательность, связанная с другой (комплементарной) нуклеотидной последовательностью, включая упаковывающие конструкции, содержащие два промотора в противоположных направлениях, например, гибридные, химерные или слитые последовательности, содержащие две отдельные промоторные последовательности или по меньшей мере их коровые последовательности, или только одну последовательность регуляции транскрипции, которая может инициировать транскрипцию в обоих направлениях. В некоторых вариантах осуществления изобретения, две отдельные промоторные последовательности могут быть сопоставлены друг с другом, или между первой и второй последовательностями может располагаться линкерная последовательность. Последовательность промотора может быть обращена в другую ориентацию для объединения с другой последовательностью промотора в противоположной ориентации. Гены, расположенные по обе стороны от

двунаправленного промотора, могут быть функционально связаны с одной последовательностью или областью регуляции транскрипции, которая инициирует транскрипцию в обоих направлениях. В других вариантах осуществления изобретения, двунаправленные промоторы не находятся в юкта-положении. Так, например, один промотор может инициировать транскрипцию на 5'-конце нуклеотидного фрагмента, а другой промотор может инициировать транскрипцию с 3'-конца того же самого фрагмента. В другом варианте осуществления изобретения, первый ген может быть функционально связан с двунаправленным промотором с дополнительными регуляторными элементами или без них, такими как репортерные или терминаторные элементы, а второй ген может быть функционально связан с двунаправленным промотором в противоположном направлении посредством комплементарной промоторной последовательности, опять же с дополнительными регуляторными элементами или без них.

[00042] Используемые здесь термины «донорная ДНК», «донорная матрица» и «матрица для репарации» являются синонимами и означают фрагмент или молекулу двухцепочечной ДНК, которая включает по меньшей мере часть представляющего интерес гена. Донорная ДНК может кодировать полностью функциональный белок или частично функциональный белок.

[00043] Используемые здесь термины «мышечная дистрофия Дюшенна» или «МДД» являются синонимами и относятся к рецессивному, смертельному, X-сцепленному заболеванию, которое приводит к дегенерации мышц и, в конечном итоге, к летальному исходу. МДД является распространенным наследственным моногенным заболеванием и встречается у 1 из 3500 мужчин. МДД является результатом наследуемых или спонтанных мутаций, которые вызывают нонсенс-мутации или мутации со сдвигом рамки считывания в гене дистрофина. Большинство мутаций дистрофина, вызывающих МДД, представляют собой делеции экзонов, которые нарушают рамку считывания и вызывают преждевременное прекращение трансляции в гене дистрофина. Пациенты с МДД обычно теряют способность физически поддерживать себя в детстве, становятся все слабее в подростковом возрасте и умирают в возрасте двадцати лет.

[00044] Используемый здесь термин «дистрофин» означает палочковидный цитоплазматический белок, который является частью белкового комплекса, соединяющего цитоскелет мышечного волокна с окружающим внеклеточным матриксом посредством клеточной мембраны. Дистрофин обеспечивает структурную стабильность дистрогликановому комплексу клеточной мембраны, который ответственен за обеспечение целостности и функции мышечных клеток. Термины «ген дистрофина» или «ген DMD» используются здесь как синонимы, и составляют 2,2 мегаоснований в локусе Хр21. Первичная транскрипция составляет приблизительно 2400 т.п.о., при этом, размер зрелой мРНК составляет приблизительно 14 т.п.о. 79 экзонов кодируют белок, состоящий из более, чем 3500 аминокислот.

[00045] Используемый здесь термин «экзоны 45-55» дистрофина относится к

области, где находится приблизительно 45% всех мутаций дистрофина. Делеции экзонов 45-55 ассоциируются с очень легкими фенотипами Беккера и были обнаружены даже у индивидуумов без симптомов. Вырезание мультиэкзона 45-55 может быть полезным приблизительно для 50% всех пациентов с МДД.

[00046] Используемые здесь термины «сдвиг рамки считывания» или «мутация со сдвигом рамки считывания» являются синонимами и относятся к типу генных мутаций, при которых добавление или удаление одного или нескольких нуклеотидов вызывает сдвиг рамки считывания кодонов в мРНК. Сдвиг рамки считывания может приводить к изменению аминокислотной последовательности при трансляции белка, например, к миссенс-мутации или к образованию преждевременного стоп-кодона.

[00047] Используемые здесь термины «функциональный» и «полностью функциональный» относятся к белку, который обладает биологической активностью. «Функциональный ген» означает ген, транскрибируемый в мРНК, которая транслируется в функциональный белок.

[00048] Используемый здесь термин «слитый белок» означает химерный белок, созданный посредством соединения двух или более генов, которые изначально кодируют отдельные белки. Трансляция слитого гена приводит к образованию одного полипептида с функциональными свойствами, происходящего от каждого из исходных белков.

[00049] Используемый здесь термин «генетическая конструкция» относится к молекулам ДНК или РНК, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую белок. Кодированная последовательность включает сигналы инициации и терминирования, функционально связанные с регуляторными элементами, включая промотор и сигнал полиаденилирования, способные регулировать экспрессию в клетках индивидуума, которому вводят молекулу нуклеиновой кислоты. Используемый здесь термин «экспрессируемая форма» относится к генным конструкциям, которые содержат необходимые регуляторные элементы, функционально связанные с кодирующей последовательностью, кодирующей белок, так, чтобы при их присутствии в клетке индивидуума, кодирующая последовательность могла экспрессироваться.

[00050] Используемый здесь термин «генетическое заболевание» означает заболевание, которое частично или полностью, прямо или опосредованно, вызывается одной или несколькими аномалиями в геноме, а в частности, состояние, которое имеется уже при рождении. Аномалией может быть мутация, инсерция или делеция. Аномалия может влиять на кодирующую последовательность гена или его регуляторную последовательность. Генетическое заболевание может включать, но не ограничивается ими, МДД, мышечную дистрофию Беккера (МДБ), гемофилию, кистозный фиброз, хорею Гентингтона, семейную гиперхолестеринемию (дефект рецептора ЛПНП), гепатобластому, болезнь Вильсона, врожденную порфирию печени, наследственные нарушения метаболизма печени, синдром Леша-Нихана, серповидноклеточную анемию, талассемию, пигментную ксеродермию, анемию Фанкони, пигментный ретинит, атаксию-телангиэктазию, синдром Блума, ретинобластому и болезнь Тея-Сакса.

[00051] Используемые здесь термины «гомологически направленная репарация» или «HDR» являются синонимами и относятся к механизму репарации повреждений двухцепочечной ДНК в клетках, если гомологичный фрагмент ДНК присутствует в ядре, в основном в G2- и S-фазах клеточного цикла. При HDR используется матрица донорной ДНК для регуляции репарации, и HDR может быть использована для создания специфических модификаций последовательности в геноме, включая целевое добавление целых генов. Если вместе с системой редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 используется донорная матрица, то клеточный аппарат будет восстанавливать разрыв посредством гомологичной рекомбинации, которая усиливается на несколько порядков при расщеплении ДНК. Если гомологичный фрагмент ДНК отсутствует, то вместо этого может наблюдаться негомологичное соединение концов.

[00052] Используемый здесь термин «редактирование генома» означает модификацию гена. Редактирование генома может включать коррекцию или восстановление мутантного гена. Редактирование генома может включать нокаут гена, такого как мутантный ген или нормальный ген. Редактирование генома может быть проведено для лечения заболевания или ускорения восстановления мышц посредством модификации представляющего интерес гена.

[00053] Используемые здесь термины «идентичный» или «идентичность», если они относятся к двум или более нуклеиновым кислотам или к полипептидным последовательностям, означают, что эти последовательности имеют определенный процент остатков, которые являются одинаковыми в определенной области. Такой процент может быть вычислен путем оптимального выравнивания двух последовательностей, сравнения двух последовательностей в указанной области, определения числа положений, в которых идентичный остаток встречается в обеих последовательностях, и получения числа совпадающих положений, деления числа совпадающих положений на общее количество положений в указанной области и умножения результата на 100 с получением процента идентичности последовательностей. В тех случаях, когда две последовательности имеют различные длины, или когда выравнивание дает один или более смещенных концов, и указанная область сравнения включает только одну последовательность, то при вычислении, остатки одной последовательности включают в знаменатель, но не в числитель. При сравнении ДНК и РНК, тимин (T) и урацил (U) можно считать эквивалентными. Идентификация может быть осуществлена вручную или с использованием компьютерного алгоритма для сравнения последовательностей, такого как BLAST или BLAST 2.0.

[00054] Используемые здесь термины «мутантный ген» или «мутированный ген» являются синонимами и означают ген, который претерпел детектируемую мутацию. Мутантный ген имеет модификацию, такую как потеря, приобретение или обмен генетического материала, которые влияют на нормальную передачу и экспрессию гена. Используемый здесь термин «разрушенный ген» означает мутантный ген, который имеет мутацию, вызывающую образование преждевременного стоп-кодона. Разрушенный

генный продукт является усеченным по сравнению с полноразмерным неповрежденным генным продуктом.

[00055] Используемый здесь термин «путь негомологичного соединения концов (NHEJ)» означает путь, который восстанавливает двухцепочечные разрывы в ДНК посредством прямого лигирования разорванных концов, и при этом, не требуется присутствия гомологичной матрицы. Независимое от матрицы повторное лигирование концов ДНК посредством NHEJ представляет собой стохастический процесс репарации с вероятностью ошибки, который вводит случайные микро-инсерции и микро-делеции (инсерции-делеции) в точке разрыва ДНК. Этот метод может быть применен для нацеленного разрушения, делеции или модификации рамки считывания последовательностей генов-мишеней. При NHEJ обычно используют короткие гомологичные последовательности ДНК, называемые микрогомологами, для регуляции репарации. Эти микрогомологи часто присутствуют в одноцепочечных выступающих концах на конце двухцепочечных разрывов. Если выступающие концы полностью совместимы, то NHEJ обычно точно репарируют разрыв, но при этом, может также происходить неточная репарация, приводящая к потере нуклеотидов, и гораздо чаще, когда выступающие концы являются несовместимыми.

[00056] Используемый здесь термин «нормальный ген» означает ген, который не подвергался модификации, такой как потеря, приобретение или обмен генетического материала. Нормальный ген подвергается нормальной передаче и экспрессии генов. Так, например, нормальный ген может представлять собой ген дикого типа.

[00057] Используемый здесь термин «опосредуемый нуклеазой NHEJ» означает NHEJ, который инициируется после того, как нуклеаза, такая как молекула Cas9, разрезает двухцепочечную ДНК.

[00058] Используемые здесь термины «нуклеиновая кислота», или «олигонуклеотид», или «полинуклеотид» означают по меньшей мере два нуклеотида, ковалентно связанных друг с другом. Изображение одной цепи также определяет последовательность комплементарной цепи. Таким образом, нуклеиновая кислота также включает комплементарную цепь одной указанной цепи. Многие варианты нуклеиновой кислоты могут быть использованы для той же цели, что и данная нуклеиновая кислота. Таким образом, термин «нуклеиновая кислота» также охватывает по существу идентичные нуклеиновые кислоты и их комплементы. Одна цепь обеспечивает зонд, который может гибридизоваться с последовательностью-мишенью в жестких условиях гибридизации. Таким образом, нуклеиновая кислота также включает зонд, который гибридизуется в жестких условиях гибридизации.

[00059] Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными или могут содержать части как двухцепочечной, так и одноцепочечной последовательности. Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК, как геномную, так и кДНК, РНК или гибрид, где нуклеиновая кислота может содержать комбинации дезоксирибо- и рибонуклеотидов и комбинации оснований, включая урацил, аденин,

тимин, цитозин, гуанин, инозин, ксантин, гипоксантин, изоцитозин и изогуанин. Нуклеиновые кислоты могут быть получены методами химического синтеза или рекомбинантными методами.

[00060] Используемый здесь термин «функционально связанный» означает, что экспрессия гена находится под контролем промотора, с которым он пространственно связан. Промотор может располагаться на 5'-конце (выше) или 3'-конце (ниже) гена, находящегося под его контролем. Расстояние между промотором и геном может быть приблизительно таким же, как расстояние между этим промотором и геном, контролируемым этим промотором, в гене, от которого происходит промотор. Как известно специалистам в данной области, изменение этого расстояния может быть осуществлено без потери функции промотора.

[00061] Используемый здесь термин «частично функциональный» относится к белку, который кодируется мутантным геном и имеет меньшую биологическую активность, чем функциональный белок, но большую активность, чем нефункциональный белок.

[00062] Используемые здесь термины «преждевременный стоп-кодон» или «стоп-кодон вне рамки считывания» являются синонимами и относятся к нонсенс-мутации в последовательности ДНК, которая приводит к образованию стоп-кодона на участке, который обычно не присутствует в гене дикого типа. Преждевременный стоп-кодон может приводить к усечению или укорочению белка по сравнению с полноразмерным вариантом белка.

[00063] Используемый здесь термин «промотор» означает синтетическую молекулу или молекулу природного происхождения, которая способна обеспечивать, активировать или усиливать экспрессию нуклеиновой кислоты в клетке. Промотор может содержать одну или более специфических последовательностей регуляции транскрипции для последующего повышения уровня экспрессии и/или для изменения пространственной экспрессии и/или временной экспрессии. Промотор может также содержать дистальные энхансеры или репрессорные элементы, которые могут располагаться на расстоянии до нескольких тысяч пар оснований от сайта инициации транскрипции. Промотор может быть получен из различных источников, включая вирусные, бактериальные, грибковые, растительные источники, а также насекомых и животных. Промотор может регулировать экспрессию компонента гена конститутивно (конститутивный промотор) или дифференцированно, то есть, только в клетках, тканях или органах, в которых происходит экспрессия, или, только на стадии развития, на которой происходит экспрессия, или в ответ на внешние раздражители, такие как физиологические стрессы, патогены, ионы металлов или возбудители. Типичные примеры промоторов включают промотор T7 бактериофага, промотор T3 бактериофага, промотор SP6, оператор-промотор lac, промотор tac, поздний промотор SV40, ранний промотор SV40, промотор RSV-LTR, промотор CMV IE, ранний промотор SV40 или поздний промотор SV40, промотор U6 (hU6) человека и промотор IE CMV. Примеры мышечеспецифических промоторов могут

включать промотор МНСК7, промотор СК8 и промотор Spc512.

[00064] Используемый здесь термин «скелетная мышца» относится к типу поперечно-полосатой мышцы, которая находится под контролем соматической нервной системы и прикреплена к костям пучками коллагеновых волокон, известных как сухожилия. Скелетная мышца состоит из отдельных компонентов, известных как миоциты или «мышечные клетки», и иногда просто называемых «мышечными волокнами». Миоциты образуются в результате слияния миобластов на стадии развития (типа эмбриональных клеток-предшественников, которые дают начало мышечной клетке) в процессе, известном как миогенез. Эти длинные цилиндрические многоядерные клетки также называются миоволокнами.

[00065] Используемый здесь термин «заболевание скелетных мышц» относится к патологии скелетных мышц, такой как мышечные дистрофии, старение, дегенерация мышц, заживление ран и мышечная слабость или атрофия.

[00066] Используемые здесь термины «индивидуум» и «пациент» являются синонимами и относятся к любому позвоночному, включая, но не ограничиваясь ими, млекопитающих (например, коров, свиней, верблюдов, лам, лошадей, коз, кроликов, овец, хомяков, морских свинок, кошек, собак, крыс и мышей, а также приматов, не являющихся человеком (например, обезьян, таких как собакоподобные обезьяны или макак-резусы, шимпанзе и т.п.), и человека). В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом может быть человек или животное, не являющееся человеком. Индивидуум или пациент могут проходить лечение других типов.

[00067] Используемый здесь термин «ген-мишень» означает любую нуклеотидную последовательность, кодирующую известный или предполагаемый генный продукт. Ген-мишень может представлять собой мутированный ген, участвующий в развитии генетического заболевания. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ген-мишень представляет собой ген дистрофина человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ген-мишень представляет собой мутантный ген дистрофина человека.

[00068] Используемый здесь термин «область-мишень» означает область гена-мишени, для которой была сконструирована система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, предназначенная для связывания и расщепления.

[00069] Используемый здесь термин «трансген» означает ген или генетический материал, содержащий последовательность гена, которая была выделена из одного организма и введена в другой организм. Этот ненативный сегмент ДНК может сохранять способность продуцировать РНК или белок в трансгенном организме или может изменять нормальную функцию генетического кода трансгенного организма. Введение трансгена может изменять фенотип организма.

[00070] Термин «вариант», используемый здесь по отношению нуклеиновой кислоты, означает: (i) часть или фрагмент эталонной нуклеотидной последовательности; (ii) комплемент эталонной нуклеотидной последовательности или ее части; (iii)

нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична указанной эталонной нуклеиновой кислоте или ее комплементу; или (iv) нуклеиновую кислоту, которая гибридизуется в жестких условиях с эталонной нуклеиновой кислотой, ее комплементом или с последовательностями, по существу идентичными этой последовательности.

[00071] Термин «вариант», используемый здесь по отношению к пептиду или полипептиду, означает вариант, который, по своей аминокислотной последовательности, отличается наличием инсерции, делеции или консервативной аминокислотной замены, но сохраняет по меньшей мере одну биологическую активность. Вариант также может означать белок с аминокислотной последовательностью, которая по существу идентична аминокислотной последовательности эталонного белка, и которая сохраняет по меньшей мере одну биологическую активность. Консервативная замена аминокислоты, то есть, замена одной аминокислоты другой аминокислотой со сходными свойствами (например, гидрофильностью, степенью и распределением заряженных областей) известна специалистам в данной области как замена, обычно включающая незначительные изменения. Эти незначительные изменения можно частично идентифицировать по гидропатическому индексу аминокислот, как известно специалистам в данной области. Kyte et al., *J. Mol. Biol.* 157: 105-132 (1982). Гидропатический индекс аминокислот определяют исходя из их гидрофобности и заряда. Специалистам в данной области известно, что аминокислоты с аналогичными гидропатическими индексами могут быть заменены, но все еще сохраняют функцию белка. В одном аспекте изобретения, заменяемыми аминокислотами являются аминокислоты, имеющие гидропатический индекс ± 2 . Гидрофильность аминокислот может быть также использована для выявления замен, которые могут приводить к сохранению биологической функции белков. Учет гидрофильности аминокислот в пептиде позволяет рассчитать максимальную локальную среднюю гидрофильность этого пептида. При этом, могут быть осуществлены замены на аминокислоты, имеющие значения гидрофильности в пределах ± 2 . На индекс гидрофобности и на индекс гидрофильности аминокислот также влияет конкретная боковая цепь этой аминокислоты. В соответствии с этим наблюдением, можно сказать, что аминокислотные замены, совместимые с биологической функцией, зависят от относительного сходства аминокислот а, в частности, боковых цепей этих аминокислот, что определяется гидрофобностью, гидрофильностью, зарядом, размером и другими свойствами.

[00072] Используемый здесь термин «вектор» означает последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую ориджин репликации. Вектор может представлять собой вирусный вектор, бактериофаг, бактериальную искусственную хромосому или дрожжевую искусственную хромосому. Вектор может представлять собой ДНК- или РНК-вектор. Вектор может представлять собой самореплицирующийся внехромосомный вектор и предпочтительно представляет собой плазмидную ДНК.

[00073] Если это не оговорено особо, то научные и технические термины, используемые в описании настоящего изобретения, имеют свои общепринятые значения,

обычно понятные специалистами в данной области. Так, например, любые описанные здесь номенклатуры и методы, используемые в отношении культивирования клеток и тканей, в молекулярной биологии, в иммунологии, в микробиологии, в генетике, в химии белков и нуклеиновых кислот и в гибридизации, хорошо известны и широко используются в данной области. Значение и объем терминов должны быть понятными, однако, в случае любой скрытой двусмысленности определений, следует отдать предпочтение определениям, приведенным в настоящей заявке, а не в каких-либо словарях или других источниках. Кроме того, если это не оговорено особо и если это не следует из контекста, то термины, употребляемые в единственном числе, должны включать термины, употребляемые во множественном числе и наоборот.

2. Генетические конструкции для редактирования гена дистрофина в геноме

[00074] В настоящей заявке описаны генетические конструкции для редактирования генома, модификации генома и/или изменения экспрессии гена дистрофина. Ген дистрофина может представлять собой ген дистрофина человека. Генетические конструкции включают по меньшей мере одну рРНК, которая нацелена на последовательность(и) гена дистрофина. По меньшей мере одна рРНК может быть нацелена на последовательности гена дистрофина человека и/или макака-резуса и может представлять собой SaCas9-совместимые мишени. Раскрытые здесь рРНК могут быть включены в систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, включая системы, в которых используется SaCas9 для нацеливания на экзоны 45-55 гена дистрофина человека. Раскрытые здесь рРНК, которые могут быть включены в систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, могут вызывать геномные делеции в области экзонов 45-55 гена дистрофина человека с последующим восстановлением экспрессии функционального дистрофина в клетках пациентов с МДД.

а. Ген дистрофина

[00075] Дистрофин представляет собой палочковидный цитоплазматический белок, который является частью белкового комплекса, соединяющего цитоскелет мышечного волокна с окружающим внеклеточным матриксом посредством клеточной мембраны. Дистрофин обеспечивает структурную стабильность дистрогликановому комплексу клеточной мембраны. Ген дистрофина составляет 2,2 мегаоснований в локусе Xp21. Первичная транскрипция составляет приблизительно 2400 т.п.о., при этом, размер зрелой мРНК составляет приблизительно 14 т.п.о. 79 экзонов кодируют белок, состоящий из более, чем 3500 аминокислот. Нормальная мышечная ткань скелета содержит лишь небольшое количество дистрофина, но его отсутствие или аномальная экспрессия приводят к развитию тяжелых и неизлечимых симптомов. Некоторые мутации в гене дистрофина приводят к продуцированию дефектного дистрофина и к развитию тяжелого дистрофического фенотипа у пациентов. Некоторые мутации в гене дистрофина приводят к продуцированию частично функционального белка дистрофина и к гораздо более мягкому фенотипу дистрофии у пациентов с такой дистрофией.

[00076] МДД является результатом наследуемых или спонтанных мутаций,

которые вызывают нонсенс-мутации или мутации со сдвигом рамки считывания в гене дистрофина. Природные мутации и их последствия при МДД относительно хорошо изучены. Делеции в рамке считывания, которые возникают в областях экзона 45-55 (фиг.1, фиг.2), содержащихся в палочкообразном домене, могут продуцировать высокофункциональные белки-дистрофины, и у многих носителей этих белков симптомы либо отсутствуют, либо проявляются в легкой форме. Кроме того, теоретически, более 60% пациентов можно лечить путем воздействия на эту область в целом (экзоны 45-55) или на конкретные экзоны в этой области гена дистрофина (например, путем воздействия только на экзон 51). Были предприняты попытки восстановить разрушенную рамку считывания дистрофина у пациентов с МДД путем вырезания несущественного(ых) экзона(ов) (например, вырезания экзона 51) во время сплайсинга мРНК для получения внутренне делетированных, но функциональных белков дистрофина. Удаление внутреннего(их) экзона(ов) дистрофина (например, экзона 51) сохраняет правильную рамку считывания и вызывает менее тяжелую мышечную дистрофию Беккера (МДБ). Генотип МДБ похож на МДД в том, что в гене дистрофина присутствуют делеции. Однако, делеции при МДБ оставляют рамку считывания нетронутой. Таким образом, создается усеченный изнутри, но частично функциональный белок дистрофин. МДБ имеет широкий спектр фенотипов, но в большинстве случаев, если делеции находятся между экзонами 45-55 дистрофина, то фенотип проявляется намного мягче по сравнению с МДД. Таким образом, изменение генотипа МДД на генотип МДБ является распространенной стратегией коррекции дистрофина. Существует множество стратегий коррекции дистрофина, многие из которых основаны на восстановлении рамки считывания эндогенного дистрофина. Это смещает генотип заболевания с МДД в сторону мышечной дистрофии Беккера. Многие пациенты с МДБ имеют внутригенные делеции, которые поддерживают трансляционную рамку считывания, что приводит к образованию более короткого, но, в основном, функционального белка дистрофина.

[00077] В некоторых вариантах осуществления изобретения, модификация экзонов 45-55 (такая как делеция или вырезание экзонов 45-55, например, посредством NHEJ) для восстановления рамки считывания ослабляет фенотип МДД у индивидуумов, включая индивидуумов с МДД с делеционными мутациями. Экзоны 45-55 гена дистрофина включают 45-й экзон, 46-й экзон, 47-й экзон, 48-й экзон, 49-й экзон, 50-й экзон, 51-й экзон, 52-й экзон, 53-й экзон, 54-й экзон и 55-й экзон гена дистрофина. Мутации в области экзона 45-55 идеально подходят для постоянной коррекции посредством редактирования генома на основе NHEJ.

[00078] Раскрытые здесь генетические конструкции могут генерировать делеции в гене дистрофина. Ген дистрофина может представлять собой ген дистрофина человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор сконструирован так, чтобы он образовывал два двухцепочечных разрыва (первый двухцепочечный разрыв и второй двухцепочечный разрыв) в двух интронах (в первом интроне и во втором интроне), фланкирующих нужное положение гена дистрофина, и тем самым удалял сегмент гена

дистрофина, содержащий нужное положение дистрофина. «Нужное положение дистрофина» может представлять собой положение-мишень экзонов дистрофина или положение-мишень внутри экзонов дистрофина, как описано в настоящей заявке. Удаление положений-мишеней экзонов дистрофина может оптимизировать последовательность дистрофина у индивидуума, страдающего мышечной дистрофией Дюшенна. Так, например, такая делеция может улучшить функцию или активность кодируемого белка дистрофина и/или приводить к ослаблению симптомов патологического состояния индивидуума. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вырезание экзонов в положении-мишени дистрофина будет восстанавливать рамку считывания. Положение-мишень экзона дистрофина может включать один или более экзонов гена дистрофина. В некоторых вариантах осуществления изобретения, положение-мишень дистрофина включает экзон 51 гена дистрофина (например, гена дистрофина человека).

[00079] Раскрытая здесь генетическая конструкция может опосредовать высокоэффективное редактирование гена в области экзонов 45-55 гена дистрофина. Раскрытая здесь генетическая конструкция может восстанавливать экспрессию белка дистрофина в клетках пациентов с МДД.

[00080] Удаление экзонов 45-55 из транскрипта дистрофина путем вырезания экзонов может быть использовано для лечения приблизительно 50% всех пациентов с МДД. Этот класс мутаций дистрофина подходит для постоянной коррекции путем редактирования генома на основе NHEJ и HDR. Описанные здесь генетические конструкции были разработаны для направленной модификации экзонов 45-55 в гене дистрофина человека. Раскрытая здесь генетическая конструкция может быть перенесена в клетки человека с МДД и может опосредовать эффективную модификацию гена и конверсию в правильную рамку считывания. Восстановление белка может сопровождаться восстановлением рамки считывания и обнаруживаться в основной популяции клеток, обработанных системой редактирования генов на основе CRISPR/Cas9.

в. Система CRISPR

[00081] Раскрытая здесь генетическая конструкция может кодировать систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, специфичную для гена дистрофина. Используемые здесь термины «кластеризованные регулярно перемежающиеся короткие палиндромные повторы» и «CRISPR» являются синонимами и относятся к локусам, содержащим множество коротких прямых повторов, которые обнаруживаются в геномах приблизительно у 40% секвенированных бактерий и 90% секвенированных архебактерий. Система CRISPR представляет собой систему микробных нуклеаз, участвующую в защите от фагов и плазмид и обеспечивающую форму приобретенного иммунитета. Локусы CRISPR в микробах-хозяевах содержат комбинацию CRISPR-ассоциированных (Cas) генов, а также некодирующих элементов РНК, способных программировать специфичность CRISPR-опосредованного расщепления нуклеиновой кислоты. Короткие сегменты чужеродной ДНК, называемые спейсерами, включаются в геном между

повторами CRISPR и служат «памятью» о прошлых воздействиях. Cas9 образует комплекс с 3'-концом оцрРНК (также называемой здесь «рРНК»), и пара белок-РНК распознает свою геномную мишень посредством комплементарного спаривания оснований между 5'-концом последовательности оцрРНК и предварительно определенной 20 п.о.-последовательностью ДНК, известной как протоспейсер. Этот комплекс направлен на гомологичные локусы патогенной ДНК посредством областей, кодируемых внутри cr-РНК, то есть, посредством протоспейсеров и мотивов, смежных с протоспейсерами (PAM) в геноме патогена. Некодирующий массив CRISPR транскрибируется и расщепляется внутри прямых повторов на короткие cr-РНК, содержащие отдельные спейсерные последовательности, которые направляют нуклеазы Cas к сайту-мишени (протоспейсеру). Благодаря простой замене 20 п.о.-последовательности распознавания экспрессируемой оцрРНК, нуклеаза Cas9 может быть направлена на новые геномные мишени. Спейсеры CRISPR используют для распознавания и сайленсинга экзогенных генетических элементов по механизму, аналогичному РНКи в эукариотических организмах.

[00082] Известны три класса систем CRISPR (эффекторные системы типов I, II и III). Эффекторная система типа II осуществляет целевой двухцепочечный разрыв ДНК в четыре последовательных стадии посредством одного эффекторного фермента Cas9 для расщепления дцДНК. По сравнению с эффекторными системами типа I и типа III, которые требуют нескольких отдельных эффекторов, действующих как комплекс, эффекторная система типа II может функционировать в альтернативных организмах, таких как эукариотические клетки. Эффекторная система типа II состоит из длинной пре-cr-РНК, которая транскрибируется из спейсер-содержащего локуса CRISPR, белка cas9 и tracr-РНК, которые участвуют в процессировании пре-cr-РНК. tracr-РНК гибридизуются с повторяющимися областями, разделяющими спейсеры пре-cr-РНК, что таким образом, приводит к расщеплению дцРНК эндогенной РНКазой III. За этим расщеплением следует второе событие расщепления внутри каждого спейсера под действием Cas9 с образованием зрелых cr-РНК, которые остаются связанными с tracr-РНК и Cas9 и образуют комплекс Cas9:cr-РНК-tracr-РНК.

[00083] Комплекс Cas9:cr-РНК-tracr-РНК расплетает дуплекс ДНК и осуществляет поиск последовательностей, соответствующих cr-РНК для расщепления. Распознавание мишени происходит при обнаружении комплементарности между последовательностью «протоспейсера» в ДНК-мишени и оставшейся последовательностью спейсера в cr-РНК. Cas9 опосредует расщепление ДНК-мишени, если правильный мотив, смежный с протоспейсером (PAM), также присутствует на 3'-конце протоспейсера. Для нацеливания на протоспейсер, последовательность должна непосредственно сопровождаться мотивом, смежным с протоспейсером (PAM), то есть, короткой последовательностью, распознаваемой нуклеазой Cas9, которая необходима для расщепления ДНК. Различные системы типа II имеют различные PAM. Система CRISPR *S. pyogenes* может иметь последовательность PAM для этой Cas9 (SpCas9), такую как 5'-NRG-3', где R представляет собой либо A, либо G, и характеризуется тем, что является специфичной в клетках

человека. Уникальной способностью системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 является прямая способность одновременно нацеливаться на несколько различных геномных локусов посредством совместной экспрессии одного белка Cas9 с двумя или более оцрПНК. Так, например, система *Streptococcus pyogenes* типа II, по своей природе, предпочтительно использует последовательность «NGG», где «N» может быть любым нуклеотидом, но также может использовать и другие последовательности PAM, такие как «NAG» в сконструированных системах (Hsu et al., Nature Biotechnology (2013) doi:10.1038/nbt.2647). Аналогичным образом, Cas9, происходящий от *Neisseria meningitidis* (NmCas9), обычно имеет нативный PAM NNNNGATT, но обладает активностью в различных PAM, включая сильно вырожденный PAM NNNNGNNN (Esvelt et al. Nature Methods (2013) doi:10.1038/nmeth. 2681).

[00084] Молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRR (R=A или G) (SEQ ID NO: 25) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRRN (R=A или G) (SEQ ID NO: 26) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRRT (R=A или G) (SEQ ID NO: 27) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRRV (R=A или G) (SEQ ID NO: 28) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В вышеупомянутых вариантах осуществления изобретения, N может представлять собой любой нуклеотидный остаток, например, любой из A, G, C или T. Молекулы Cas9 могут быть сконструированы для изменения специфичности молекулы Cas9 к PAM.

i) Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9

[00085] Было показано, что сконструированная форма эффекторной системы типа II *Streptococcus pyogenes* функционирует в человеческих клетках с образованием геномной последовательности. В этой системе, белок Cas9 был направлен к сайтам-мишеням генома с помощью синтетически восстановленной «руководящей РНК» («рРНК», которая также называется здесь химерной одноцепочечной руководящей РНК («оцрРНК»)), которая представляет собой гибрид cr-РНК и tracr-РНК, что устраняет необходимость в процессинге РНКазы III и cr-РНК в целом. В настоящей заявке описаны сконструированные системы на основе CRISPR/Cas9 для их использования в целях редактирования генома и лечения генетических заболеваний. Сконструированные

системы на основе CRISPR/Cas9 могут быть разработаны для нацеливания на любой ген, включая гены, участвующие в развитии генетического заболевания, в старении, в регенерации тканей или в заживлении ран. Системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 могут включать белок Cas9 или слитый белок Cas9 и по меньшей мере одну рРНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, система включает две молекулы рРНК. Слитый белок Cas9 может, например, включать домен, который имеет другую активность, то есть, он является эндогенным по отношению к Cas9, например, домен трансактивации.

[00086] Ген-мишень (например, ген дистрофина, например, ген дистрофина человека) может участвовать в дифференцировке клетки или в любом другом процессе, в котором может оказаться желательной активация гена, или может иметь мутацию, такую как мутация со сдвигом рамки считывания или нонсенс-мутация. Если ген-мишень имеет мутацию, которая вызывает образование преждевременного стоп-кодона, абберрантного акцепторного сайта сплайсинга или абберрантного донорного сайта сплайсинга, то система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может быть разработана для распознавания и связывания нуклеотидной последовательности, расположенной выше или ниже от преждевременного стоп-кодона, абберрантного акцепторного сайта сплайсинга или абберрантного донорного сайта сплайсинга. Система на основе CRISPR-Cas9 также может быть использована для дизрупции нормального сплайсинга генов посредством нацеливания на акцепторы и доноры сплайсинга, так, чтобы индуцировать вырезание преждевременных стоп-кодонов или восстановление нарушенной рамки считывания. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может опосредовать, а может и не опосредовать, нежелательные изменения в белок-кодирующих областях генома.

(1) Молекулы Cas9 и слитые белки Cas9

[00087] Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может включать белок Cas9 или слитый белок Cas9. Белок Cas9 представляет собой эндонуклеазу, которая расщепляет нуклеиновую кислоту, кодируется локусами CRISPR и участвует в системе CRISPR типа II. Белок Cas9 может происходить от бактерий любого вида или археобактерий, включая, но не ограничиваясь ими, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Acidovorax avenae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus succinogenes*, *Actinobacillus suis*, *Actinomyces* sp., *Cyclophilus denitrificans*, *Aminomonas paucivorans*, *Bacillus cereus*, *Bacillus smithii*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacteroides* sp., *Blastopirellula marina*, *Bradyrhizobium* sp., *Brevibacillus laterosporus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, *Candidatus Puniceispirillum*, *Clostridium cellulolyticum*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium diphtheria*, *Corynebacterium matruchotii*, *Dinoroseobacter shibae*, *Eubacterium dolichum*, *gamma proteobacterium*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus sputorum*, *Helicobacter canadensis*, *Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter mustelae*, *Ilyobacter polytropus*, *Kingella kingae*, *Lactobacillus crispatus*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes*, *Listeriaceae bacterium*, *Methylocystis* sp., *Methylosinus trichosporium*,

Mobiluncus mulieris, *Neisseria bacilliformis*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria* sp., *Neisseria wadsworthii*, *Nitrosomonas* sp., *Parvibaculum lavamentivorans*, *Pasteurella multocida*, *Phascolarctobacterium succinatutens*, *Ralstonia syzygii*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodovulum* sp., *Simonsiella muelleri*, *Sphingomonas* sp., *Sporolactobacillus vineae*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Streptococcus* sp., *Subdoligranulum* sp., *Tistrella mobilis*, *Treponema* sp., или *Verminephrobacter eiseniae*. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 представляет собой молекулу Cas9 *Streptococcus pyogenes* (также называемую здесь «SpCas9»). В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 представляет собой молекулу Cas9 *Staphylococcus aureus* (также называемую здесь «SaCas9»).

[00088] Молекула Cas9 или слитый белок Cas9 может взаимодействовать с одной или с несколькими молекулами рРНК и, вместе с молекулой (молекулами) рРНК, локализуется в сайте, который содержит домен-мишень, а в некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность РАМ. Способность молекулы Cas9 или слитого белка Cas9 распознавать последовательность РАМ может быть определена, например, с помощью анализа на трансформацию, известного специалистам в данной области.

[00089] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способность молекулы Cas9 или слитого белка Cas9 взаимодействовать с нуклеиновой кислотой-мишенью и расщеплять нуклеиновую кислоту-мишень, зависит от последовательности РАМ. Последовательность РАМ представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах осуществления изобретения, расщепление нуклеиновой кислоты-мишени происходит выше последовательности РАМ. Молекулы Cas9 бактерий различных видов могут распознавать различные мотивы последовательностей (например, последовательности РАМ). В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRR (R=A или G) (SEQ ID NO: 25) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRRN (R=A или G) (SEQ ID NO: 26) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRRT (R=A или G) (SEQ ID NO: 27) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени, расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула Cas9 *S. aureus* распознает мотив последовательности NNGRRV (R=A или G; V=A или C или G) (SEQ ID NO: 28) и направляет расщепление последовательности нуклеиновой кислоты-мишени,

расположенной в пределах от 1 до 10, например, от 3 до 5 п.о. выше этой последовательности. В вышеупомянутых вариантах осуществления изобретения, N может представлять собой любой нуклеотидный остаток, например, любой из A, G, C или T. Молекулы Cas9 могут быть сконструированы для изменения специфичности молекулы Cas9 к PAM.

[00090] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор кодирует по меньшей мере одну молекулу Cas9, которая распознает мотив, смежный с протоспейсером (PAM), либо NNGRRT (SEQ ID NO: 27), либо NNGRRV (SEQ ID NO: 28). В некоторых вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере одна молекула Cas9 представляет собой молекулу Cas9 *S. aureus*. В некоторых вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере одна молекула Cas9 представляет собой мутантную молекулу Cas9 *S. aureus*.

[00091] Дополнительно или альтернативно, нуклеиновая кислота, кодирующая молекулу Cas9 или полипептид Cas9, может содержать последовательность ядерной локализации (NLS). Последовательности ядерной локализации известны специалистам в данной области.

[00092] Типичные оптимизированные по кодам последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие молекулу Cas9 *S. aureus* и необязательно содержащие последовательности ядерной локализации (NLS), представлены в SEQ ID NO: 31-37. Другой пример оптимизированной по кодам последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу Cas9 *S. aureus*, включает нуклеотиды 1293-4451 SEQ ID NO: 38.

[00093] В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеотидная последовательность, кодирующая молекулу Cas9 *S. aureus*, включает полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37. Аминокислотная последовательность молекулы Cas9 *S. aureus* представлена в SEQ ID NO: 39. Аминокислотная последовательность молекулы Cas9 *S. aureus* представлена в SEQ ID NO: 40.

[00094] Альтернативно или дополнительно, система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может включать слитый белок. Слитый белок может содержать два гетерологичных полипептидных домена, где первый полипептидный домен содержит белок Cas, а второй полипептидный домен обладает активностью, такой как активация транскрипции, репрессия транскрипции, активность фактора высвобождения транскрипции, активность модификации гистонов, нуклеазная активность, способность ассоциироваться с нуклеиновой кислотой, метилазная активность или деметилазная активность. Слитый белок может включать белок Cas9 или мутированный белок Cas9, связанный со вторым полипептидным доменом, который обладает такой активностью, как активация транскрипции, репрессия транскрипции, активность фактора высвобождения транскрипции, активность модификации гистонов, нуклеазная активность, способность ассоциироваться с нуклеиновой кислотой, метилазная активность или деметилазная активность.

(а) Способность к активации транскрипции

[00095] Второй полипептидный домен может обладать способностью к активации транскрипции, то есть, он может иметь домен трансактивации. Так, например, экспрессия эндогенных генов млекопитающих, таких как гены человека, может быть достигнута путем нацеливания слитого белка iCas9 и домена трансактивации на промоторы млекопитающих посредством комбинаций рРНК. Домен трансактивации может включать белок p300, белок VP16, множество белков VP16, таких как домен VP48 или домен VP64, или домен p65 фактора активации транскрипции каппа В NF. Так, например, слитый белок может представлять собой dCas9-VP64 или dCas9-p300.

(b) Способность к репрессии транскрипции

[00096] Второй полипептидный домен может обладать способностью к репрессии транскрипции. Второй полипептидный домен может обладать активностью ассоциации с боксом Круппеля, и таким доменом является домен KRAB; активностью домена-репрессора ERF; активностью домена-репрессора Mxi1; активностью домена-репрессора SID4X; активностью домена-репрессора Mad-SID; или активностью белка, связывающегося с ТАТА-боксом. Так, например, слитый белок может представлять собой dCas9-KRAB.

(c) Активность фактора высвобождения транскрипции

[00097] Второй полипептидный домен может обладать активностью фактора высвобождения транскрипции. Второй полипептидный домен может обладать активностью эукариотического фактора высвобождения 1 (ERF1) или активностью эукариотического фактора высвобождения 3 (ERF3).

(d) Активность модификации гистонов

[00098] Второй полипептидный домен может обладать активностью модификации гистонов. Второй полипептидный домен может обладать гистон-деацетилазной, гистон-ацетилтрансферазной, гистон-деметилазной или гистон-метилтрансферазной активностью. Гистон-ацетилтрансфераза может представлять собой белок p300 или CREB-связывающий белок (CBP) или их фрагменты. Так, например, слитый белок может представлять собой dCas9-p300.

(e) Нуклеазная активность

[00099] Второй полипептидный домен может обладать нуклеазной активностью, отличающейся от нуклеазной активности белка Cas9. Нуклеаза или белок, обладающий нуклеазной активностью, представляет собой фермент, способный расщеплять фосфодиэфирные связи между нуклеотидными субъединицами нуклеиновых кислот. Нуклеазы обычно подразделяются на эндонуклеазы и экзонуклеазы, хотя некоторые из этих ферментов могут относиться к обеим категориям. Хорошо известными нуклеазами являются дезоксирибонуклеаза и рибонуклеаза.

(e) Активность ассоциации нуклеиновых кислот

[000100] Второй полипептидный домен может обладать способностью ассоциироваться с нуклеиновыми кислотами, или иметь ДНК-связывающий домен белка, связывающегося с нуклеиновой кислотой (DBD), и этот домен независимо представляет

собой домен конформационного белка, который содержит по меньшей мере один мотив, распознающий двух- или одноцепочечную ДНК. DBD может распознавать специфическую последовательность ДНК (последовательность распознавания) или иметь общую аффинность по отношению к ДНК. Область ассоциации нуклеиновых кислот выбрана из группы, состоящей из области спирали-витка-спирали, области «лейциновой молнии», области крыловидной спирали, области крыловидной спирали-витка-спирали, области спирали-петли-спирали, иммуноглобулиновой складки, домена В3, «цинкового пальца», HMG-бокса, домена Wor3, и домена, связывающегося с ДНК эффектора TAL.

(g) Метилазная активность

[000101] Второй полипептидный домен может обладать метилазной активностью, которая обеспечивает перенос метильной группы на ДНК, РНК, белок, небольшую молекулу, цитозин или аденин. Второй полипептидный домен может включать ДНК-метилтрансферазу.

(h) Деметилазная активность

[000102] Второй полипептидный домен может обладать деметилазной активностью. Второй полипептидный домен может включать фермент, который удаляет метильные группы (CH₃-группы) из нуклеиновых кислот, белков (в частности, гистонов) и других молекул. Альтернативно, второй полипептид может скрывать метильную группу в гидроксиметилцитозине по механизму деметилирования ДНК. Второй полипептид может катализировать эту реакцию. Так, например, вторым полипептидом, который катализирует эту реакцию, может быть Tet1.

(2) рРНК, нацеленная на ген дистрофина

[000103] Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 включает по меньшей мере одну молекулу рРНК, например, две молекулы рРНК. рРНК обеспечивает нацеливание системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. рРНК представляет собой слитую молекулу из двух некодирующих РНК: cr-РНК и tracr-РНК. оcrРНК может нацеливаться на любую нужную последовательность ДНК посредством замены последовательности, кодирующей протоспейсер из 20 п.о., что будет сообщать специфичность к мишени посредством спаривания комплементарных оснований с нужной ДНК-мишенью. рРНК имитирует природный дуплекс cr-РНК:tracr-РНК, участвующий в функционировании эффекторной системы типа II. Этот дуплекс, который может включать, например, cr-РНК из 42 нуклеотидов и tracr-РНК из 75 нуклеотидов, действует как руководящая последовательность для Cas9 по расщеплению нуклеиновой кислоты-мишени. Используемые здесь термины «область-мишень», «последовательность-мишень» или «протоспейсер» могут употребляться как синонимы и относиться к области гена-мишени (например, гена дистрофина), на которую нацелена система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может включать по меньшей мере одну рРНК, где каждая рРНК нацелена на другую последовательность ДНК. Последовательности ДНК-мишени могут перекрываться. За последовательностью-мишенью или протоспейсером следует последовательность РАМ на

3'-конце протоспейсера. Различные системы типа II имеют различные PAM. Так, например, система *Streptococcus pyogenes* типа II использует последовательность «NGG», где «N» может быть любым нуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность PAM может представлять собой «NGG», где «N» может быть любым нуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность PAM может представлять собой NNGRRT (SEQ ID NO: 27) или NNGRRV (SEQ ID NO: 28).

[000104] Количество молекул рРНК, кодируемых раскрытой здесь генетической конструкцией (например, AAV-вектором), может составлять по меньшей мере 1 рРНК, по меньшей мере 2 различных рРНК, по меньшей мере 3 различных рРНК, по меньшей мере 4 различных рРНК, по меньшей мере 5 различных рРНК, по меньшей мере 6 различных рРНК, по меньшей мере 7 различных рРНК, по меньшей мере 8 различных рРНК, по меньшей мере 9 различных рРНК, по меньшей мере 10 различных рРНК, по меньшей мере 11 различных рРНК, по меньшей мере 12 различных рРНК, по меньшей мере 13 различных рРНК, по меньшей мере 14 различных рРНК, по меньшей мере 15 различных рРНК, по меньшей мере 16 различных рРНК, по меньшей мере 17 различных рРНК, по меньшей мере 18 различных рРНК, по меньшей мере 19 различных рРНК, по меньшей мере 20 различных рРНК, по меньшей мере 25 различных рРНК, по меньшей мере 30 различных рРНК, по меньшей мере 35 различных рРНК, по меньшей мере 40 различных рРНК, по меньшей мере 45 различных рРНК или по меньшей мере 50 различных рРНК. Количество молекул рРНК, кодируемых раскрытой здесь генетической конструкцией, может составлять менее, чем 50 рРНК, менее, чем 45 различных рРНК, менее, чем 40 различных рРНК, менее, чем 35 различных рРНК, менее, чем 30 различных рРНК, менее, чем 25 различных рРНК, менее, чем 20 различных рРНК, менее, чем 19 различных рРНК, менее, чем 18 различных рРНК, менее, чем 17 различных рРНК, менее, чем 16 различных рРНК, менее, чем 15 различных рРНК, менее, чем 14 различных рРНК, менее, чем 13 различных рРНК, менее, чем 12 различных рРНК, менее, чем 11 различных рРНК, менее, чем 10 различных рРНК, менее, чем 9 различных рРНК, менее, чем 8 различных рРНК, менее, чем 7 различных рРНК, менее, чем 6 различных рРНК, менее, чем 5 различных рРНК, менее, чем 4 различных рРНК, или менее, чем 3 различных рРНК. Количество рРНК, кодируемых раскрытой здесь генетической конструкцией, может составлять по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 50 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 45 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 40 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 35 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 30 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 25 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 20 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 16 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 12 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 8 различных рРНК, по меньшей мере от 1 рРНК до по меньшей мере 4 различных рРНК, по меньшей мере от 4

рРНК до по меньшей мере 50 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 45 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере для 40 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 35 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 30 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 25 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 20 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 16 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 12 различных рРНК, по меньшей мере от 4 различных рРНК до по меньшей мере 8 различных рРНК, по меньшей мере от 8 различных рРНК до по меньшей мере 50 различных рРНК, по меньшей мере от 8 различных рРНК до по меньшей мере 45 различных рРНК, по меньшей мере от 8 различных рРНК до по меньшей мере 40 различных рРНК, по меньшей мере от 8 различных рРНК до по меньшей мере 35 различных рРНК, от 8 различных рРНК до по меньшей мере 30 различных рРНК, по меньшей мере от 8 различных рРНК до по меньшей мере 25 различных рРНК, от 8 различных рРНК до по меньшей мере для 20 различных рРНК, по меньшей мере от 8 различных рРНК до по меньшей мере 16 различных рРНК или от 8 различных рРНК до по меньшей мере 12 различных рРНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, генетическая конструкция (например, AAV-вектор) кодирует одну молекулу рРНК, то есть, первую молекулу рРНК и, необязательно, молекулу Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, первая генетическая конструкция (например, первый AAV-вектор) кодирует одну молекулу рРНК, то есть, первую молекулу рРНК и, необязательно, молекулу Cas9, а вторая генетическая конструкция (например, второй AAV-вектор) кодирует одну молекулу рРНК, то есть, вторую молекулу рРНК и необязательно молекулу Cas9.

[000105] Молекула рРНК содержит нацеливающий домен (также называемый нацеливающей последовательностью), который представляет собой полинуклеотидную последовательность, комплементарную последовательности-мишени ДНК, за которой следует последовательность РАМ. рРНК может содержать «G» на 5'-конце нацеливающего домена или комплементарной полинуклеотидной последовательности. Нацеливающий домен молекулы рРНК может содержать по меньшей мере 10 пар оснований, по меньшей мере 11 пар оснований, по меньшей мере 12 пар оснований, по меньшей мере 13 пар оснований, по меньшей мере 14 пар оснований, по меньшей мере, 15 пар оснований, по меньшей мере 16 пар оснований, по меньшей мере 17 пар оснований, по меньшей мере 18 пар оснований, по меньшей мере 19 пар оснований, по меньшей мере 20 пар оснований, по меньшей мере 21 пар оснований, по меньшей мере 22 пары оснований, по меньшей мере 23 пары оснований, по меньшей мере 24 пары оснований, по меньшей мере 25 пар оснований, по меньшей мере 30 пар оснований или по меньшей мере 35 пар оснований полинуклеотидной последовательности, комплементарной последовательности ДНК-мишени, за которой следует последовательность РАМ. Нацеливающий домен

молекулы рРНК может содержать менее, чем 40 пар оснований, менее, чем 35 пар оснований, менее, чем 30 пар оснований, менее, чем 25 пар оснований, менее, чем 20 пар оснований, менее, чем 19 пар оснований, менее, чем 18 пар оснований, менее, чем 17 пар оснований, менее, чем 16 пар оснований, менее, чем 15 пар оснований, менее, чем 14 пар оснований, менее, чем 13 пар оснований, менее, чем 12 пар оснований, менее, чем 11 пар оснований или менее, чем 10 пар оснований полинуклеотидной последовательности, комплементарной последовательности ДНК-мишени, за которой следует последовательность РАМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающий домен молекулы рРНК имеет длину 19-25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающий домен молекулы рРНК имеет длину в 20 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающий домен молекулы рРНК имеет длину в 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающий домен молекулы рРНК имеет длину в 22 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающий домен молекулы рРНК имеет длину в 23 нуклеотида.

[000106] рРНК может быть нацелена на область гена дистрофина (DMD). В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК может нацеливаться по меньшей мере на один из экзонов, интронов, промоторной области, энхансерной области, транскрибируемой области гена дистрофина. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула рРНК нацелена на интрон 44 гена дистрофина человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула рРНК нацелена на интрон 55 гена дистрофина человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения, первая рРНК и вторая рРНК нацелены на интрон гена дистрофина человека, что приводит к делеции экзонов 45-55. рРНК может связываться с полинуклеотидной последовательностью, соответствующей SEQ ID NO: 2 или с ее фрагментом или комплементом, и нацеливаться на эту последовательность. рРНК может кодироваться полинуклеотидной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 2 или ее фрагмент или комплемент. Нацеливающая последовательность рРНК может содержать полинуклеотид SEQ ID NO: 2 или его фрагмент, такой как усеченный 5'-фрагмент или его комплемент. Усеченные последовательности могут быть, например, на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов короче, чем SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК может связываться с полинуклеотидом SEQ ID NO: 2 и нацеливаться на него. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК может связываться с 5'-усеченным полинуклеотидом SEQ ID NO: 2 и нацеливаться на него. рРНК может связываться с полинуклеотидной последовательностью, соответствующей SEQ ID NO: 3 или с ее фрагментом или комплементом и нацеливаться на них. рРНК может кодироваться полинуклеотидной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 3 или ее фрагмент или ее комплемент. Нацеливающая последовательность рРНК может содержать полинуклеотид SEQ ID NO: 3 или его фрагмент, такой как его усеченный 5'-фрагмент или его комплемент. Усеченные последовательности могут быть, например, на 1, 2, 3, 4, 5, 6,

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов короче, чем SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК может связываться с полинуклеотидом SEQ ID NO: 3 и нацеливаться на него. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК может связываться с 5'-усеченным полинуклеотидом SEQ ID NO: 3 и нацеливаться на него. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК, которая связывается с полинуклеотидной последовательностью, нацеливается на эту полинуклеотидную последовательность или кодируется этой полинуклеотидной последовательностью, содержащей или соответствующей SEQ ID NO: 2 или ее усеченный вариант, спаривается с рРНК, которая связывается с полинуклеотидной последовательностью, нацеливается на эту полинуклеотидную последовательность или кодируется этой полинуклеотидной последовательностью, содержащей или соответствующей SEQ ID NO: 3 или ее усеченный вариант.

[000107] Одиночные или мультиплексные рРНК могут быть сконструированы для восстановления рамки считывания дистрофина путем нацеливания на «горячую точку» мутации в экзонах 45-55 дистрофина. После обработки описанным здесь вектором, экспрессия дистрофина может быть восстановлена в мышечных клетках пациента с болезнью Дюшенна *in vitro*. Дистрофин человека был детектирован *in vivo* после трансплантации генетически скорректированных клеток пациента иммунодефицитным мышам. Примечательно то, что уникальные способности системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 редактировать мультиплексные гены позволяют эффективно генерировать крупные делеции этой области «горячей точки» мутации, которые могут корректировать до 62% мутаций у пациента посредством универсальных или специфичных для пациента подходов редактирования генов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК-кандидаты оценивают и выбирают исходя из нежелательной активности, целевой активности, оцениваемой специалистами, и расстояния от экзона.

(3) Остов рРНК

[000108] Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 включает по меньшей мере один остов рРНК. Остов рРНК способствует связыванию Cas9 с рРНК и усиливает эндонуклеазную активность. Остов рРНК представляет собой полинуклеотидную последовательность, которая следует за нацеливающей последовательностью рРНК. Нацеливающая последовательность рРНК вместе с остовом рРНК образуют один полинуклеотид. В некоторых вариантах осуществления изобретения, остов рРНК содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 4 или ее комплемент. В некоторых вариантах осуществления изобретения, остов рРНК кодируется полинуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 4 или ее комплементом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рРНК содержит полинуклеотид, который нацелен на последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3 или их усеченный вариант, и полинуклеотид, соответствующий остову рРНК SEQ ID NO: 4 или кодируемый остовом рРНК SEQ ID NO: 4.

3. Композиции для нацеливания на ДНК

[000109] Кроме того, в настоящей заявке описаны композиции для нацеливания на ДНК, которые содержат указанные генетические конструкции. Композиции для нацеливания на ДНК включают по меньшей мере одну молекулу рРНК (например, две молекулы рРНК), которая нацелена на ген дистрофина (например, ген дистрофина человека), как описано выше. По меньшей мере одна молекула рРНК может связываться с областью-мишенью и распознавать ее. Области-мишени могут быть выбраны из областей, расположенных непосредственно перед возможными стоп-кодонами вне рамки считывания, так, чтобы инсерции или делеции во время процесса репарации восстанавливали рамку считывания дистрофина посредством ее конверсии. Области-мишени могут также представлять собой акцепторные сайты сплайсинга или донорные сайты сплайсинга, где инсерции или делеции во время процесса репарации нарушают сплайсинг и восстанавливают рамку считывания дистрофина за счет разрушения сайта сплайсинга и исключения экзона. Области-мишени также могут представлять собой аберрантные стоп-кодона, где инсерции или делеции во время процесса репарации восстанавливают рамку считывания дистрофина посредством удаления или разрушения стоп-кодона.

[000110] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытая здесь композиция для нацеливания на ДНК включает первую рРНК и вторую рРНК. Первая молекула рРНК и вторая молекула рРНК могут связываться с полинуклеотидом SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3, соответственно, или с его усеченным вариантом или комплементом, или нацеливаться на них. Первая молекула рРНК и вторая молекула рРНК могут содержать полинуклеотид, соответствующий SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3, соответственно, или его усеченный вариант или комплемент.

[000111] Эффективность делеции раскрытых здесь векторов может быть связана с размером делеции, то есть, с размером сегмента, удаленного векторами. В некоторых вариантах осуществления изобретения, длина или размер специфических делеций определяется расстоянием между последовательностями РАМ в гене, являющемся мишенью (например, в гене дистрофина). В некоторых вариантах осуществления изобретения, специфическая делеция сегмента гена дистрофина, которая определяется с точки зрения его длины и последовательности, которую он включает (например, экзон 51), является результатом разрывов, сделанных рядом со специфическими последовательностями РАМ в гене-мишени. (например, в гене дистрофина).

[000112] В некоторых вариантах осуществления изобретения, размер делеции составляет приблизительно от 50 до приблизительно 2000 пар оснований (п.о.), например, приблизительно от 50 до приблизительно 1999 п.о., приблизительно от 50 до приблизительно 1900 п.о., приблизительно от 50 до приблизительно 1800 п.о., приблизительно от 50 до приблизительно 1700 п.о., приблизительно от 50 до приблизительно 1650 п.о., приблизительно от 50 до приблизительно 1600 п.о., приблизительно от 50 до приблизительно 1500 п.о., приблизительно от 50 до

[illegible]

приблизительно 850 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 800 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 750 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 700 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 600 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 2000 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 400 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 350 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 300 п.о., приблизительно от 200 до приблизительно 250 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1999 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1900 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1800 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1700 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1650 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1600 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1500 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1400 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1300 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1200 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1150 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1100 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 1000 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 900 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 850 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 800 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 750 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 700 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 600 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 3000 п.о., приблизительно от 300 до приблизительно 400 п.о., или приблизительно от 300 до приблизительно 350 п.о. В некоторых вариантах осуществления изобретения, размер делеции может составлять приблизительно 118 пар оснований, приблизительно 233 пары оснований, приблизительно 326 пар оснований, приблизительно 766 пар оснований, приблизительно 805 пар оснований или приблизительно 1611 пар оснований.

4. Композиции для редактирования генома в мышцах

[000113] В настоящей заявке раскрывается генетическая конструкция или ее композиция для редактирования гена-мишени в геноме индивидуума, такого как, например, ген-мишень в скелетной мышце и/или в сердечной мышце индивидуума. Генетическая конструкция может представлять собой вектор. Вектор может представлять собой модифицированный AAV-вектор. Композиция может включать полинуклеотидную последовательность, кодирующую систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Композиция может доставлять активные формы систем редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 в скелетные мышцы или сердечные мышцы. Раскрытые здесь генетические конструкции могут быть использованы для коррекции или снижения эффектов мутаций в гене дистрофина, участвующем в развитии генетических заболеваний и/или других состояний скелетных или сердечных мышц, таких как, например, МДД. Композиция может дополнительно включать донорную ДНК или трансген. Эти композиции могут быть использованы для редактирования генома, конструирования генома и коррекции или снижения эффектов мутаций в генах, участвующих в развитии генетических заболеваний

и/или других состояний скелетных и/или сердечных мышц.

а. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 для нацеливания на дистрофин

[000114] В настоящей заявке раскрывается система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, специфичная для гена дистрофина. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может включать Cas9 и по меньшей мере одну pPHK для нацеливания на ген дистрофина. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может связываться с областью-мишенью и распознавать эту область. Области-мишени могут быть выбраны из областей, расположенных непосредственно перед возможными стоп-кодонами вне рамки считывания, так, чтобы инсерции или делеции во время процесса репарации восстанавливали рамку считывания дистрофина посредством ее конверсии. Области-мишени могут также представлять собой акцепторные сайты сплайсинга или донорные сайты сплайсинга, где инсерции или делеции во время процесса репарации нарушают сплайсинг и восстанавливают рамку считывания дистрофина за счет разрушения сайта сплайсинга и исключения экзонов. Области-мишени также могут также представлять собой аберрантные стоп-кодоны, где инсерции или делеции во время процесса репарации восстанавливают рамку считывания дистрофина посредством удаления или разрушения стоп-кодона. Области-мишени могут включать интрон гена дистрофина. Области-мишени могут включать экзон гена дистрофина.

б. Аденоассоциированные вирусные векторы

[000115] Композиция также может включать вирусную систему доставки. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор представляет собой аденоассоциированный вирусный (AAV) вектор. AAV-вектор представляет собой небольшой вирус, принадлежащий к роду Dependovirus семейства Parvoviridae, который инфицирует человека и некоторые другие виды приматов. AAV-векторы могут быть использованы для доставки систем редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 с использованием конструкций различных конфигураций. Так, например, AAV-векторы могут доставлять экспрессионные кластеры Cas9 и pPHK в отдельные векторы или в один и тот же вектор. Альтернативно, если используются небольшие белки Cas9, происходящие от бактерий таких видов, как *Staphylococcus aureus* или *Neisseria meningitidis*, то кластеры, экспрессирующие Cas9 и до двух pPHK могут быть объединены в один AAV-вектор в пределах упаковки 4,7 т.п.о.

[000116] В некоторых вариантах осуществления изобретения, AAV-вектор представляет собой модифицированный AAV-вектор. Модифицированный AAV-вектор может обладать повышенным тропизмом по отношению к ткани сердца и скелетных мышц. Модифицированный AAV-вектор может обладать способностью доставлять систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 в клетку млекопитающего и экспрессировать эту систему в клетке. Так, например, модифицированный AAV-вектор может представлять собой вектор AAV-SASTG (Piacentino et al. (2012) Human Gene Therapy 23:635-646). Модифицированный AAV-вектор может доставлять нуклеазы в

скелетную и сердечную мышцу *in vivo*. Модифицированный AAV-вектор может быть основан на одном или более капсидах нескольких типов, включая AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8 и AAV9. Модифицированный AAV-вектор может быть получен на основе псевдотипа AAV2 с альтернативными капсидами AAV, обладающими тропизмом по отношению к мышцам, такими как AAV2/1, AAV2/6, AAV2/7, AAV2/8, AAV2/9, AAV2.5, и на основе вектора AAV/SASTG, который эффективно доставляется в скелетные мышцы или сердечные мышцы посредством системной и местной доставки (Seto et al. *Current Gene Therapy* (2012) 12:139-151). Модифицированный AAV-вектор может представлять собой AAV2i8G9 (Shen et al. *J. Biol. Chem.* (2013) 288:28814-28823). AAV-вектор может представлять собой AAVrh74.

5. Способы

а. Способы редактирования генома в мышцах

[000117] В настоящей заявке раскрываются способы редактирования генома у индивидуума. Редактирование генома может происходить в скелетной мышце и/или в сердечной мышце индивидуума. Способ может включать введение в скелетную мышцу и/или в сердечную мышцу индивидуума системы или композиции для редактирования генома, как описано выше. Редактирование генома может включать коррекцию мутантного гена или встраивание трансгена. Коррекция мутантного гена может включать делецию, реаранжировку или замену мутантного гена. Коррекция мутантного гена может включать опосредованные нуклеазой NHEJ или HDR.

б. Способы коррекции мутантного гена и лечения индивидуума

[000118] В настоящей заявке раскрываются способы коррекции мутантного гена (например, мутантного гена дистрофина, например, мутантного гена дистрофина человека) в клетке и способы лечения индивидуума, страдающего генетическим заболеванием, таким как МДД. Способ может включать введение в клетку или индивидууму раскрытой здесь системы или генетической конструкции (например, вектора) или композиции, содержащей эти системы или конструкции, как описано выше. Способ может включать введение в скелетную мышцу и/или в сердечную мышцу индивидуума раскрытой здесь системы или генетической конструкции (например, вектора) или композиции, содержащей эти системы или конструкции, как описано выше, для редактирования генома в скелетной мышце и/или в сердечной мышце. Использование описанной здесь системы или генетической конструкции (например, вектора) или содержащей их композиции для доставки системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 в скелетную или сердечную мышцу может восстанавливать экспрессию полностью функционального или частично функционального белка с репарацией матрицы или донорной ДНК, которые могут заменить весь ген или область, содержащую мутацию. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может быть использована для введения сайт-специфичных двухцепочечных разрывов в геномные локусы-мишени. Сайт-специфические двухцепочечные разрывы образуются в том случае, когда система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 связывается с

последовательностями ДНК-мишени, что приводит к расщеплению ДНК-мишени. Это расщепление ДНК может стимулировать природный механизм репарации ДНК и обеспечивает один из двух возможных путей репарации: путь гомологично-направленной репарации (HDR) или путь нехомологичного соединения концов (NHEJ).

[000119] В настоящей заявке раскрывается редактирование генома с помощью системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 без репарационной матрицы, что позволяет эффективно корректировать рамку считывания и восстанавливать экспрессию функционального белка, участвующего в развитии генетического заболевания. Раскрытые здесь системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 могут быть использованы в соответствии с механизмами коррекции на основе гомологически направленной репарации или опосредованном нуклеазами нехомологичном соединении концов (NHEJ), которые обеспечивают эффективную коррекцию в ограниченных пролиферацией первичных клеточных линиях, которые не могут быть подвергнуты гомологичной рекомбинации или коррекции генов на основе отбора. Эта стратегия объединяет в себе быструю и надежную сборку активных систем редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 с эффективным методом редактирования генов для лечения генетических заболеваний, вызываемых мутациями, в несущественных кодирующих областях, которые приводят к образованию сдвигов рамки считывания, преждевременных стоп-кодонах, абберрантных донорных сайтов сплайсинга или абберрантных акцепторных сайтов сплайсинга.

i) Опосредованное нуклеазой нехомологичное соединение концов

[000120] Восстановление экспрессии белка из эндогенного мутантного гена может происходить посредством NHEJ-опосредуемой репарации ДНК без использования матрицы. В отличие от временного метода, нацеленного на ген-мишень РНК, коррекция рамки считывания гена-мишени в геноме посредством временно экспрессируемой системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может приводить к необратимому восстановлению экспрессии гена-мишени в каждой модифицированной клетке и во всем ее потомстве. В некоторых вариантах осуществления изобретения, NHEJ представляет собой опосредуемое нуклеазой NHEJ, которое в некоторых вариантах осуществления изобретения называется NHEJ и инициирует разрезание двухцепочечной ДНК молекулой Cas9. Способ включает введение раскрытой здесь генетической конструкции (например, вектора) или содержащей ее композиции в скелетную мышцу или в сердечную мышцу индивидуума для редактирования генома в скелетной мышце или в сердечной мышце.

[000121] Опосредуемая нуклеазой коррекция гена посредством NHEJ может корректировать мутированный ген-мишень и дает несколько потенциальных преимуществ по сравнению с путем HDR. Так, например, NHEJ не требует донорной матрицы, которая может вызывать неспецифический инсерционный мутагенез. В отличие от HDR, NHEJ эффективно действует на всех стадиях клеточного цикла, а поэтому может эффективно использоваться как на стадиях клеточного цикла, так и в постмитотических клетках, таких как клетки мышечных волокон. Это обеспечивает надежную, постоянную альтернативу восстановлению генов путем вырезания экзонов из олигонуклеотида или путем

фармакологического принудительного считывания стоп-кодонов и теоретически может потребовать использования всего лишь одного лекарственного средства. Коррекция генов на основе NHEJ с использованием системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, а также других сконструированных нуклеаз, включая мегануклеазы и нуклеазы «цинковые пальцы», может быть объединена с другими существующими методами *ex vivo* и *in vivo* для клеточной и генной терапии в дополнение к описанному здесь методу электропорации плазмиды. Так, например, доставка системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 посредством переноса генов на основе мРНК или в виде очищенных проходящих через клетку белков позволяет применять метод редактирования генома без ДНК, который будет предотвращать любую возможность инсерционного мутагенеза.

(ii) Гомологически направленная репарация

[000122] Восстановление экспрессии белка из эндогенного мутированного гена может включать гомологически направленную репарацию. Описанный выше способ дополнительно включает введение в клетку донорной матрицы. Донорная матрица может включать нуклеотидную последовательность, кодирующую полностью функциональный белок или частично функциональный белок. Так, например, донорная матрица может включать миниатюрную конструкцию дистрофина, называемую минидистрофином («minidys»), полностью функциональную конструкцию дистрофина для восстановления мутантного гена дистрофина или фрагмент гена дистрофина, который после гомологически направленной репарации приводит к восстановлению мутантного гена дистрофина.

iii) Способы коррекции мутантного гена и лечения индивидуума с использованием CRISPR/Cas9

[000123] Настоящее изобретение также относится к редактированию генома с использованием системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 для восстановления экспрессии полностью функционального или частично функционального белка посредством репарационной матрицы или донорной ДНК, которая может заменить весь ген или область, содержащую мутацию. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может быть использована для введения сайт-специфических двухцепочечных разрывов в геномные локусы-мишени. Сайт-специфические двухцепочечные разрывы создаются в том случае, когда система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 связывается с последовательностями ДНК-мишени посредством рРНК, что тем самым приводит к расщеплению ДНК-мишени. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 обладает тем преимуществом, что благодаря высокоскоростной, успешной и эффективной генетической модификации будет осуществляться расширенное редактирование генома. Это расщепление ДНК может стимулировать природный механизм репарации ДНК и приводить к одному из двух возможных путей репарации: пути гомологически направленной репарации (HDR) или пути нехомологичного соединения концов (NHEJ).

[000124] Настоящее изобретение относится к редактированию генома с

использованием системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 без репарационной матрицы, что будет обеспечивать эффективную коррекцию рамки считывания и восстановление экспрессии функционального белка, участвующего в развитии генетического заболевания. Раскрытые здесь системы и методы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 могут быть использованы в соответствии с механизмами коррекции на основе гомологически направленной репарации или опосредованном нуклеазами нехомологичном соединении концов (NHEJ), которые обеспечивают эффективную коррекцию в ограниченных пролиферацией первичных клеточных линиях, которые не могут быть подвергнуты гомологичной рекомбинации или коррекции генов на основе отбора. Эта стратегия объединяет в себе быструю и надежную сборку активных систем редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 с эффективным методом редактирования генов для лечения генетических заболеваний, вызываемых мутациями, в несущественных кодирующих областях, которые приводят к образованию сдвигов рамки считывания, преждевременных стоп-кодонах, абберрантных донорных сайтов сплайсинга или абберрантных акцепторных сайтов сплайсинга

[000125] Настоящее изобретение относится к способам коррекции мутантного гена в клетке и к способам лечения индивидуума, страдающего генетическим заболеванием, таким как МДД. Эти способы могут включать введение в клетку или индивидууму системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, полинуклеотида или вектора, кодирующего указанную систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, или композиции указанной системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, как описано выше. Эти способы могут включать введение системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, такое как введение белка Cas9 или слитого белка Cas9, содержащего второй домен, обладающий нуклеазной активностью; нуклеотидной последовательности, кодирующей указанный белок Cas9 или слитый белок Cas9; и/или по меньшей мере одной рРНК, где рРНК нацелены на различные последовательности ДНК. Последовательности ДНК-мишени могут перекрываться. Количество рРНК, вводимых в клетку, может составлять по меньшей мере 1 рРНК, по меньшей мере 2 различных рРНК, по меньшей мере 3 различных рРНК, по меньшей мере 4 различных рРНК, по меньшей мере 5 различных рРНК, по меньшей мере 6 различных рРНК, по меньшей мере 7 различных рРНК, по меньшей мере 8 различных рРНК, по меньшей мере 9 различных рРНК, по меньшей мере 10 различных рРНК, по меньшей мере 15 различных рРНК, по меньшей мере 20 различных рРНК, по меньшей мере 30 различных рРНК или по меньшей мере 50 различных рРНК, как описано выше. Эти способы могут включать гомологически направленную репарацию или нехомологичное соединение концов.

с. Способы лечения заболевания

[000126] Настоящее изобретение относится к способу лечения индивидуума, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение в ткань индивидуума раскрытой здесь системы или генетической конструкции (например, вектора) или композиции, содержащей эти системы или конструкции, как описано выше. В некоторых вариантах

осуществления изобретения, способ может включать введение в скелетную мышцу или в сердечную мышцу индивидуума раскрытой здесь системы или генетической конструкции (например, вектора) или композиции, содержащей эти системы или конструкции, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способ может включать введение в вену индивидуума раскрытой здесь системы или генетической конструкции (например, вектора) или композиции, содержащей эти системы или конструкции, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуум страдает заболеванием скелетной мышцей или сердечной мышцы, вызывающим дегенерацию, слабость или генетическое заболевание. Так, например, индивидуум может страдать мышечной дистрофией Дюшенна, описанной выше.

i) Мышечная дистрофия Дюшенна

[000127] Описанный выше способ может быть применен для коррекции гена дистрофина и восстановления экспрессии полностью функционального или частично функционального белка из указанного мутантного гена дистрофина. В некоторых своих аспектах и вариантах, настоящее изобретение относится к способу уменьшения эффектов (например, ослабления клинических симптомов/показаний) МДД у пациента. В некоторых своих аспектах и вариантах, настоящее изобретение относится к способу лечения МДД у пациента. В некоторых своих аспектах и вариантах, настоящее изобретение относится к способу профилактики МДД у пациента. В некоторых своих аспектах и вариантах, настоящее изобретение относится к способу профилактики дальнейшего прогрессирования МДД у пациента.

6. Конструкции и плазмиды

[000128] Описанные выше композиции могут содержать одну или более генетических конструкций, которые кодируют систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, раскрытую в настоящей заявке. Генетическая конструкция, такая как плазида, может содержать нуклеиновую кислоту, которая кодирует систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, такую как белок Cas9 и/или слитые белки Cas9 и/или по меньшей мере одну из рПНК. Описанные выше композиции могут содержать генетические конструкции, которые кодируют модифицированный AAV-вектор, и последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, раскрытую в настоящей заявке. Генетическая конструкция, такая как плазида, может содержать нуклеиновую кислоту, которая кодирует систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Описанные выше композиции могут содержать раскрытые здесь генетические конструкции, которые кодируют модифицированный лентивирусный вектор.

[000129] Генетическая конструкция, такая как рекомбинантная плазида или рекомбинантная вирусная частица, может содержать нуклеиновую кислоту, которая кодирует слитый белок Cas9 и по меньшей мере одну рПНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, генетическая конструкция может содержать нуклеиновую кислоту, кодирующую слитый белок Cas9 и по меньшей мере две различных рПНК. В

некоторых вариантах осуществления изобретения, генетическая конструкция может содержать нуклеиновую кислоту, кодирующую слитый белок Cas9 и более двух различных рРНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, генетическая конструкция может содержать промотор, который функционально связан с нуклеотидной последовательностью, кодирующей по меньшей мере одну молекулу рРНК и/или молекулу Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, промотор функционально связан с нуклеотидной последовательностью, кодирующей первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и/или молекулу Cas9. Генетическая конструкция может присутствовать в клетке как функциональная внехромосомная молекула. Генетическая конструкция может представлять собой линейную минихромосому, включая центромеру, теломеры, плазмиды или космиды.

[000130] Генетическая конструкция также может быть частью генома рекомбинантного вирусного вектора, включая рекомбинантный лентивирус, рекомбинантный аденовирус и рекомбинантный аденоассоциированный вирус. Генетическая конструкция может быть частью генетического материала аттенюированных живых микроорганизмов или рекомбинантных микробных векторов, которые присутствуют в клетках. Генетические конструкции могут содержать элементы регуляции экспрессии генов кодирующих последовательностей нуклеиновой кислоты. Регуляторные элементы могут представлять собой промотор, энхансер, иницирующий кодон, стоп-кодон или сигнал полиаденилирования.

[000131] В некоторых вариантах осуществления изобретения, генетическая конструкция представляет собой вектор. Вектор может представлять собой аденоассоциированный вирусный (AAV) вектор, который кодирует по меньшей мере одну молекулу Cas9 и по меньшей мере одну молекулу рРНК, где указанный вектор способен экспрессировать по меньшей мере одну молекулу Cas9 и по меньшей мере молекулу рРНК в клетке млекопитающего. Вектор может представлять собой плазмиду. Векторы могут быть использованы для генотерапии *in vivo*. Вектор может быть рекомбинантным. Вектор может содержать гетерологичную нуклеиновую кислоту, кодирующую слитый белок, такой как слитый белок Cas9 или систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Вектор может представлять собой плазмиду. Вектор может быть подходящим для трансфекции клеток нуклеиновой кислотой, кодирующей слитый белок Cas9 или систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, где трансформированную клетку-хозяина культивируют и поддерживают в условиях, при которых происходит экспрессия слитого белка Cas9 или системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9.

[000132] Кодированные последовательности могут быть оптимизированы для обеспечения стабильности и высоких уровней экспрессии. В некоторых случаях, кодоны отбирают для снижения вероятности образования вторичной структуры РНК, такой как РНК, которая образуется благодаря внутримолекулярному связыванию.

[000133] Вектор может содержать гетерологичную нуклеиновую кислоту, кодирующую систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, и может

дополнительно содержать иницирующий кодон, который может располагаться выше последовательности, кодирующей систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, и стоп-кодон, который может быть расположен ниже последовательности, кодирующей систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Кодон инициации и терминации может находиться в одной рамке считывания с последовательностью, кодирующей систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Вектор может также содержать промотор, который функционально связан с последовательностью, кодирующей систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Промотор, который функционально связан с последовательностью, кодирующей систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, может представлять собой промотор обезьяньего вируса 40 (SV40), промотор вируса опухоли мышины молочной железы (MMTV), промотор вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), такой как промотор длинного концевой повтора (LTR) вируса иммунодефицита крупного рогатого скота (BIV), промотор вируса Молони, промотор вируса лейкоза птиц (ALV), промотор цитомегаловируса (CMV), такой как предранний промотор CMV, промотор вируса Эпштейна-Барра (EBV), промотор U6, такой как человеческий промотор U6, или промотор вируса саркомы Рауса (RSV). Промотор может также представлять собой промотор гена человека, такой как промотор человеческого убихитина С (hUbC), человеческого актина, человеческого миозина, человеческого гемоглобина, мышечного креатина человека или человеческого металлотионеина. Промотор может также представлять собой тканеспецифический промотор, такой как промотор, специфичный для мышц или кожи, природный или синтетический. Примеры таких промоторов описаны в публикациях заявок на патенты США US20040175727 и US20040192593, содержание которых в полном объеме включено в настоящее описание. Примеры мышцеспецифических промоторов включают промотор Spc5-12 (описанный в публикации заявки на патент США № 20040192593, содержание которой в полном объеме включено в настоящее описание; Hakim et al. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* (2014) 1:14002; и Lai et al. *Hum Mol Genet.* (2014) 23(12):3189-3199), промотор МНСК7 (описанный Salva et al., *Mol. Ther.* (2007) 15:320-329), промотор СК8 (описанный Park et al. *PLoS ONE* (2015) 10 (4):e0124914) и промотор СК8е (описанный Muir et al., *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* (2014) 1:14025). В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессия рРНК и/или белка Cas9 иницируется тРНК.

[000134] Каждая из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих молекулу рРНК и/или молекулу Cas9, может быть функционально связана с промотором. Промоторы, которые функционально связаны с молекулой рРНК и/или молекулой Cas9, могут быть одним и тем же промотором. Промоторы, которые функционально связаны с молекулой рРНК и/или молекулой Cas9, могут быть разными промоторами. Промотор может представлять собой конститутивный промотор, индуцибельный промотор, репрессируемый промотор или регулируемый промотор. Промотор может представлять собой тканеспецифический промотор. Тканеспецифический промотор может представлять собой мышцеспецифический промотор. Примеры мышцеспецифических промоторов

могут включать промотор МНСК7, промотор СК8 и промотор Spc512. Промотор может представлять собой, например, промотор СК8, промотор Spc512 и промотор МНСК7.

[000135] Вектор может также содержать сигнал полиаденилирования, который может быть расположен ниже системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Сигнал полиаденилирования может представлять собой сигнал полиаденилирования SV40, сигнал полиаденилирования LTR, сигнал полиаденилирования бычьего гормона роста (bGH), сигнал полиаденилирования человеческого гормона роста (hGH) или сигнал полиаденилирования человеческого β -глобина. Сигнал полиаденилирования SV40 может представлять собой сигнал полиаденилирования вектора pCEP4 (Invitrogen, San Diego, CA).

[000136] Вектор может также содержать энхансер, расположенный перед системой редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, то есть, перед последовательностью, кодирующей белок Cas9 или слитый белок Cas9 или оцрPHK, или систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. Энхансер может быть необходим для экспрессии ДНК. Энхансер может представлять собой энхансер человеческого актина, человеческого миозина, человеческого гемоглобина, мышечного креатина человека или вирусный энхансер, такой как один из CMV, HA, RSV или EBV. Энхансеры полинуклеотидной функции описаны в патентах США № 5593972, 5962428 и в WO 94/016737, содержание которых в полном объеме включено в настоящее описание посредством ссылки. Вектор может также содержать ориджин репликации млекопитающего для поддержания вектора вне хромосом и продуцирования множества копий вектора в клетке. Вектор также может содержать регуляторную последовательность, которая может быть подходящей для экспрессии гена в клетке млекопитающего или человека, в которую вводят вектор. Вектор также может содержать репортерный ген, такой как ген белка, флуоресцирующего в зеленом диапазоне спектра («GFP»), и/или селективного маркера, такого как гигромицин («Hygro»).

[000137] Векторы могут представлять собой экспрессионные векторы или системы для продуцирования белка обычными методами и с использованием легко доступных исходных материалов, включая материалы, описанные в руководстве Sambrook et al., *Molecular Cloning and Laboratory Manual*, Second Ed., Cold Spring Harbor (1989), содержание которого в полном объеме включено в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор может содержать последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую систему редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, включая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую белок Cas9 или слитый белок Cas9, и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую по меньшей мере одну рPHK.

7. Фармацевтические композиции

[000138] Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим описанные выше генетические конструкции. Подробно описанные здесь фармацевтические композиции могут быть приготовлены в соответствии с применяемым

здесь способом введения. В случаях, когда фармацевтические композиции представляют собой фармацевтические композиции для инъекций, они должны быть стерильными, апирогенными и не должны содержать крупных частиц. Предпочтительно использовать изотонический состав. Обычно, добавки для придания изотоничности могут включать хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. В некоторых случаях, предпочтительными являются изотонические растворы, такие как забуференный фосфатом физиологический раствор. Стабилизаторы включают желатин и альбумин. В некоторых вариантах осуществления изобретения, в состав добавляют сосудосуживающее средство.

[000139] Композиция может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый наполнитель. Фармацевтически приемлемый наполнитель может представлять собой функциональные молекулы, используемые в качестве носителей, адъювантов, наполнителей или разбавителей. Фармацевтически приемлемый наполнитель может представлять собой агент, облегчающий трансфекцию, который может включать поверхностно-активные вещества, такие как иммуностимулирующие комплексы (ISCOMS), неполный адъювант Фрейнда, аналог LPS, включая монофосфорил-липид А, мурамилпептиды, аналоги хинона, везикулы, такие как сквален и сквалан, гиалуроновая кислота, липиды, липосомы, ионы кальция, вирусные белки, полианионы, поликатионы или наночастицы, или другие известные агенты, облегчающие трансфекцию.

[000140] Агент, облегчающий трансфекцию, представляет собой полианион, поликатион, включая поли-L-глутамат (LGS), или липид. Агент, облегчающий трансфекцию, представляет собой поли-L-глутамат, а более предпочтительно, поли-L-глутамат присутствует в композиции для редактирования генома в скелетных мышцах или в сердечных мышцах в концентрации менее 6 мг/мл. Агент, облегчающий трансфекцию, может также включать поверхностно-активные вещества, такие как иммуностимулирующие комплексы (ISCOMS), неполный адъювант Фрейнда, аналог LPS, включая монофосфорил-липид А, мурамилпептиды, аналоги хинона и везикулы, такие как сквален и сквалан, и гиалуроновая кислота, которые могут быть также введены в комбинации с генетической конструкцией. В некоторых вариантах осуществления изобретения, ДНК-вектор, кодирующий композицию, может также включать агент, облегчающий трансфекцию, такой как липиды, липосомы, включая липосомы лецитина или другие липосомы, известные специалистам в данной области, в виде смеси ДНК-липосом (см., например, публикацию Международной патентной заявки № W09324640), ионы кальция, вирусные белки, полианионы, поликатионы или наночастицы или другие известные агенты, облегчающие трансфекцию. Предпочтительным агентом, облегчающим трансфекцию, являются полианион, поликатион, включая поли-L-глутамат (LGS) или липид.

8. Способы доставки

[000141] В настоящей заявке описан способ доставки раскрытой здесь генетической конструкции (например, вектора) или ее композиции в клетку. Доставка

композиций может представлять собой трансфекцию или электропорацию композиции в виде молекулы нуклеиновой кислоты, которая экспрессируется в клетке и доставляется на поверхность клетки. Молекулы нуклеиновой кислоты могут быть подвергнуты электропорации с использованием устройств BioRad Gene Pulser Xcell или Amaxa Nucleofector IIb. Может быть использовано несколько различных буферов, включая раствор для электропорации BioRad, забуференный фосфатом физиологический раствор Sigma #D8537 (PBS), Invitrogen OptiMEM I (OM) или раствор Amaxa Nucleofector V (NV). Трансфекция может включать введение реагента для трансфекции, такого как липофектамин 2000.

[000142] После доставки раскрытой здесь генетической конструкции или композиции в ткань, и после доставки вектора в клетки млекопитающего, трансфецированные клетки будут экспрессировать молекулу(ы) рРНК и молекулу Cas9. Генетическая конструкция или композиция могут быть введены млекопитающему для изменения экспрессии гена или для повторного конструирования или изменения генома. Так, например, генетическая конструкция или композиция может быть введена млекопитающему для коррекции гена дистрофина у млекопитающего. Млекопитающим может быть человек, примат, не являющийся человеком, корова, свинья, овца, коза, антилопа, бизон, водяной буйвол, бык, олень, еж, слон, лама, альпака, мышь, крыса или курица, а предпочтительно человек, корова, свинья или курица.

[000143] Генетическая конструкция (например, вектор), кодирующая молекулу(ы) рРНК и молекулу Cas9, может быть доставлена млекопитающему путем инъекции ДНК (также называемой ДНК-вакцинацией) с электропорацией *in vivo* и в отсутствие электропорации, посредством липосом, наночастиц, и/или рекомбинантных векторов. Рекомбинантный вектор может быть доставлен любым способом с использованием вируса. Вирусом может быть рекомбинантный лентивирус, рекомбинантный аденовирус и/или рекомбинантный аденоассоциированный вирус.

[000144] Раскрытая здесь генетическая конструкция (например, вектор) или содержащая ее композиция могут быть введены в клетку для генетической коррекции гена дистрофина (например, гена дистрофина человека). В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытую здесь генетическую конструкцию (например, вектор) или содержащую ее композицию вводят в миобластные клетки пациента с МДД. В некоторых вариантах осуществления изобретения, генетическую конструкцию (например, вектор) или содержащую ее композицию вводят в фибробласты пациента с МДД, и генетически скорректированная фибробластная клетка может быть обработана MyoD для индуцирования дифференцировки в миобласты, которые могут быть имплантированы индивидууму, например, в поврежденные мышцы индивидуума для подтверждения функциональности скорректированного белка дистрофина и/или для лечения индивидуума. Модифицированные клетки могут также представлять собой стволовые клетки, такие как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, предшественники костного мозга, предшественники скелетных мышц, человеческие скелетные миобласты

пациентов с МДД, CD133⁺-клетки, мезоангиобласты и MyoD- или Pax7-трансдуцированные клетки, или другие миогенные клетки-предшественники. Так, например, система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9 может вызывать нейронную или миогенную дифференцировку индуцированных плюрипотентных стволовых клеток.

9. Способы введения

[000145] Раскрытые здесь генетические конструкции (например, векторы) или содержащая их композиция могут быть введены индивидууму различными способами, включая пероральное введение, парентеральное введение, подъязычное введение, трансдермальное введение и ректальное введение, введение через слизистую, местное введение, введение путем ингаляции, трансбуккальное введение, внутривенное введение, внутримышечное введение, интраназальное введение, интратекальное введение и внутрисуставное введение или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытую здесь генетическую конструкцию (например, вектор) или композицию вводят индивидууму (например, индивидууму, страдающему МДД) внутримышечно, внутривенно или в их комбинации. Для применения в ветеринарии, раскрытые здесь генетические конструкции (например, векторы) или композиции могут быть введены в виде приемлемого препарата в соответствии с обычной ветеринарной практикой. Ветеринар может легко определить схему введения доз и способ введения, наиболее подходящий для конкретного животного. Композиции могут быть введены с помощью традиционных шприцев, безыгольных инъекционных устройств, «дробового ружья» для бомбардировки микрочастицами или другими физическими методами, такими как электропорация («EP»), «гидродинамический метод» или обработка ультразвуком.

[000146] Раскрытая здесь генетическая конструкция (например, вектор) или композиция могут быть доставлены млекопитающему с применением нескольких технологий, включая инъекцию ДНК (также называемую ДНК-вакцинацией) с электропорацией *in vivo* и в отсутствие электропорации, посредством липосом, наночастиц, рекомбинантных векторов, таких как рекомбинантный лентивирус, рекомбинантный аденовирус и рекомбинантный аденоассоциированный вирус. Композиция может быть введена в скелетную мышцу или в сердечную мышцу. Так, например, композиция может быть введена в переднюю большеберцовую мышцу или в хвост.

[000147] В некоторых вариантах осуществления изобретения, раскрытую здесь генетическую конструкцию (например, вектор) или содержащую ее композицию вводят путем 1) инъекций в хвостовую вену (системно) взрослым мышам; 2) внутримышечных инъекций, например, местных инъекций в мышцу, такую как ТА или икроножная мышца взрослых мышей; 3) внутривенных инъекций мышам P2; или 4) инъекции в лицевую вену (системно) мышам P2.

10. Типы клеток

[000148] Любой из этих способов доставки и/или путей введения может быть применен ко множеству типов клеток. Такими клетками могут быть, но не ограничиваются ими, иммортализованные миобластные клетки, такие как клеточные линии дикого типа и линии, полученные от пациентов с МДД, например, Δ48-50 DMD, DMD 6594 (del48-50), DMD 8036 (del48-50), C25C14, и клеточные линии DMD-7796, первичные дермальные фибробласты пациентов с МДД, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, клетки-предшественники костного мозга, клетки-предшественники скелетных мышц, скелетные миобласты человека, взятые от пациентов с МДД, CD133⁺-клетки, мезоангиобласты, кардиомиоциты, гепатоциты, хондроциты, мезенхимальные клетки-предшественники, гемопоэтические стволовые клетки, клетки гладких мышц и MyoD- или Pax7-трансдуцированные клетки или другие миогенные клетки-предшественники. Иммортализация миогенных клеток человека может быть использована для клональной дериватизации генетически скорректированных миогенных клеток. Эти клетки могут быть модифицированы *ex vivo* для выделения и увеличения клональных популяций иммортализованных миобластов при МДД, которые включают генетически скорректированный ген дистрофина и не содержат мутаций, введенных другими нуклеазами, в белок-кодирующих областях генома. Альтернативно, временная доставка *in vivo* систем на основе CRISPR/Cas9 посредством невирусного или неинтегрирующего вирусного переноса гена или путем прямой доставки очищенных белков и рРНК, содержащих проникающие в клетки мотивы, может обеспечивать высокоспецифическую коррекцию *in situ* с минимальным риском или с отсутствием риска интеграции экзогенной ДНК.

11. Наборы

[000149] В настоящей заявке описан набор, который может быть использован для коррекции мутированного гена дистрофина. Набор содержит по меньшей мере рРНК для коррекции мутированного гена дистрофина и инструкции по использованию системы редактирования генов на основе CRISPR/Cas9. В настоящей заявке также описан набор, который может быть использован для редактирования гена дистрофина в геноме скелетных мышц или сердечных мышц. Набор может содержать генетические конструкции (например, векторы) или содержащую их композицию для редактирования генома в скелетных мышцах или в сердечных мышцах, как описано выше, и инструкции по использованию указанной композиции.

[000150] Инструкции, входящие в наборы, могут быть прикреплены к упаковочному материалу или могут быть вложены в упаковку в качестве вкладыша. Хотя инструкции обычно представляют собой письменные или печатные материалы, однако, они не ограничиваются ими. В настоящей заявке рассматривается любой носитель, способный хранить такие инструкции и передавать их конечному пользователю. Такими носителями являются, но не ограничиваются ими, электронные носители для хранения данных (например, магнитные диски, ленты, картриджи, чипы), оптические носители

(например, CD-ROM) и т.п. Используемый здесь термин «инструкции» может включать адрес Интернет-сайта, который предоставляет такие инструкции.

[000151] Генетические конструкции (например, векторы) или содержащая их композиция для коррекции мутированного дистрофина или для редактирования гена дистрофина в геноме скелетных мышц или сердечных мышц могут включать модифицированный AAV-вектор, который содержит молекулу(ы) рРНК и молекулу Cas9, как описано выше, и эти молекулы специфически связываются с областью гена дистрофина и расщепляют ее. Система редактирования генов на основе CRISPR/Cas9, как описано выше, может быть включена в набор для специфического связывания с конкретной областью и нацеливания на конкретную область в мутантном гене дистрофина. Набор может дополнительно включать донорную ДНК, другую рРНК или трансген, как описано выше.

12. Примеры

[000152] Для специалистов в данной области будет совершенно очевидно, что в описанные здесь способы согласно изобретению могут быть внесены и другие подходящие и ценные модификации и адаптации, и это может быть осуществлено с использованием подходящих эквивалентов, не выходящих за рамки объема настоящего изобретения или раскрытых здесь аспектов и вариантов его осуществления. После подробного описания настоящего изобретения, оно будет более понятным со ссылкой на нижеследующие примеры, которые приводятся лишь для иллюстрации некоторых аспектов и вариантов осуществления изобретения и не должны рассматриваться как ограничение объема изобретения. Все приведенные здесь указания на журналы, патенты США и публикации в полном объеме включены в настоящее описание посредством ссылки.

[000153] В настоящей заявке подробно описаны многочисленные варианты осуществления изобретения и его аспекты, проиллюстрированные в нижеследующих неограничивающих примерах.

Пример 1

Двойная векторная система

[000154] Стандартные системы CRISPR/Cas9 для лечения МДД обычно включают более, чем один вектор (фиг. 6, фиг. 7). Так, например, один вектор может кодировать белок Cas9, а второй вектор может кодировать две рРНК. В качестве другого примера, один вектор может кодировать белок Cas9 и первую рРНК, а второй вектор может кодировать белок Cas9 и вторую рРНК.

[000155] Схема эксперимента, в котором используются несколько векторов для вырезания экзонов 45-55 дистрофина у мышей, показана на фиг. 3 с результатами, представленными на фиг. 4, фиг. 5 и фиг. 10. Новорожденных мышей обрабатывали двойной векторной системой посредством системной инъекции/инъекции в височную вену. Через 8 недель после обработки, ткань собирали. Как показано на фиг. 4, ПЦР и секвенирование подтвердили делецию экзона 45-55 мутационной «горячей точки».

Дополнительные результаты показаны на фиг. 10 либо с AAV-CRISPR, нацеленным на контрольный локус (фиг. 10, верхняя панель), либо с нацеливанием на экзон 45-55 (фиг. 10, нижняя панель), и указывают на то, что широко распространенная экспрессия дистрофина наблюдалась в сердечной мышце после делеции экзона 45-55, но не у мышей, обработанных контрольным вектором.

Пример 2

Подтверждение терапевтического подхода для двойной векторной системы

[000156] Дополнительное подтверждение возможности применения метода на основе CRISPR для восстановления функционального гена дистрофина с помощью двойных векторов Примера 1 проводили с использованием иммортализованных миобластов, выделенных у пациента с МДД. Иммортализованные миобласты содержали делецию экзонов 48-50, которая создавала мутацию вне рамки считывания (фиг. 9А). Миобласты пациентов трансфецировали теми же плазмидами AAV, которые были использованы в эксперименте с НЕК293 *in vitro* в Примере 1.

[000157] ПЦР геномной ДНК и кДНК для оценки делеции выявила, что экзон 45-55 был эффективно удален, что было подтверждено путем секвенирования по Сэнгеру (фиг. 9В). Вестерн-блот-анализ клеточных лизатов показал, что необработанные миобласты не продуцировали белок дистрофина, тогда как трансфецированные миобласты экспрессировали белок дистрофина меньшего размера по сравнению с позитивным контролем, что соответствует делеции «горячей точки» (фиг. 9С). Эти результаты дополнительно подтвердили *in vitro*, что двойные векторные конструкции могут быть использованы для редактирования мутации и восстановления экспрессии дистрофина у человека.

Пример 3

Компоненты для объединенных векторов

[000158] Одновекторная система CRISPR/Cas9 была разработана для лечения МДД (фиг. 6, фиг.7). Преимущества одновекторной системы могут включать наличие всех необходимых компонентов редактирования в одном векторе, возможность увеличения эффективной дозы, оптимизацию продуцирования других векторов (единого терапевтического средства), использование/включение мышцеспецифических промоторов (например, СК8, Spc512, МНСК7), а также возможность нацеливания на комбинации экзонов и крупные делеции (например, путем модификации руководящих последовательностей). Схематическая диаграмма разработанных объединенных векторов представлена на фиг. 8. Последовательности, включенные в некоторые или во все описанные здесь объединенные векторы, представлены в Таблице 1. На фиг. 12, фиг. 13 и фиг. 14 показаны результаты тестирования этих конструкций на мышцах mdx. Объединенные векторы более подробно описаны в Примерах 4-7.

Таблица 1

Компонент	Последовательность

AAV ITR	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCC GGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAG CGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGG TTCCT (SEQ ID NO:1)
JCR143: руководящая последовательнос ть РНК, нацеленная на область интрона 44 дистрофина человека	ACATTTTCCTCTCTATACAAATG (SEQ ID NO:2)
JCR120: руководящая последовательнос ть РНК, нацеленная на область интрона 55 дистрофина человека	ATATAGTAATGAAATTATTGGCAC (SEQ ID NO:3)
Остов руководящей РНК SaCas9	TCTCGCCAACAAGTTGACGAGATAAACACGGCATTTCCTT GTTTTAGTAGATTCTGTTTCCAGAGTACTAAAAC (SEQ ID NO:4)
Промотор U6	GGTGTTTCGTCCTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATC GAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGCATATGATAGTCCATTTTA AAACATAATTTTAAACTGCAAACTACCCAAGAAATTATTAC TTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGT CAAATTAATTCCAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATA TGCAAATATGAAGGAATCATGGGAAATAGGCCCTC (SEQ ID NO:5)
Промотор H1	GAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGGCCC AGTGTCCTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGC AGGAAGATGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAA TATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGGAAATCACCATAAACGT GAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGA CCAC (SEQ ID NO:6)
Промотор EFS	TCGAGTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCG

	CCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTG AACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAA GTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTCCCGAGGGTGGGGG AGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTT CGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTGTCGTGACCGCGG (SEQ ID NO:7)
Промотор CK8	CTAGACTAGCATGCTGCCCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGGGG ACACCCGAGATGCCTGGTTATAATTAACCCAGACATGTGGCT GCCCCCCCCCCCCAACACCTGCTGCCTCTAAAAATAACCT GCATGCCATGTTCCCGGCGAAGGGCCAGCTGTCCCCGCCAG CTAGACTCAGCACTTAGTTTAGGAACCAGTGAGCAAGTCAGC CCTTGGGGCAGCCCATAACAAGGCCATGGGGCTGGGCAAGCTG CACGCCTGGGTCCGGGGTGGGCACGGTGCCCGGGCAACGAG CTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGCCCCCTCCCTGGGGACAG CCCCTCCTGGCTAGTCACACCCTGTAGGCTCCTCTATATAACC CAGGGGCACAGGGGCTGCCCTCATTCTACCACCACCTCCACA GCACAGACAGACACTCAGGAGCCAGCCAG (SEQ ID NO:8)
Промотор Spc512	GAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGTCCGCCTTCGGCACCATCC TCACGACACCCAAATATGGCGACGGGTGAGGAATGGTGGGG AGTTATTTTATAGAGCGGTGAGGAAGGTGGGCAGGCAGCAGGT GTTGGCGCTCTAAAAATAACTCCCGGGAGTTATTTTATAGAGC GGAGGAATGGTGGACACCCAAATATGGCGACGGTTCCTCACC CGTCGCCATATTTGGGTGTCCGCCCTCGGCCGGGGCCGCATTC CTGGGGGCCGGGCGGTGCTCCCGCCCGCCTCGATAAAAGGCT CCGGGGCCGGCGGGCGGCCACGAGCTACCCGGAGGAGCGGG AGGCGCCAAGCTCTAGAAGTAGTGATCCCCCGGGCTGCAGG AATTCGATAT (SEQ ID NO:9)
Промотор MHCK7	GTTTAAACAAGCTTGCATGTCTAAGCTAGACCCTTCAGATTA AAAATAACTGAGGTAAGGGCCTGGGTAGGGGAGGTGGTGTG AGACGCTCCTGTCTCTCCTCTATCTGCCATCGGCCCTTTGGG GAGGAGGAATGTGCCCAAGGACTAAAAAAGGCCATGGAGC CAGAGGGGCGAGGGCAACAGACCTTTCATGGGCAAACCTTG GGGCCCTGCTGTCTAGCATGCCCCACTACGGGTCTAGGCTGC CCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGGGGACACCCGAGATGCCTG GTTATAATTAACCCAGACATGTGGCTGCCCCCCCCCCCCCAA

	CACCTGCTGCCTCTAAAAATAACCCTGTCCCTGGTGGATCCCC TGCATGCGAAGATCTTCGAACAAGGCTGTGGGGGACTGAGGG CAGGCTGTAAACAGGCTTGGGGGCCAGGGCTTATACGTGCCTG GACTCCCAAAGTATTACTGTTCCATGTTCCCGGCGAAGGGC CAGCTGTCCCCCGCCAGCTAGACTCAGCACTTAGTTTAGGAA CCAGTGAGCAAGTCAGCCCTTGGGGCAGCCCATAACAAGGCCA TGGGGCTGGGCAAGCTGCACGCCTGGGTCCGGGGTGGGCACG GTGCCCCGGGCAACGAGCTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGC CCCTCCCTGGGGACAGCCCCTCCTGGCTAGTCACACCCTGTA GGCTCCTCTATATAACCCAGGGGCACAGGGGCTGCCCTCATT CTACCACCACCTCCACAGCACAGACAGACACTCAGGAGCCAG CCAGCGGCGCGCCC (SEQ ID NO:10)
SaCas9	AAGCGGA ACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACCAGC GTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATC GATGCCGGCGTGCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAA CAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGCGCCAGAAGGCTGA AGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTG CTGTTGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGC GGCATCAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCA GAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCT GGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAG AGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGC CGGAACAGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGA ACT GCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGTGCGGGGCA GCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCC AAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGA CCAGAGCTTCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCG GCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCCCCTTCGG CTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCC ACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACG CCTACAACGCCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACA ATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGGAATATT ACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAG AAGAAGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTG AACGAAGAGGATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGG

CAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCACGACATCAA
 GGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCT
 GCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAG
 CGAGGACATCCAGGAAGAACTGACCAATCTGAACTCCGAGCT
 GACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGGGCTA
 TACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGAT
 CCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTAT
 CTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTC
 CCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTTCAT
 CCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAA
 AGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGA
 CATCATTATCGAGCTGGCCCGCGAGAAGAACTCCAAGGACGC
 CCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGCAGA
 CCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAA
 GAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGA
 CATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCC
 TCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGGA
 CCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAGCTTCAA
 CAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGG
 GCAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCA
 AGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGG
 CCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTAT
 CTGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAA
 GACTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATACCAGATACGCCACC
 AGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAAC
 AACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACC
 AGCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAA
 CAAGGGGTACAAGCACACGCCGAGGACGCCCTGATCATTGC
 CAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGGACAA
 GGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGC
 AGGCCGAGAGCATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTAC
 AAAGAGATCTTCATACCCCCCACCAGATCAAGCACATTAAG
 GACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAGAA
 GCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCG
 GAAGGACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGA

	ACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACAAGCTGAAAAAGCTG ATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGAC CCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTAC GGCGACGAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAAC CGGGAACCTACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGACAACGGCC CCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACG CCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACA AGGTCGTGAAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGT ACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAGAATC TGGATGTGATCAAAAAAGAAACTACTACGAAGTGAATAGC AAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAA CCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATC AAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTGAACAA CGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCAC CTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCCC CCAGGATCATTAAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATT AGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTGA AATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGC (SEQ ID NO:11)
Минисигнал полиаденирова ния	TAGCAATAAAGGATCGTTTATTTTCATTGGAAGCGTGTGTTGG TTTTTTGATCAGGCGCG (SEQ ID NO:12)
Сигнал полиаденирова нияbGH	CTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCA GCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTG GAAGGTGCCACTCCCCTGTCTTTCCTAATAAAATGAGGAA ATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGG GTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAG AATAGCAGGCATGCTGGGGA (SEQ ID NO:13)
Интрон SV40	TCTAGAGGATCCGGTACTCGAGGAACTGAAAAACCAGAAAG TTAACTGGTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTTATTTTCAGGTCCCG GATCCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGA TGTTGCCTTTACTTCTAGGCCTGTACGGAAGTGTTAC (SEQ ID NO: 24)

Пример 4**Объединенный вектор 1 (варианты 1 и 2)**

[000159] Были созданы два варианта вектора 1. Вектор 1 содержал рРНК, нацеленные на экзоны 45-55 со всеми промоторами (U6, H1 и SaCas9-инициирующими) в прямом направлении и минисигнал полиаденилирования для SaCas9.

[000160] Вариант 1 вектора 1 содержал конститутивный промотор EFS. Последовательность для варианта 1 вектора 1 находится в SEQ ID NO: 14.

[000161] Вариант 2 вектора 1 содержал конститутивный промотор CK8. Последовательность для варианта 2 вектора 1 находится в SEQ ID NO: 15.

Пример 5

Объединенный вектор 2 (варианты 1-4)

[000162] Были созданы четыре варианта вектора 2. Вектор 2 содержал рРНК, нацеленные на экзон 45-55 с промотором U6 в обратном направлении, то есть, в направлении от промотора, инициирующего SaCas9, и минисигнал полиаденилирования для SaCas9.

[000163] Вариант 1 вектора 2 содержал конститутивный промотор EFS. Последовательность для варианта 1 вектора 2 находится в SEQ ID NO: 16.

[000164] Вариант 2 вектора 2 содержал конститутивный промотор CK8. Последовательность для варианта 2 вектора 2 является такой же, как и в SEQ ID NO: 17.

[000165] Вариант 3 вектора 2 содержал промотор Spc512. Последовательность для варианта 3 вектора 2 является такой же, как и в SEQ ID NO: 18.

[000166] Вариант 4 вектора 2 содержал промотор МНСК7. Последовательность для варианта 4 вектора 2 является такой же, как и в SEQ ID NO: 19.

Пример 6

Объединенный вектор 3 (варианты 1-4)

[000167] Были созданы четыре варианта вектора 3. Вектор 3 содержал рРНК, нацеленные на экзон 45-55 с промотором U6 в обратном направлении, то есть, в направлении от промотора, инициирующего SaCas9, и минисигнал полиаденилирования для SaCas9.

[000168] Вариант 1 вектора 3 содержал конститутивный промотор EFS. Последовательность для варианта 1 вектора 3 находится в SEQ ID NO: 20.

[000169] Вариант 2 вектора 3 содержал конститутивный промотор CK8. Последовательность для варианта 2 вектора 3 является такой же, как и в SEQ ID NO: 21.

[000170] Вариант 3 вектора 3 содержал промотор Spc512. Последовательность для варианта 3 вектора 3 является такой же, как и в SEQ ID NO: 22.

[000171] Вариант 4 вектора 3 содержал промотор МНСК7. Последовательность для варианта 4 вектора 3 является такой же, как и в SEQ ID NO: 23.

Пример 7

Объединенный вектор 5 (варианты 1-4)

[000172] После скрининга панели объединенных сконструированных векторов для определения эффекта размещения руководящих последовательностей, регуляторных элементов и промоторов Pol-III был создан новый набор объединенных векторов вместе с

конститутивными и мышцеспецифическими промоторами (фиг. 11). Варианты объединенного вектора 5 включали интрон SV40 (см. SEQ ID NO: 24) и различные элементы.

[000173] Вариант 1 вектора 5 включал конститутивный промотор. Последовательность для варианта 1 вектора 5 является такой же, как и в SEQ ID NO: 41.

[000174] Вариант 2 вектора 5 содержал промотор СК8. Последовательность для варианта 2 вектора 5 является такой же, как и в SEQ ID NO: 42.

[000175] Вариант 3 вектора 5 содержал промотор Sps-512. Последовательность для варианта 3 вектора 5 является такой же, как и в SEQ ID NO: 29.

[000176] Вариант 4 вектора 5 содержал промотор МНСК7. Последовательность для варианта 4 вектора 5 является такой же, как и в SEQ ID NO: 30.

[000177] Вышеприведенное описание конкретных аспектов настолько полно раскрывает общий характер изобретения, что специалисты могут, применяя знания в пределах их квалификации в данной области, легко изменять и/или адаптировать эти аспекты изобретения для различных целей без излишнего экспериментирования, не выходя за рамки общей концепции настоящего изобретения. Следовательно, предполагается, что такие адаптации и модификации будут находиться в пределах значений и диапазона эквивалентов раскрытых здесь аспектов, основанных на идее и принципах, представленных в настоящей заявке. При этом, следует отметить, что используемая здесь фразеология или терминология приводится лишь для описания, и не является ограничивающей, и такая терминология или фразеология согласно изобретению должна интерпретироваться квалифицированным специалистом исходя из идей и принципов настоящего изобретения.

[000178] Широта и объем раскрытия настоящего изобретения не должны ограничиваться каким-либо из вышеописанных репрезентативных аспектов, а должны определяться только в соответствии с нижеследующей формулой изобретения и ее эквивалентами.

[000179] Все цитируемые здесь публикации, патенты, патентные заявки и/или другие документы в полном объеме и во всех целях вводятся в настоящее описание посредством ссылки так, как если бы каждая отдельная публикация, патент, патентная заявка и/или другой документ были отдельно включены по всем целям посредством ссылки.

[000180] Для полноты описания, различные аспекты раскрытия изобретения изложены в нижеследующих пронумерованных пунктах:

[000181] Пункт 1. Система CRISPR-Cas, содержащая один или более векторов, кодирующих композицию, где указанная композиция включает: (a) первую молекулу руководящей РНК (рРНК), нацеленной на интрон 44 дистрофина; (b) вторую молекулу рРНК, нацеленную на интрон 55 дистрофина; (c) белок Cas9; и (d) один или более остовов рРНК Cas9.

[000182] Пункт 2. Система по пункту 1, где система содержит один вектор.

[000183] Пункт 3. Система по пункту 1, где система содержит два или более векторов, где два или более векторов содержат первый вектор и второй вектор.

[000184] Пункт 4. Система по пункту 3, где (a) первый вектор кодирует первую молекулу рРНК и вторую молекулу рРНК; и (b) второй вектор кодирует белок Cas9.

[000185] Пункт 5. Система по пункту 3, где (a) первый вектор кодирует первую молекулу рРНК; и (b) второй вектор кодирует вторую молекулу рРНК.

[000186] Пункт 6. Система по пункту 5, где первый вектор дополнительно кодирует белок Cas9.

[000187] Пункт 7. Система по пункту 5 или 6, где второй вектор дополнительно кодирует белок Cas9.

[000188] Пункт 8. Система по любому из пунктов 1-7, где экспрессия белка Cas9 инициируется конститутивным промотором или мышцеспецифическим промотором.

[000189] Пункт 9. Система по пункту 8, где мышцеспецифический промотор включает промотор МНСК7, промотор СК8 или промотор Spc512.

[000190] Пункт 10. Система по пункту 2, где один вектор кодирует первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и белок Cas9.

[000191] Пункт 11. Система по любому из пунктов 1-10, где вектор содержит по меньшей мере один двунаправленный промотор.

[000192] Пункт 12. Система по пункту 11, где двунаправленный промотор включает: первый промотор, инициирующий экспрессию первой молекулы рРНК и/или второй молекулы рРНК; и второй промотор, инициирующий экспрессию белка Cas9.

[000193] Пункт 13. Система по любому из пунктов 1-12, где первая рРНК нацелена на полинуклеотид SEQ ID NO: 2 или его 5'-усеченный вариант.

[000194] Пункт 14. Система по любому из пунктов 1-13, где вторая рРНК нацелена на полинуклеотид SEQ ID NO: 3 или его 5'-усеченный вариант.

[000195] Пункт 15. Система по любому из пунктов 1-14, где белок Cas9 представляет собой белок SpCas9, SaCas9 или St1Cas9.

[000196] Пункт 16. Система по любому из пунктов 1-15, где остов рРНК Cas9 представляет собой остов рРНК SaCas9.

[000197] Пункт 17. Система по пункту 16, где остов рРНК SaCas9 содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 4 или кодируется этим полинуклеотидом.

[000198] Пункт 18. Система по любому из пунктов 1-17, где белок Cas9 представляет собой белок SaCas9, кодируемый полинуклеотидом SEQ ID NO: 11.

[000199] Пункт 19. Система по любому из пунктов 1-18, где вектор содержит по меньшей мере один полинуклеотид, выбранный из SEQ ID NO: 1-13 и 24.

[000200] Пункт 20. Система по любому из пунктов 1-19, где вектор содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 24.

[000201] Пункт 21. Система по любому из пунктов 1-20, где вектор содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID

NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30.

[000202] Пункт 22. Система по любому из пунктов 1-21, где вектор представляет собой вирусный вектор.

[000203] Пункт 23. Система по любому из пунктов 1-22, где вектором является аденоассоциированный вирусный (AAV) вектор.

[000204] Пункт 24. Система по пункту 23, где вектор AAV представляет собой AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV-10, AAV-11, AAV-12, AAV-13 или AAVrh.74.

[000205] Пункт 25. Система по любому из пунктов 1-24, где вектор содержит универсальный промотор или тканеспецифический промотор, функционально связанный с полинуклеотидной последовательностью, кодирующей первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и/или белок Cas9.

[000206] Пункт 26. Система по пункту 25, где тканеспецифический промотор представляет собой мышцеспецифический промотор.

[000207] Пункт 27. Клетка, включающая систему по любому из пунктов 1-26.

[000208] Пункт 28. Набор, включающий систему по любому из пунктов 1-26.

[000209] Пункт 29. Способ коррекции мутантного гена дистрофина в клетке, включающий введение в клетку системы по любому из пунктов 1-26.

[000210] Пункт 30. Способ редактирования генома мутантного гена дистрофина у индивидуума, где указанный способ включает введение индивидууму системы по любому из пунктов 1-26 или клетки по пункту 27.

[000211] Пункт 31. Способ лечения индивидуума, имеющего мутантный ген дистрофина, где указанный способ включает введение индивидууму системы по любому из пунктов 1-26 или клетки по пункту 27.

[000212] Пункт 32. Способ по пункту 30 или 31, где систему или клетку вводят индивидууму внутримышечно, внутривенно или в их комбинации.

Последовательности

SEQ ID NO: 1, AAV ITR

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgccgggctcggcgacctttggtcgcccggcctcagtgcgcg agcgagcgcgcagagagggtggccaactccatcactaggggttcct (SEQ ID NO:1)

SEQ ID NO: 2, JCR143: Последовательность рРНК, нацеленная на ДНК-мишень в области 44 интрона человеческого дистрофина acatttcctctctatacaaatg (SEQ ID NO:2)

SEQ ID NO: 3, JCR120: Последовательность рРНК, нацеленная на ДНК-мишень в области 55 интрона человеческого дистрофина

atatagtaatgaaattattggcac (SEQ ID NO:3)

SEQ ID NO: 4, Остов направляющей РНК SaCas9, остов рРНК tctcgccaacaagttgacgagataaacacggcattttgctttagtagattctgttccagagtactaaaac (SEQ ID NO:4)

SEQ ID NO: 5, Промотор U6

gggttttcgtcctttccacaagatatataaagccaagaaatcgaaatactttcaagttacggtaagcatatgatagccattttaaaac
ataattttaaaactgcaaactacccaagaaattactttctacgtcacgtattttgtactaatatctttgttttacagtcaaattaattccaattatct
ctctaacagccttgatcgatatgcaaataatgaaggaatcatgggaaataggccctc (SEQ ID NO:5)

SEQ ID NO: 6, Промотор H1

gaacgctgacgtcatcaacccgctccaaggaatcgcgggccaggtgactagggggaacacccagcgcgctgcgccct
ggcaggaagatggctgtgagggacaggggagtgggcgccctgcaatatttgcattgctgctatgtgttctgggaaatcaccataaacgtgaaa
tgtctttggatttgggaattctataagttctgtatgagaccac (SEQ ID NO:6)

SEQ ID NO: 7, Промотор EFS

tcgagtggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgccacatgcccacagtcctccgagaagtggggggaggggtcggaat
tgaaccggtgcttagagaagtgggcgcggggtaaacgggaaagtgtgctgactggctccgcttttcccgaggggtgggggagaa
ccgtatataagtcagtagtcgcccgtgaacgttcttttgcgaacgggttgcgcgcagaacacaggtgtcgtgaccgcgg (SEQ ID
NO:7)

SEQ ID NO: 8, Промотор CK8

ctagactagcatgctgcccattgaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgctggttataaataaccagacatgtggct
gcccccccccccccaacactgctgctctaaaaataaacctgcatgccatgttcccgccgaagggccagctgtccccgccagctagac
tcagcacttagtttaggaaccagtgtgcaagtcagccctggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgctgggtc
cggggtgggcacgggtcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcagggggccctccctggggacagccctcctggtagtcac
accctgtaggtcctctatataaaccaggggcacaggggtgcccctcattctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagcc
agccag (SEQ ID NO:8)

SEQ ID NO: 9, Промотор Spc512

gagctccaccgcggtggcgccgctccgcttcggcaccatcctcacgacacccaaatatggcgacgggtgaggaatggtggg
gagttatttttagagcgggtgaggaagtggggcaggcagcaggtgttggcgctctaaaaataactcccgagggtatttttagagcggaggaa
tggtggacacccaaatatggcgacgggtcctcaccgctgccatatttgggtgtccgcccctggccggggccgcattcctggggggccggg
cggtgtccccggcgctcgataaaggctccggggccggcgggcgcccacgagctaccgggaggagcgggaggcgccaagctcta
gaactagtggatccccgggtgcaggaattcgatat (SEQ ID NO:9)

SEQ ID NO: 10, Промотор МНСК7

gtttaaacaagcttgcattgtctaagctagacccttcagattaaaaataactgaggttaaggccctgggttaggggaggtggtgtgag
acgtcctgtctctctctatctgccatcgccctttggggaggaggaatgtgccaaggactaaaaaaggccatggagccagagggg
cgagggcaacagacctttcatgggcaaaccttggggccctgctgtctagcatgcccactacgggtctaggctgccatgtaaggaggca
aggcctggggacacccgagatgctggttataaataaccagacatgtggctgcccccccccccccaacactgctgctctaaaaataac
cctgtccctggtggatccccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgggggactgagggcaggtgtaacaggcttgggggcccagg
gcttatacgtgctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccgccgaagggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagttt
aggaaccagtgtgcaagtcagcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgctgggtccggggtgggca
cggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcagggggccctccctggggacagccctcctggttagtcacacctgtaggt
cctctatataaaccaggggcacaggggtgcccctcattctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcggcg
cgccc (SEQ ID NO:10)

SEQ ID NO: 11, Полинуклеотид, кодирующий SaCas9

aagcggaactacatcctgggcctggacatcggcacaccagcgtgggctacggcatcatcgactacgagacacgggacgtga
tcgatccggcgctgctgggtgttcaagaggccaacgtggaaaacaacgagggcgaggcgagcaagagaggcgccagaaggctgaag
cggcgaggcgggcatagaatccagagagtgaagaagctgctgttcgactacaacctgctgaccgaccacagcgagctgagcggcatca

accctacgagggccagagtgaagggcctgagccagaagctgagcgaggaagagttctctgccgccctgctgcacctggccaagagaag
 aggcgtgcacaacgtgaacgaggtggaagaggacaccggcaacgagctgtccaccaagagcagatcagccggaacagcaaggccc
 tggaagagaaatagctggccgaactgcagctggaacggctgaagaaagacggcgaaagtgcggggcagcatcaacagattcaagacca
 gcgactacgtgaaagaagccaacagctgctgaaggtgcagaaggcctaccaccagctggaccagagcttcatcgacacctacatcgac
 ctgctggaaacccggcgacactactatgagggacctggcgagggcagcccccttcggctggaaggacatcaagaatggtacgagatgct
 gatgggcccactgcacctacttccccgaggaactgcggagcgtgaagtacgcctacaacgccgacctgtacaacgccctgaacgacctga
 acaatctcgtgacaccagggacgagaacgagaagctggaatattacgagaagttccagatcatcgagaacgtgttcaagcagaagaaga
 agccccacctgaagcagatcgccaaagaaatcctcgtgaacgaagaggatattaagggctacagagtaccagcaccggcaagccccga
 gttaccaacctgaaggtgtaccacgacatcaaggacattaccggccggaaagagattattgagaacgccgagctgctggatcagattgcc
 aagatcctgaccttaccagagcagcgaggacatccaggaagaactgaccaatctgaactccgagctgacctagggaagagatcgagca
 gatctctaattgaagggctataccggcaccacaacctgagcctgaaggccatcaacctgatcctggacgagctgtggcacaccaacga
 caaccagatcgctatcttcaaccggctgaagctggtgcccaagaaggtggacctgtcccagcagaaagagatccccaccacctggtgga
 cgacttcatctgagccccgtcgtgaagagaagcttcatccagagcatcaaaagtatcaacgccatcatcaagaagtacggcctgcccaac
 gacatcattatcgagctggcccgcgagaagaactccaaggacggccagaaaatgatcaacgagatgcagaagcggaaccggcgagacca
 acgagcggatcgaggaatcatccggaccaccggcaagagaacgccaagtacatgacgagaagatcaagctgcacgacatgcagga
 aggcaagtgcctgtacagcctggaagccatccctctggaagatctgctgaacaaccccttcaactatgaggtggaccacatcatccccaga
 agcgtgtccttcgacaacagcttcaacaacaaggtgctcgtgaagcaggaagaaaacgcaagaagggcaaccggacccattccagta
 cctgagcagcagcgacagcaagatcagctacgaaaccttcaagaagcacatcctgaatctggccaagggcaaggcgagaatcagcaag
 accaagaaagagtatctgctggaagaacgggacatcaacaggttctccgtgcagaaagacttcatcaaccggaacctggtggataccaga
 tacgccaccagaggcctgatgaacctgctgcggagctacttcagagtgaacaacctggacgtgaaagtgaagtccatcaatggcggcttca
 ccagcttctgcggcggaagtggaaagttaagaaagagcggaaacaaggggtacaagcaccacgccgaggacgccctgatcattgcccaac
 gccgatttcatcttcaagagtggaagaaactggacaaggccaaaaaagtgatgaaaaccagatgttcgaggaaaagcaggccgagag
 catccccgagatcgaaaccgagcagaggtacaaaagagatcttcatccccccaccagatcaagcacattaaggacttcaaggactacaa
 gtacagccaccgggtggacaagaagcctaatagagagctgattaacgacacctgtactccaccgggaaggacgacaagggcaacacc
 ctgatcgtgaacaatctgaacggcctgtacgacaaggacaatgacaagctgaaaaagctgatcaacaagagccccgaaaagctgctgatg
 taccaccagacccccagacctaccagaaactgaagctgattatggaacagtacggcgacgagaagaatcccctgtacaagtactacgag
 gaaaccgggaactacctgaccaagtactccaaaaaggacaacggccccgtgatcaagaagattaagtattacggcaacaaactgaacgc
 ccatctggacatcaccgacgactaccccaacagcagaaacaaggtcgtgaagctgtccctgaagccctacagattcgacgtgtacctgga
 caatggcgtgtacaagttcgtgacctgaagaatctggatgtgatcaaaaaagaaaactactacgaagtgaatagcaagtgtatgaggaa
 gctaagaagctgaagaagatcagcaaccaggccgagtttatgcctccttctacaacaacgatctgatcaagatcaacggcgagctgtata
 gagtgatcggcgtgaacaacgacctgctgaaccggatcgaagtgaacatgatcgacatcacctaccgcgagtacctggaaaacatgaacg
 acaagaggccccccaggatcattaagacaatcgccctcaagaccagagcattaagaagtacagcacagacattctgggcaacctgtatg
 aagtgaatctaagaagcacccctcagatcatcaaaaagggc (SEQ ID NO:11)

SEQ ID NO: 12, Минисигнал полиаденилирования

tagcaataaaggatcggtttattttcattggaagcgtgtgttggtttttgatcagggcgcg (SEQ ID NO:12)

SEQ ID NO: 13, Сигнал полиаденилирования bGH

ctagagctcgtgatcagcctcgactgtgcctctagtgtccagccatctgtgtgttccccctccccgtgccttcttgcaccttgaaggtgcc
 actcccactgtccttcttaataaaatgaggaaattgcatcgcatgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggaca
 gcaaggggggaggattgggaagagaatagcaggcatgctgggga (SEQ ID NO:13)

SEQ ID NO:14, Вариант 1 вектора 1

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgagggcccgccgggctcgggcgacctttggtcgcccgccctcagtgagcg
 agcgagcgcgcagagagggagtgcccaactccatcactaggggttctcgggccTCTAGAGAGGGCCTATTTCCCA
 TGATTCCTTCATATTTGCATATACGATACAAGGCTGTTAGAGAGATAATTGGAATTA
 ATTTGACTGTAAACACAAAGATATTAGTACAAAATACGTGACGTAGAAAGTAATAA
 TTTCTTGGGTAGTTTGCAGTTTTTAAAATTATGTTTTTAAAATGGACTATCATATGCTTA
 CCGTAACTTGAAAGTATTTTCGATTTCTTGGCTTTATATATCTTGTGGAAAGGACGAA
 ACACCGcatttgtagagaggaaatgtgttttagtactctggaacagaatctactaaaacaaggcaaatgccgtgtttatctcgtaa
 ctgttggcgagatttttCTCGAGTCGAGTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACAT
 CGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAG
 AGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT
 CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTT
 CGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTGTCGTGACCGCGGCCATGGCCCCAAAG
 AAGAAGCGGAAGGTCTGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACACTACATCCT
 GGGCCTGGACATCGGCATCACCAGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACAC
 GGGACGTGATCGATGCCGGCGTGCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAAC
 GAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATA
 GAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTGCTGTTTCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGC
 GAGCTGAGCGGCATCAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCT
 GAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGC
 ACAACGTGAACGAGGTGGAAGAGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCA
 GATCAGCCGGAACAGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTG
 GAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCA
 GCGACTACGTGAAAGAAGCCAAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAG
 CTGGACCAGAGCTTCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTA
 CTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGT
 ACGAGATGCTGATGGGCCACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAG
 TACGCCTACAACGCCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATC
 ACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGA
 ACGTGTTCAAGCAGAAGAAGAAGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTC
 GTGAACGAAGAGGATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTT
 CACCAACCTGAAGGTGTACCACGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTA
 TTGAGAACGCCGAGCTGCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGC
 AGCGAGGACATCCAGGAAGAACTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGA
 GATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGA
 AGGCCATCAACCTGATCCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCT
 ATCTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGA
 GATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTT
 CATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCCAACG
 ACATCATTATCGAGCTGGCCCGCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCAGAAAATGATC
 AACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCC

GGACCACCGGCAAAGAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGA
 CATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGC
 TGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCG
 ACAACAGCTTCAACAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGG
 CAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAA
 CCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACC
 AAGAAAGAGTATCTGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGA
 CTTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACC
 TGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAAT
 GGCGGCTTCACCAGCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAA
 GGGGTACAAGCACCACGCCGAGGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTT
 CAAAGAGTGGAAGAACTGGACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTC
 GAGGAAAAGCAGGCCGAGAGCATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAG
 AGATCTTCATCACCCCCACCAGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGT
 ACAGCCACCGGGTGGACAAGAAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTAC
 TCCACCCGGAAGGACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCT
 GTACGACAAGGACAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAG
 CTGCTGATGTACCACCACGACCCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGA
 ACAGTACGGCGACGAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAAC
 ACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTAT
 TACGGCAACAACTGAACGCCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAG
 AAACAAGGTCGTGAAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACA
 ATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAAC
 TACTACGAAGTGAATAGCAAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAG
 CAACCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGG
 CGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGA
 ACATGATCGACATCACCTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCC
 CCCAGGATCATTAAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATTAGAAGTACAGCAC
 AGACATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCA
 AAAAGGGCAAAGGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAA
 AGggatcctaccatac gatgttccagattacgttaccatac gatgttccagattacgttaccCatac gatgttccagattacgttaaG
 aattctagcaataaaggatcgtttattttcattggaagcgtgtgttggtttttgatcaggcgcgGGTACCGAACGCTGACGTC
 ATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGGGCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCG
 CGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGATGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAA
 TATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGA
 TTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCAC
 GTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCT
 CGTCAACTTGTTGGCGAGATTTTTTGGTACCaggaaccctagtgatggagtggccactccctctctgcgcgt
 cgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacggcggtttgcccggcgccctcagtgcgcgagcgagcgcgcgcgc
 tgcctgcagggcgccctgatgcggtattttctccttacgcacgtgtgcggtatttcacaccgcatacgtcaagcaaccatagtacgcgcct

gtagcggcgcaattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttgcagcgccttagcgccttctcttctctt
cttcccttcttctctcgcacgttcgcggcgttccccgtcaagctctaaatcgggggtccctttaggggtccgatttagtgccttacggcacct
cgacccccaaaaaacttgatttgggtgatggttacgtagtgggccatcgccctgatagacgggttttcgccccttgacgttggagtcacgttct
ttaatagtgactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcgggctattcttttgattataagggatttgcgatttcggcctattgg
ttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatftaacgcgaatttaacaaaaatftaacgtttacaattttatggtgcactctcagtaaatctgctctgat
gccgcatagttaagccagccccgacacccgccaacacccgctgacgcgcctgacgggcttgtctgctccggcatccgcttacagacaa
gctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgcagaggtttccacgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgcctat
tttataggttaatgtcatgataataatggttcttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgttttttctaaa
tacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttcctgtg
tcgcccctattcccttttttcgggcattttgccttctctgttttgcaccagaaacgctgggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgc
acgagtgggttacatcgaactggatcacaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcactttttaa
gttctgctatgtggcgcggtattatcccgattgacgcggggcaagagcaactcggtcgcccatacactattctcagaatgacttgggtgagt
actcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgtgccataaccatgagtataacactgcggc
caacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttggga
accggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaactgg
cgaactacttactctagcttcccggaacaattaatagactggatggaggcggataaaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccgg
ctggctgtttattgtgataaatctggagccggtgagcgtggaagccgcggatcattgcagcactggggccagatggaagccctcccg
atcgtagtattctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattg
gtaactgtcagaccaagtftactcatatatacttttagattgatttaaaacttcaatttttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctca
tgacaaaaatecccttaacgtgagtttcttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgatccttttttctgcgcg
taatctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctaccagcgggtgttgggttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactgg
cttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagtttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacct
cgctctgctaactctgttaccagtggctgtgccagtggcgataagtcgtgttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggg
gcagcggctcgggctgaacgggggggtcgtgcacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgag
ctatgagaaaagccacgcttccgaaggagaaaggcggacaggtatccgtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgag
ggagcttccaggggaaacgctggtatctttatagtcctgtcgggttccacacctgacttgagcgtcgatttttgatgctcgtcaggg
ggcgaggagcctatgaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcttgcccttttgccttcttgcacatgt

SEQ ID NO:15, Вариант 2 вектора 1

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgagccgcccgggcgtcgggcgaccttggctgcccggcctcagtgcgcg
agcgagcgcgcagagaggagtgccaaactccatcactaggggttctgcggccTCTAGAGAGGGCCTATTTCCCA
TGATTCCTTCATATTTGCATATACGATACAAGGCTGTTAGAGAGATAATTGGAATTA
ATTTGACTGTAAACACAAAGATATTAGTACAAAATACGTGACGTAGAAAGTAATAA
TTTCTTGGGTAGTTTGCAGTTTTTAAAATTATGTTTTTAAAATGGACTATCATATGCTTA
CCGTAACCTGAAAGTATTTTCGATTTCTTGGCTTTATATATCTTGTGGAAAGGACGAA
ACACCGcatttgtatagagaggaaatgtgttttagtactctggaacagaatctactaaaacaaggcaaatgccgtgtttatctcgtcaa
cttgttggcgagatttttCTCGAGCTAGACTAGCATGCTGCCCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGG
GGACACCCGAGATGCCTGGTTATAATTAACCCAGACATGTGGCTGCCCCCCCCCCCC
CAACACCTGCTGCCTCTAAAAATAACCCTGCATGCCATGTTCCCGGCGAAGGGCCAG
CTGTCCCCCGCCAGCTAGACTCAGCACTTAGTTTAGGAACCAAGTGAGCAAGTCAGCC
CTTGGGGCAGCCCATACAAGGCCATGGGGCTGGGCAAGCTGCACGCCTGGGTCCGG

GGTGGGCACGGTGCCCCGGGCAACGAGCTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGGCCCCCT
CCCTGGGGACAGCCCCCTCCTGGCTAGTCACACCCTGTAGGCTCCTCTATATAACCCA
GGGGCACAGGGGGCTGCCCTCATTCTACCACCACCTCCACAGCACAGACAGACTC
AGGAGCCAGCCAGCaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTTCGGTATCC
ACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACCTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACC
AGCGTGGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGT
GCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGA
GGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGC
TGCTGTTTCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCT
ACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCC
GCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAG
AGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGC
CCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGC
GAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCA
AACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGAC
ACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGG
CAGCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGGCCACT
GCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTG
TACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAA
GCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGA
AGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAG
GGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCA
CGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGG
ATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAA
CTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCT
GAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGG
ACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTG
GTGCCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGA
CGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGAT
CAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCC
GCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAA
CCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAAC
GCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCT
GTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGA
GGTGGAACCATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGG
TGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTAC
CTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAA
TCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAA
GAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGT
GGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAG

TGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGC
 GGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACCACGCCGA
 GGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGG
 ACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAG
 CATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCCACC
 AGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAG
 AAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAA
 GGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACA
 AGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGAC
 CCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAA
 TCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTGACCAAGTACTCCAAAA
 AGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCC
 CATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTGAAGCTGTC
 CCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGAC
 CGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACCTACTACGAAGTGAATAGCAAGT
 GCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCC
 TCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGC
 GTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCG
 CGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCG
 CCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTAT
 GAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAGGCCGGCGG
 CCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatacagatgttccagattacgctt
 accatacagatgttccagattacgcttaccCatacagatgttccagattacgcttaaGaattctagcaataaaggatcggttattttcattggaagc
 gtgtgttgggttttggatcaggcgGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCG
 CGGGCCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGA
 TGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCGCTATGTGTTC
 TGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGT
 ATGAGACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAA
 TCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTT
 TGGTACCaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgcctcactgaggccggcgaccaaagtcgc
 ccgacgcccgggctttgcccggcgccctcagtgagcgagcgagcgcgagctgcctgcagggcgccctgatcggtattttctccttac
 gcatctgtcggtatttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtagcgccctgtagcggcgcaataagcgcgcggtgtggtggtta
 cgcgcagcgtgaccgtacacttgccagcgccctagcgcccgctcttctgctttcttcccttcttctcgcacgttcgcccgtttccccgt
 caagctctaaatcggggctcccttttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgacccccaaaaacttgattgggtgatggttcacgta
 gtgggccatcgccctgatagacgggttttgccttttgacgttggagtcacgttcttaatagtgactctgttccaaactggaacaacactc
 aaccctatctcgggctattcttttgattataagggttttgcgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaa
 ttttaacaaaaatlaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagccccgacaccgccaac
 acccgctgacgcgcctgacgggcttctctgctcccgacccgttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgcagagg
 ttttaccgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaaggcctcgtgatacgccctattttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacg
 tcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgttttttctaatacatcacaatatgtatccgctcatgacacaataaccct

gataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagatgagatattcaacatttccgtgtcgcccttattccctttttgcggcattttgccttctgtttt
tgctcaccagaaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggtttacatcgaactggatcacaacagcggt
aagatccttgagagttttgccccgaagaacgtttccaatgatgagcacttttaaaagtctgctatgtggcgcggtattatcccgattgacgcc
gggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttaccgatggcat
gacagtaagagaattatgcagtgtgccataacatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgaggaccgaaggag
ctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcg
tgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattataga
ctggatggaggcgggataaagttgcaggaccacttctgcgtcgcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagc
gtggaagccgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgatcgtagtatctacacgacggggagtcaggcaactat
ggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattg
atttaaaacttcattttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgag
cgtcagacccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttctgcgcgtaactgtctgcttgcacaacaaaaaccaccgctacc
agcgggtggtttgtttccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaataactgtccttcta
gtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgctaactcgttaccagtggctgctgccagt
gcgataagtcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctcggtggaacgggggggttcgtgcacac
agcccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatactacagcgtgagctatgagaaagcggcagcttcccgaaggagaaa
ggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggaaacgcctggtatctttatagt
cctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgtattttgatgctcgtcagggggcgagcctatggaaaaacgccagcaacgcgg
cctttttacgggttctggccttttctgctgacctttgctcacatgt

SEQ ID NO: 16, Вариант 1 вектора 2

cctgcaggcagctgcgcgtcgtcgtcactgagccgcccgggctcgggcgaccttttggtcgccggcctcagtgagcg
agcagcgcgcagagaggagtgccaactccatcactaggggttctgcggccTCTAGAAAAatctcgaacaagttgacga
gataaacacggcattttgccttgttttagtagattctgtttccagagtactaaacacatttctctatatacaaatgCGGTGTTTCGTC
CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
ATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAAACACTGCAAACACTACCCAAGAAATTAT
TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
ATAGGCCCTCCTCGAGTCGAGTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACAT
CGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAG
AGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT
CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTT
CGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTGTCGTGACCGCGGCCATGGCCCCAAAG
AAGAAGCGGAAGGTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACACTACATCCT
GGGCCTGGACATCGGCATCACCAGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACAC
GGGACGTGATCGATGCCGGCGTGCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAAC
GAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATA
GAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTGCTGTTGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGC
GAGCTGAGCGGCATCAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCT
GAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGC
ACAACGTGAACGAGGTGGAAGAGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCA

GATCAGCCGGAACAGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACTGCAGCTG
GAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCA
GCGACTACGTGAAAGAAGCCAAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAG
CTGGACCAGAGCTTCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTA
CTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGT
ACGAGATGCTGATGGGCCACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAG
TACGCCTACAACGCCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATC
ACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGA
ACGTGTTCAAGCAGAAGAAGAAGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTC
GTGAACGAAGAGGATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTT
CACCAACCTGAAGGTGTACCACGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTA
TTGAGAACGCCGAGCTGCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGC
AGCGAGGACATCCAGGAAGAACTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGA
GATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGA
AGGCCATCAACCTGATCCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCT
ATCTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGA
GATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTT
CATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACG
ACATCATTATCGAGCTGGCCCGCGAGAAGAACTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATC
AACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCC
GGACCACCGGCAAAGAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGA
CATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGC
TGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCG
ACAACAGCTTCAACAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGG
CAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAA
CCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACC
AAGAAAGAGTATCTGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGA
CTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACC
TGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAAT
GGCGGCTTCACCAGCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAA
GGGGTACAAGCACACGCCGAGGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTT
CAAAGAGTGGAAGAACTGGACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTC
GAGGAAAAGCAGGCCGAGAGCATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAG
AGATCTTCATCACCCCCCACCAGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGT
ACAGCCACCGGGTGGACAAGAAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTAC
TCCACCCGGAAGGACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCT
GTACGACAAGGACAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAG
CTGCTGATGTACCACCACGACCCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGA
ACAGTACGGCGACGAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAAC
ACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTAT

TACGGCAACAACTGAACGCCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAG
 AAACAAGGTCGTGAAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACA
 ATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAAC
 TACTACGAAGTGAATAGCAAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAG
 CAACCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGG
 CGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGA
 ACATGATCGACATCACCTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCC
 CCCAGGATCATTAAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATTAGAAGTACAGCAC
 AGACATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCA
 AAAAGGGCAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAA
 AGggatcctaccatac gatgtccagattacgcttaccatac gatgtccagattacgcttaccCatac gatgtccagattacgcttaaG
 aattctagcaataaaggatcgtttattttcattggaagcgtgtgttggtttttgatcaggcgcgGGTACCGAACGCTGACGTC
 ATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGGGCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCG
 CGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGATGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAA
 TATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGA
 TTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCAC
 GTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCT
 CGTCAACTTGTTGGCGAGATTTTTGGTACCaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgt
 cgctcgctcactgaggccggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgccggcgccctcagtgagcgagcgagcgcgagc
 tgctgcagggcgccctgatgcggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtaacgcgcct
 gtacggcgccatlaagcgcgggcggtgtgtgtgttacgcgcagcgtgaccgctacacttgccagcgccctagcgcccgtcctttcgttt
 ctcccttcttctcgcacgttcgcccgtttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgctttacggcacct
 cgacccccaaaaacttgatttgggtgatgtttcacgtatggggccatcgccctgatagacggttttcgcctttgacgttggagtccacgttct
 ttaatagtgactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcgggctattcttttgattataagggattttgccgatttcggcctattgg
 ttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatftaacgcgaatttaacaaaatattaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgat
 gccgcatagttaagccagccccgacaccgccaacaccgctgacgcgcctgacgggcttgtctgctcccgcatccgcttacagacaa
 gctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttaccgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgctat
 ttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgttttttctaaa
 tacattcaaatatgtatccgtcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtg
 tcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttctgttttctcaccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgc
 acgagtgggttacatgaactggatctcaacagcggttaagatccttgagagttttcggccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaa
 gttctgctatgtggcgcggtattatcccgatttgacgcccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagt
 actcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgtgccataaccatgagtataacactgcggc
 caacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttggga
 accggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgctgtgaatggcaacaacgttgcgcaactattaactgg
 cgaacttacttctagcttcccggcaacaattaagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccgg
 ctggctgttttattgtgataaatctggagccggtgagcgtggaagccgcggtatcattgcagcactggggccagatggaagccctccgt
 atcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattg
 gtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcaatttttaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatc
 tgacaaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcg

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgagggccgccggggcgctcgggcgacctttggtcgccccggcctcagtgagcg
agcgagcgcgcagagagggagtgggcaactccatcactaggggttctcgcggccTCTAGAaaaaatctcgccaacaagttgacga
gataaacacggcattttgccttgttttagtagattctgtttccagagtlactaaaacacatttcctctctatacaaatgCGGTGTTTCGTC
CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
ATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAAACACTGCAAACACTACCCAAGAAATTAT
TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
ATAGGCCCTCCTCGAGCTAGACTAGCATGCTGCCCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGG
GGACACCCGAGATGCCTGGTTATAATTAACCCAGACATGTGGCTGCCCCCCCCCCCC
CAACACCTGCTGCCTCTAAAAATAACCCTGCATGCCATGTTCCCGGCGAAGGGCCAG
CTGTCCCCCGCCAGCTAGACTCAGCACTTAGTTTtaggaaccagtgagcaagtcagcc
CTTGGGGCAGCCCATAAAGGCCATGGGGCTGGGCAAGCTGCACGCCTGGGTCCGG
GGTGGGCACGGTGCCCGGGCAACGAGCTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGGCCCCCT
CCCTGGGGACAGCCCCCTCTGGCTAGTCACACCCTGTAGGCTCCTCTATATAACCCA
GGGGCACAGGGGCTGCCCTCATTCTACCACCACCTCCACAGCACAGACAGACACTC
AGGAGCCAGCCAGCaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCGGTATCC
ACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACC
AGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGT
GCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGA
GGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGC
TGCTGTTCTGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCT
ACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCC
GCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAG
AGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGC
CCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGC
GAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCA
AACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGAC
ACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGG
CAGCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACT
GCACCTACTTCCCCGAGGAACCTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTG
TACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAA
GCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGA

AGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAG
GGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCA
CGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGG
ATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAA
CTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCT
GAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGG
ACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTG
GTGCCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGA
CGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGAT
CAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCCC
GCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAA
CCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAAC
GCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCT
GTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGA
GGTGGAACCATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGG
TGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTAC
CTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAA
TCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAA
GAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGT
GGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAG
TGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGC
GGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACCACGCCGA
GGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGG
ACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAG
CATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCCACC
AGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAG
AAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAA
GGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACA
AGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGAC
CCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAA
TCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTACCTGACCAAGTACTCCAAAA
AGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCC
CATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTGAAGCTGTC
CCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGAC
CGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACCTACTACGAAGTGAATAGCAAGT
GCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCC
TCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGC
GTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCG
CGAGTACCTGGAACACATGAACGACAAGAGGCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCG
CCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTAT

GAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGC AAAAGGCCGCGCG
CCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatcatgatgttccagattacgctt
accatcatgatgttccagattacgcttaccCatacatgatgttccagattacgcttaaGaattctagcaataaaggatcgtttattttcattggaagc
gtgtgttggtttttgatcaggcgcgGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCG
CGGGCCCAGTGTC ACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGA
TGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTTCGCTATGTGTTC
TGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGT
ATGAGACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAA
TCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTT
TGGTACCaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgggcgaccaaaggtcgc
ccgacgccccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgagctgcctgcaggggcgcctgalgcggtattttccttac
gcatctgtgcggtattttcacaccgcatactcaaagcaaccatagtacgcgcctgtagcggcgcaataagcgcgggcggtgtgtgtggtta
cgcgcagcgtgaccgctacacttgccagcgccctagcgcccgtcctttcgtttcttcccttcccttctcgcgcacgttcgccggcttccccgt
caagctctaaatcgggggctccctttaggggttccgattttagtgccttacggcacctcgacccccaaaaacttgattgggtgatggttcacgta
gtgggccaatcgccctgatagacggtttttcgcccttgacgttggagtcacacgttcttaataagtggaactctgttccaaactggaacaacactc
aaccttatctcgggctattctttgatttataagggattttgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaa
ttttaacaaaaatattaacgtttacaattttatgggtgcaactctcagtacaatctgctctgalgccgcatagttaagccagccccgacaccgccaac
accgctgacgcgcctgacgggcttgcctgcctccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagagg
ttttaccgtcatcacgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttatagggttaatgtcatgataataatggtttcttagacg
tcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgttttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccct
gataaatgcttcaataatattgaaaaaggaaagatgatgattcaacatttccgtgtcgccttattcccttttttcgggcattttgccttctgttt
tgctcaccagaaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacagtggttggttacatcgaactggatctcaacagcgggt
aagatccttgagagttttcggcccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaaagtctgctatgtggcgcggtattatcccgatttgacgcc
gggcaagagcaactcgggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcat
gacagtaagagaattatgcagtgtctgccataacctagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggag
ctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttggaaccggagctgaatgaagccataccaacgacgagcg
tgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaaactggcgaactacttactctagcttcccgcaacaattaataga
ctggatggaggcgggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgtctgataaatctggagccgggtgagc
gtggaagccgcgggtatcattgcagcactggggccagatggtlaagccctcccgatcgtatgtatctacacgacggggagtcaggcaactat
ggatgaacgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattggttaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattg
atttaaaacttcatttttaatttaaaaagatctagggtgaagatcctttttgataatctcatgaccaaaaacccttaacgtgagttttcgttccactgag
cgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaactctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctacc
agcgggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaataactgtccttcta
gtgtagccgtagtttagccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacataacctcgtctgctaactctgttaccagtggtctgtgccagt
gcgataagtcgtgtcttaccgggttggaactcaagacgatagttaccggataaaggcgagcggctgggctgaacgggggggttcgtgcacac
agcccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaaggagagaaa
ggcggacaggtatccggtaagcggcgagggtcggaacaggagagcgcacaggggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagt
cctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcagggggggcgagcctatggaaaaacgccagcaacgcgg
cctttttacgggttcttggcctttttgctggccttttgcctcacatgt

SEQ ID NO: 18, Вариант 3 вектора 2

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgagggcccgccggcgctcggcgaccttttggtcgccggcctcagtgagcg
 agcgagcgcgcagagagggagtgccaactccatcactaggggttctcgcggccTCTAGAAAAatctcgccaacaagttgacga
 gataaacacggcattttgcttgttttagtagattctgtttccagagtactaaacacatttctctatatacaaatgCGGTGTTTCGTC
 CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
 ATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAAACACTGCAAACACTACCCAAGAAATTAT
 TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
 CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
 ATAGGCCCTCCTCGAGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGTCCGCCtCGGCACCATC
 CTCACGACACCCAAATATGGCGACGGGTGAGGAATGGTGGGGAGTTATTTTTAGAG
 CGGTGAGGAAGGTGGGCAGGCAGCAGGTGTTGGCGCTCTAAAAATAACTCCCGGGA
 GTTATTTTTAGAGCGGAGGAATGGTGGACACCCAAATATGGCGACGGTTCCTCACCC
 GTCGCCATATTTGGGTGTCCGCCCTCGGCCGGGGCCGCATTCCTGGGGGGCCGGGCGG
 TGCTCCCGCCCGCCTCGATAAAAGGCTCCGGGGCCGGCGGCGGCCACGAGCTACC
 CGGAGGAGCGGGAGGCGCCAAGCTCTAGAAGTAGTGGATCCCCCGGGCTGCAGGAA
 TTCGATATaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCTGGTATCCACGGAG
 TCCCAGCAGCCAAGCGGAAGTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACCAGCGTG
 GGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGTGCGGCT
 GTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGCGCC
 AGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTGCTGT
 TCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCTACGAG
 GCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCT
 GCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAGAGGAC
 ACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGCCCTGG
 AAGAGAAATACGTGGCCGAAGTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGT
 GCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCAAACAG
 CTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGACACCTA
 CATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCC
 CCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACTGCACC
 TACTTCCCCGAGGAAGTGCAGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTGTACAA
 CGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGG
 AATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGAAGCCC
 ACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAGGGCTA
 CAGAGTGACCAGCACCGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCACGACA
 TCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGGATCAG
 ATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAAGTAC
 CAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGG
 GCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGGACGAG
 CTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCC
 AAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTT
 CATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACG

CCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCCCGCGAG
 AAGAACTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGC
 AGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAACGCCAA
 GTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACA
 GCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGG
 ACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGGTGCTCG
 TGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGGCAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAG
 CAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGG
 CCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAAGAACG
 GGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATA
 CCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAAC
 AACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGCGGCG
 GAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACCACGCCGAGGAC
 GCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGGACAA
 GGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAGCATG
 CCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCACCAGAT
 CAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAGAAGC
 CTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAAGGGC
 AACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACAAGCT
 GAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGACCCCC
 AGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAATCCC
 CTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACTACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGA
 CAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCCCATC
 TGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTGAAGCTGTCCCTG
 AAGCCCTACAGATTTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTG
 AAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACTACTACGAAGTGAATAGCAAGTGCTA
 TGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCT
 TCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTG
 AACACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCGCGA
 GTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGGCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCGCCT
 CCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTATGAA
 GTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAAGGCCGGCGGCCAC
 GAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatac gatgtccagattacgcttaccata
 c gatgtccagattacgcttaccCatac gatgtccagattacgcttaaGaattctagcaataaaggatcgtttatcttcattggaagcgtgtgtt
 ggtttttgatcagcgcgGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGG
 CCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGATGGC
 TGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGG
 AAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGA
 GACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTA
 CTAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTTTTGGT

ACCaggaacccctagtgatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcactgaggccggcgaccaaaggctgcccagc
 cccgggctttgccccggcggcctcagtgagcgagcgagcgagctgctgcagggcgccctgatgcgggtatcttcttaccgatct
 gtgcgggtatctcacaccgcatacgtcaaaaccaatagtagcgccctgtagcggcgcaatgaagcgcggggtgtggtggttacgcgc
 agcgtgaccgctacacttgcagcgccctagcgcccgtcctttcgtttcttcccttcttctgccacgttcgcccgtttccccgtcaagc
 tctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgacccccaaaaaacttgatttgggtgatggttcacgtagtgggc
 catcgccctgatagacgggttttgcctttgacgttggagtcacgttctttaaagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaacccta
 tctcgggctattctttgatttataagggaatttgcgatttgcgctatttgggtaaaaaatgagctgatttaacaaaaattaacgcgaattttaa
 aaatattaacgtttacaattttatggtgcactctcagtaaatctgctctgatgcccatagtttaagccagccccgacaccgccaacaccgc
 tgacgcgcctgacgggcttctctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgcagagggtttcac
 cgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtatagcctatctttataggttaatgtcatgataataatggttcttagacgtcaggt
 ggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatctgttttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacctgataaa
 tgettcaataatattgaaaaaggagagtagtattcaacatttccgtgtcgccttattccctttttcgggcattttgccttctgttttctca
 cccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggtttacatgaactggatctcaacagcggttaagatc
 cttagagattttgccccgaagaacgtttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggca
 agagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagtcacagaaaagcatcttaccgatggcatgacagt
 aagagaattatgcagtgtgccataacctgagtataactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaacc
 gctttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgcttgcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacac
 cacgatgcctgtagcaatggcaaacgttgcgcaactattaactggcgaaacttacttctagcttcccggcaacaattaatagactggat
 ggaggcggtataaagttgcaggaccacttctgcgctcgcccttccgggtggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtggaa
 gccgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtatctacacgacggggagtcaggcaactatggatga
 acgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcatttgtaactgtcagaccaagtttactcatatacttttagattgatttaa
 acttcattttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacaaaaacccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcag
 accccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttctgcgcgtaactgtctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctaccagcgtt
 ggtttgtttgccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggttaactggcttcagcagagcgagataccaataactgtccttctagttagc
 cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgtaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgata
 agtcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgagcggtcgggctgaacggggggttcgtgcacacagccca
 gcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgcacgcttcccgaaggagaaaggcgga
 caggatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcg
 ggttccgccactctgacttgagcgtcgattttgtgatgctcgtcagggggggcgagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttac
 ggttcttggccttttctggtcccttttctcacatgt

SEQ ID NO: 19, Вариант 4 вектора 2

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgaggccggcggtcggcgacctttggtcggcggcctcagtgagcg
 agcgagcgcgagagaggagtgccaaactccatcactaggggttctgcggccTCTAGAAAAatctcgccaacaagttgacga
 gataaacacggcattttgcttgttttagtagattctgtttccagagtactaaacacatttctctatacaaatgCGGTGTTTCGTC
 CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
 ATATGATAGTCCATTTTAAACATAATTTTAAACTGCAAACCTACCCAAGAAATTAT
 TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
 CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
 ATAGGCCCTCctcagGtttaacaagcttgcattgtaagctagacccttcagattaaaaataactgaggttaaggcgctgggtag
 gggaggtggtgtgagacgctcctgtctctctctatctgcccatcgccctttggggaggagggaatgtgcccaaggactaaaaaaaggcca

tggagccagaggggaggggcaacagacctttcatgggcaaaccttggggccctgctgtctagcatccccactacgggtctaggtgcc
 catgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataaattaaccagacatgtggctgcccccccccccaacacctgct
 gcctctaaaaataaacctgtccctggtggatcccctgcctgcgaagatcttgaacaaggctgtgggggactgagggcaggtgtaacagg
 ctggggggccagggttatactgctggtggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggccagctgtccccgccagctag
 actcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgg
 gtccgggggtgggcacggtgccccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcagggggccctccctggggacagccccctctggctagt
 cacacctgtaggctcctctatataaaccaggggcacaggggctgcctcattctaccaccacctccacagcacagacagacactcagga
 gccagccagcgggcgccccaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTTCGGTATCCA
 CGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAAGTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACCA
 GCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGTG
 CGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAG
 GCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGCT
 GCTGTTCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCT
 ACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCC
 GCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAG
 AGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGC
 CCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAAGTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGC
 GAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCA
 AACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGAC
 ACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGG
 CAGCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACT
 GCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTG
 TACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAA
 GCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGA
 AGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAG
 GGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCA
 CGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGG
 ATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAA
 CTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCT
 GAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGG
 ACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTG
 GTGCCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGA
 CGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGAT
 CAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCC
 GCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAA
 CCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAAC
 GCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCT
 GTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGA
 GGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGG
 TGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTAC

CTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAA
TCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAA
GAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGT
GGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAG
TGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGC
GGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACCACGCCGA
GGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGG
ACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAG
CATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCACC
AGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAG
AAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAA
GGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACA
AGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGAC
CCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAA
TCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACTACCTGACCAAGTACTCCAAAA
AGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCC
CATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTGAAGCTGTC
CCTGAAGCCCTACAGATTTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGAC
CGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACCTACTACGAAGTGAATAGCAAGT
GCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCC
TCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGC
GTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCG
CGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCG
CCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTAT
GAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAAGGCCGGCGG
CCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatac gatgttccagattacgctt
accatac gatgttccagattacgcttaccCatac gatgttccagattacgcttaaGaattctagcaataaaggatcggtttattttcattggaagc
gtgtgttggtttttgatcaggcgcgGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCG
CGGGCCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGA
TGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCGCTATGTGTTC
TGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGT
ATGAGACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAA
TCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTT
TGGTACCaggaacccctagtgatggagttggccactcctctctgcgcgctcgcgcactgaggccgggcgaccaaaggtcgc
ccgacgcccgggctttgcccgggcgccctcagtgagcgcgcgagcgcgcagctgcctgcagggcgccctgatgcgggtattttctccttac
gcatctgtgcgggtattttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtagcgcgcctgtagcggcgcatlaagcgcggcggggtgtggtggtta
cgcgcagcgtgaccgctacacttgccagcgccttagcgcgcctcttctgcttttcttcccttcttctcgcacgttcgccggctttcccccgt
caagctctaaatcgggggctcccttttagggttccgattttagtgcttttacggcacctcgacccccaaaaaacttgatttgggtgatggttcacgta
gtgggcatcgccctgatagacggtttttgccctttgacgttggagtcacgttctttaatagtggaactctgttccaaactggaacaacactc
aacccctatctcgggctattcttttgatttataaggggattttgccgatttcggcctatttggttaaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaa

ttttaacaaaataattaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgcccatagttaagccagccccgacacccgccaac
 acccgctgacgcgccctgacgggcttgtctgtccccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagagg
 ttttcaccgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacg
 tcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttattttctaataacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccc
 gataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagatgagatattcaacattccgtgtcgccttattccctttttgcggcattttgcttctgtttt
 tgctcaccagaaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggtttacatcgaactggatctcaacagcggt
 aagatccttgagagttttgccccgaagaacgtttccaatgatgagcacttttaaagtctgctatgtggcgcggtattatcccgattgacgcc
 gggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagttaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcat
 gacagtaagagaattatgcagtgtgccataacatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggag
 ctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcg
 tgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaacatttaactggcgaactacttacttagcttcccggcaacaattataga
 ctggatggagggcgataaagtgcaggaccacttctgcgtcggccctccggctggctggtttattgtgataaatctggagccgggtgagc
 gtggaagccgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgatcgtagtattctacacgacggggagtcaggcaactat
 ggatgaacgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagttactcatatatacttttagattg
 atttaaaacttcattttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacaaaatcccttaacgtgagtttctgctccactgag
 cgtcagacccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttctgcgcgtaactgtctgcttgcacaacaaaaaacaccgctacc
 agcgggtgggttgggttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaataactgtccttcta
 gtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgctaactctgttaccagtggctgctgccagt
 gcgataagtcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacgggggggttcgtgcacac
 agcccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcggcagcttcccgaaggagaaa
 ggccgacaggtatccggtaagcggcagggcgggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggatctttatagt
 cctgtcgggttccgacactctgacttgagcgtcattttgtgatgtcgtcagggggcgaggcctatggaaaaacgccagcaacgcgg
 cctttttacgggttctggccttttgcctggttgcacatgt

SEQ ID NO: 20, Вариант 1 вектора 3

cctgcaggcagctgcgcgtcgtcgtcactgagggcccgggcgctggggcgaccttgggtgccccggcctcagtgagcg
 agcgagcgcgcagagaggagtgccaactccatcactaggggttctgcggccTCTAGAAAAatctcgccaacaagttgacga
 gataaacacggcattttgccttgttttagtagattctgtttccagagtactaaacacatttctctctatacaaatgCGGTGTTTCGTC
 CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
 ATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAAACACTGCAAACACTACCCAAGAAATTAT
 TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
 CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
 ATAGGCCCTCCTCGAGTCGAGTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACAT
 CGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCCTAG
 AGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT
 CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTT
 CGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTGTCGTGACCGCGGCCATGGCCCCAAAG
 AAGAAGCGGAAGGTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACACTACATCCT
 GGGCCTGGACATCGGCATCACCAGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACAC
 GGGACGTGATCGATGCCGGCGTGC GGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAAC
 GAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATA

GAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTGCTGTTTCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGC
GAGCTGAGCGGCATCAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCT
GAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGGCGTGC
ACAACGTGAACGAGGTGGAAGAGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCA
GATCAGCCGGAACAGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACTGCAGCTG
GAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCA
GCGACTACGTGAAAGAAGCCAAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAG
CTGGACCAGAGCTTCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTA
CTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGT
ACGAGATGCTGATGGGCCACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAG
TACGCCTACAACGCCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATC
ACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGA
ACGTGTTCAAGCAGAAGAAGAAGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTC
GTGAACGAAGAGGATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTT
CACCAACCTGAAGGTGTACCACGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTA
TTGAGAACGCCGAGCTGCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGC
AGCGAGGACATCCAGGAAGAACTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGA
GATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGA
AGGCCATCAACCTGATCCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCT
ATCTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGA
GATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTT
CATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACG
ACATCATTATCGAGCTGGCCCGCGAGAAGAACTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATC
AACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCC
GGACCACCGGCAAAGAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGA
CATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGC
TGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCG
ACAACAGCTTCAACAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGG
CAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAA
CCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACC
AAGAAAGAGTATCTGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGA
CTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACC
TGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAAT
GGCGGCTTCACCAGCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAA
GGGGTACAAGCACACGCCGAGGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTT
CAAAGAGTGGAAGAACTGGACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTC
GAGGAAAAGCAGGCCGAGAGCATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAG
AGATCTTCATCACCCCCCACCAGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGT
ACAGCCACCGGGTGGACAAGAAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTAC
TCCACCCGGAAGGACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCT

GTACGACAAGGACAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAG
 CTGCTGATGTACCACCACGACCCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGA
 ACAGTACGGCGACGAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAAC
 ACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTAT
 TACGGCAACAACTGAACGCCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAG
 AAACAAGGTCGTGAAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACA
 ATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAAC
 TACTACGAAGTGAATAGCAAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAG
 CAACCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGG
 CGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGA
 ACATGATCGACATCACCTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCC
 CCCAGGATCATTAAAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCAC
 AGACATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCA
 AAAAGGGCAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAA
 AGggatectaccatac gatgttccagattacgttaccatac gatgttccagattacgttaccCatac gatgttccagattacgttacc
 AATTCctagagctcgctgatcagcctcgactgtgccttctagtgtccagccatctgttgttggccctccccgtgccttcttgaccctgg
 aaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaatgcatcgactgtctgagtaggtgtcattctattctgggggtgggggtggg
 gcaggacagcaagggggaggattgggaagagaatagcaggcatgtggggaGGTACCGAACGCTGACGTCATCA
 ACCCGCTCCAAGGAATCGCGGGGCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCG
 TCGCCCTGGCAGGAAGATGGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATT
 TGCATGTCGCTATGTGTTCTGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTG
 GGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTT
 TAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTC
 AACTTGTTGGCGAGATTTTTGGTACAggaacccctagt gatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgc
 ctactgaggccggggcagcaaaaggtcggcgacggcgggccttggccggcgccctcagt gaggcagcgagcgcgagctgcctg
 caggggcgcctgatgcggtattttctccttacgcactctgtcgggtatttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtagcgccctgtagcg
 gcgcalttaagcgcggcggtgtggtgttacgcgcagcgtgaccgctacacttgcagcgccctagcgcccgctccttctccttctccctt
 cctttctgccacgttcgccgctttccccgtcaagctctaaatcgggggtccctttagggttccgatttagtgccttacggcacctcgacccc
 aaaaaacttgatttgggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacggttttcgcccttgacgttggagtccacgttcttaatagt
 ggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcgggctattcttttgatttataagggttttgcgatttcggcctattgttataaaa
 atgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccga
 tagttaagccagccccgacacccgccaacacccgctgacgcgccctgacgggcttgtctgctcccgcatccgcttacagacaagctgtg
 accgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttcacgctacaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgcctattttata
 ggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgttttttctaatacatt
 caaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgc
 ctattcccttttttgcggcattttgccttctgttttctcaccagaaacgctggtgaaagtaaagatgctgaagatcagttgggtgcacga
 gtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtgaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaaagtct
 gctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactc
 accagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgtgccataaccatgagtataacactcgggccaac
 ttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccg

gagctgaatgaagccataccaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaactggcgaa
ctacttactctagcttccccggcaacaattaatagactggatggagggcgataaagttgcaggaccacttctgcgctcgcccttccggctggc
tggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtggaagccgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgatcgt
agttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaac
tgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcatTTTTtaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacc
aaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttctgcgctaatct
gctgcttgcaaaaaaaaaccaccgctaccagcgggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttca
gcagagcgcagataccaataactgtccttctagttagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtc
tgctaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggtggactcaagacgatagttaccggataaggcgcag
cggtcgggctgaacggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatg
agaaagcggcagcttcccgaaggagaaaggcggacaggtatccgtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggag
cttccagggggaaaacgctggtatctttatagtcctgtcgggtttgccacctctgacttgagcgtcgattttgtgatgctcgcaggggggc
ggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttccctggccttttctggtccttttctcacatgt

SEQ ID NO: 21, Вариант 2 вектора 3

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgagccgccggggcgctggggcgacctttggctgccccggcctcagtgagcg
agcgagcgcgcagagaggagtgccaaactccatcactaggggttctcgcggccTCTAGAAAAatctcgccaacaagttgacga
gataaacacggcatTTTTgccttgttttagtagattctgtttccagagtactaaacacatttctctatatacaaatgCGGTGTTTCGTC
CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
ATATGATAGTCCATTTTTAAAACATAATTTTTAAAACACTGCAAACACTACCCAAGAAATTAT
TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
ATAGGCCCTCCTCGAGCTAGACTAGCATGCTGCCCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGG
GGACACCCGAGATGCCTGGTTATAATTAACCCAGACATGTGGCTGCCCCCCCCCCCC
CAACACCTGCTGCCTCTAAAAATAACCCTGCATGCCATGTTCCCGGCGAAGGGCCAG
CTGTCCCCCGCCAGCTAGACTCAGCACTTAGTTTAGGAACCAGTGAGCAAGTCAGCC
CTTGGGGCAGCCCATAACAAGGCCATGGGGCTGGGCAAGCTGCACGCCTGGGTCCGG
GGTGGGCACGGTGCCCCGGGCAACGAGCTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGCCCCCT
CCCTGGGGACAGCCCCCTCCTGGCTAGTCACACCCTGTAGGCTCCTCTATATAACCCA
GGGGCACAGGGGCTGCCCTCATTCTACCACCACCTCCACAGCACAGACAGACTC
AGGAGCCAGCCAGCaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCGGTATCC
ACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACC
AGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGT
GCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGA
GGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGC
TGCTGTTTCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCT
ACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCC
GCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGACAAACGTGAACGAGGTGGAAG
AGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGC
CCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGC
GAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCA

AACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGAC
ACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGG
CAGCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACT
GCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTG
TACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAA
GCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGA
AGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAG
GGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCA
CGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGG
ATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAA
CTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCT
GAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGG
ACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTG
GTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGA
CGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGAT
CAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCC
GCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAA
CCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAAC
GCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCT
GTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGA
GGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGG
TGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTAC
CTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAA
TCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAA
GAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGT
GGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAG
TGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGC
GGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACACGCCGA
GGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGG
ACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAG
CATGCCCAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCCACC
AGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAG
AAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAA
GGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACA
AGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGAC
CCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAA
TCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTGACCAAGTACTCCAAAA
AGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCC
CATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTTCGTGAAGCTGTC
CCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGAC

CGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACACTACTACGAAGTGAATAGCAAGT
 GCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCC
 TCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGC
 GTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCG
 CGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCG
 CCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTAT
 GAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAGGCCGGCGG
 CCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatacagatgttccagattacgctt
 accatacagatgttccagattacgcttaccCatacagatgttccagattacgcttaaGAATTCctagagctcgtgatcagcctcgactgt
 gccttctagttgccagccatctgttgttggccctccccgtgccttccttgacctggaaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatga
 ggaaattgcatcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagagaa
 tagcaggcatgctggggaGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGG
 CCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGATGGC
 TGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGG
 AAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGA
 GACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTA
 CTAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTTTTGGT
 ACCaggaaccctagtgtatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacg
 cccgggctttggccgggcgccctcagtgagcgagcgagcgagcgtgcctgcagggcgccctgatgcggtattttctccttacgcatct
 gtgcggtatttccacccgatacgtcaagcaacctagtagcgccctgtagcggcgcatlaagcgcgggcggtgtggtggttacgcgc
 agcgtgaccgctacacttgcagcgccctagcgcccgtccttctcgtttcttcccttctcgtccacgttcgcccgtttccccgtcaagc
 tctaaatcgggggctcccttaggggtccgatttagtgccttacggcacctcgacccccaaaaacttgatttgggtgatggttcacgtatgggc
 catcgccctgatagacggtttttcgcccttgacgttggagtccacgttcttaatataggactcttgcctaaactggaacaacactcaacccta
 tctcgggctattctttgattataagggaatttgcgatttcggcctatttggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaattaacgcgaatttaaca
 aaatattaacgtttacaattttatggtgcactctcagtaacaatgtctctgatccgcatagttaagccagccccgacaccgccaacaccgc
 tgacgcgccctgacgggcttgcctcctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtcctccgggagctgcatgtgcagaggtttcac
 cgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgctattttataggttaattgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggt
 ggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgttttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaa
 tgcctcaataatattgaaaaagggaagatgagtagtattcaacattccgtgcgccttattccctttttgcggcattttgccttctgttttgc
 cccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggttacatgaactggatctcaacagcggtgaagatc
 cttgagagttttcggccgaagaacgtttccaatgatgagcacttttaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggca
 agagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagt
 aagagaattatgcagtgtgccataacctgatgataaactgcggccaacttacttctgacaacgatcgaggaccgaaggagctaacc
 gctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacac
 cacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaactggcgaaactacttactctagcttcccggaacaattaatagactggat
 ggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcgcccttccggctggctggttattgctgataaatctggagccggtgagcgtggaa
 gccgcggtatcattgcagcactggggccagatggtgaagccctcccgatcgtatgtatctacacgacggggagtcaggcaactatggatga
 acgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaa
 acttcattttaatttaaaagatctaggtgaagatccttttataatctcatgacaaaaacccttaacgtgagtttcttccactgagcgtcag
 accccgtagaaaaatcaaaggatcttctgagatcctttttctgcgcgtaactctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctaccagcgggt

ggtttgtttgccgatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagc
 cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgectacatacctcgctctgctaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgata
 agtcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctgggctgaacggggggttcgtgcacacagccca
 gcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcggcagcttcccgaaggagaaaggcgga
 caggtatccggtaagcggcagggctggaacaggagagcgcagagggagcttcagggggaaacgcttggtatctttatagtcctgtcg
 ggtttcgccacctctgacttgagcgtcgattttgtgatgctcgtcagggggcgaggcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttac
 ggttcttgcccttttctggccttttctcacatgt

SEQ ID NO: 22, Вариант 3 вектора 3

cctgcaggcagctgcgcgtcgtcgtcactgaggccgcccgggctggggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcg
 agcgagcgcgcagagaggagtgcccaactccatcactaggggttctcgggccTCTAGAAAAatctcgccaacaagttgacga
 gataaacacggcattttgcttgttttagtagattctgtttccagagtactaaacacatttctctatacaaatgCGGTGTTTCGTC
 CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
 ATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAACTGCAAACCTACCCAAGAAATTAT
 TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
 CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
 ATAGGCCCTCCTCGAGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGTCCGCCtTCGGCACCATC
 CTCACGACACCCAAATATGGCGACGGGTGAGGAATGGTGGGGAGTTATTTTTAGAG
 CGGTGAGGAAGGTGGGCAGGCAGCAGGTGTTGGCGCTCTAAAAATAACTCCCGGGA
 GTTATTTTTAGAGCGGAGGAATGGTGGACACCCAAATATGGCGACGGTTCCTCACCC
 GTCGCCATATTTGGGTGTCCGCCCTCGGCCGGGGCCGCATTCCTGGGGGCGGGGCGG
 TGCTCCCGCCCGCCTCGATAAAAGGCTCCGGGGCCGGCGGCGGCCACGAGCTACC
 CGGAGGAGCGGGAGGCGCCAAGCTCTAGAACTAGTGGATCCCCCGGGCTGCAGGAA
 TTCGATATaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCTGGTATCCACGGAG
 TCCCAGCAGCCAAGCGGAACCTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACACGCGTG
 GGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGTGCGGCT
 GTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGCGCC
 AGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTGCTGT
 TCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCTACGAG
 GCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCT
 GCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAGAGGAC
 ACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGCCCTGG
 AAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGT
 GCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCAAACAG
 CTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGACACCTA
 CATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCC
 CCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACTGCACC
 TACTTCCCCGAGGAACCTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTGTACAA
 CGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGG
 AATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGAAGCCC
 ACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAGGGCTA

CAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCACGACA
TCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGGATCAG
ATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAACTGAC
CAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGG
GCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGGACGAG
CTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCC
AAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTT
CATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACG
CCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCCCGCGAG
AAGAACTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGC
AGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAACGCCAA
GTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACA
GCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGG
ACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGGTGCTCG
TGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAG
CAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGG
CCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAAGAACG
GGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATA
CCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAAC
AACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGCGGCG
GAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACACGCCGAGGAC
GCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGGACAA
GGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAGCATG
CCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCACCAGAT
CAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAGAAGC
CTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAAGGGC
AACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACAAGCT
GAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGACCCCC
AGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAATCCC
CTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACTACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGA
CAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCCCATC
TGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTGAAGCTGTCCCTG
AAGCCCTACAGATTTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTG
AAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACTACTACGAAGTGAATAGCAAGTGCTA
TGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCT
TCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTG
AACACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCGCGA
GTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGGCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCGCCT
CCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTATGAA
GTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAGGCCGGCGGCCAC

GAAAAAGGCCGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatacagatgttccagattacgcttaccata
 cgatgttccagattacgcttaccCatacagatgttccagattacgcttaaGAATTCctagagctcgtgatcagcctcgactgtgccttcta
 gttgccagccatctgtgtttgccccccccctgacctggaagggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaatt
 gcatcgcatgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagagaatagcag
 gcatgctggggaGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGGCCCC
 AGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGATGGCTGT
 GAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGGAA
 ATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGA
 CCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACT
 AAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTTTGGTAC
 Caggaaccctagtgtgaggtggccactccctctctgcgcgtcgtcgtcactgaggccggcgaccaagggtgcccgacgccc
 gggctttgccccggcgccctcagtgagcgagcgagcgcgagctgcctgcagggcgccctgatgcggtattttctccttacgcactgtgc
 ggtatttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtagcgccctgtagcgcgcatlaagcgcggggggtgtggtgttacgcgcagcg
 tgaccgctacacttgccagcgccctagcgccccgctcctttcgctttctccttctcctttctgcgcacgttcgcccgtttccccgtcaagctctaa
 atcggggggtccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgacccccaaaaaacttgatttgggtgatggttcacgtagtgggcccac
 gccctgatagacggttttcgccctttgacgttggagtcacgttcttaatagtgactcttgttccaaactggaacaactcaaccctatctc
 gggctattcttttgattataagggttttccgatttcggcctatttggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatlaacgcgaatttaacaaaat
 attaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgatagttaaagccagccccgacaccgccaacaccgctgac
 gcgcctgacgggcttctgctctcccgcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgttcagaggttttaccgctc
 atcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgctattttatagggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggc
 acttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgttttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgt
 tcaataatattgaaaaaggaggtatgagtattcaacattccgtctgcgccttattccctttttgcggcattttgccttctgttttctcaccca
 gaaacgtggtgaaagtaaaagatgtgaagatcagttgggtgcacgagtggggtacatcgaactggaatcacaacagcggttaagatccttg
 agagttttgccccgaagaacgtttccaatgatgagcacttttaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccccggaaga
 gcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaag
 agaattatgcagtgtgccataacatgagtataactgcggccaacttactctgacaacgatcgaggaccgaaggagctaaccgctt
 tttgcacaacatgggggatcatgtaactcgcttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccatacacaacgacgagcgtgacaccac
 gatgctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaactgactggatgga
 ggcggtataaagttgcaggaccacttctgcgctcgcccttccggctggctgtttattgctgataaatctggagccgggtgagcgtggaagcc
 gcggtatcattgcagcactggggccagatggttaagccctcccgatcgtatgtatctacacgacggggagtcaggcaactatggtgaacg
 aaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcatttgtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaactt
 cattttaatttaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacaaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagacc
 cgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttctgcgcgtaatctgctgcttgcacaaaaaaaccaccgctaccagcggtgttt
 gtttgcgggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagatacacaataactgtccttctagtgtagccgta
 gttaggccaccactcaagaactctgtagcaccgctacatacctcgtctgctaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtc
 gtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgacggctgggctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagctt
 ggagcgaacgacctacaccgaactgagatactacagcgtgagctatgagaaagccacgcttcccgaaggagaaaggcgagag
 gtatccggtgaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggaaacgctggtatctttatagctctgcgggtt
 tcgccacctgtacttgagcgtcgtttttgtgatgctcgtcagggggcgaggcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggtt
 cctggccttttctggccttttctcacatgt

SEQ ID NO: 23, Вариант 4 вектора 3

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgcccgggctcggcgacctttggtcgcggcctcagtgagcg
 agcgagcgcgcagagaggagtgcccaactccatcactaggggttctcgtggccTCTAGAAAAatctcgccaacaagttgacga
 gataaacacggcattttgcttgttttagtagattctgtttccagagtactaaaacacatttctctatatacaaatgCGGTGTTTCGTC
 CTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGC
 ATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAAACTGCAAACCTACCCAAGAAATTAT
 TACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTC
 CAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAA
 ATAGGCCCTCCTCGAGGtttaacaagcttgcattgctctagaccttcagattaaaaataactgaggttaaggcctggg
 taggggaggtggtgtgagacgtcctgtctctctctatctgccatcgccctttggggaggaggaatgtgccaaggactaaaaaagg
 ccatggagccagaggggcgagggaacagaccttcatgggcaaaccttggggcctgtgtctagcatccccactacgggtctaggt
 gccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgctggttataaataaccagacatgtggctgtccccccccccccaaacct
 gctgccttaaaaaataacctgtcctggtggatccctgcatgcgaagatcttgaacaaggctgtgggggactgaggcgaggtgtaac
 aggttggggggccagggttatacgtgcctgggactcccaagtaattactgttccatgttccggcggaagggccagctgtccccgccagc
 tagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcct
 ggggtccggggtgggcacggtgccgggcaacgagctgaaagctcatctgtctcaggggcccctccctggggacagccccctcctggcta
 gtcacacctgttaggtcctctatataaccaggggacaggggctgcccattctaccaccacctccacagcacagacagacactcagg
 agccagccagcggcgcgccccaccggtgccaccATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTTCGGTATCC
 ACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACCTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACC
 AGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGT
 GCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGA
 GGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGC
 TGCTGTTTCGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCT
 ACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCC
 GCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAG
 AGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGC
 CCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGC
 GAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCA
 AACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGAC
 ACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGG
 CAGCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACT
 GCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTG
 TACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAA
 GCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGA
 AGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAG
 GGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCA
 CGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGG
 ATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAA
 CTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCT
 GAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGG

ACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTG
 GTGCCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGA
 CGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGAT
 CAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCCC
 GCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAA
 CCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAAC
 GCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCT
 GTACAGCCTGGAAGCCATCCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGA
 GGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGG
 TGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTAC
 CTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAA
 TCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAA
 GAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGT
 GGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAG
 TGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGC
 GGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACCACGCCGA
 GGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGG
 ACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAG
 CATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCCACC
 AGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAG
 AAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAA
 GGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACA
 AGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGAC
 CCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAA
 TCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTACCTGACCAAGTACTCCAAAA
 AGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCC
 CATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTGAAGCTGTC
 CCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGAC
 CGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAAGTACTACGAAGTGAATAGCAAGT
 GCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCC
 TCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGC
 GTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCG
 CGAGTACCTGGAACATGAACGACAAGAGGCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCG
 CCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTAT
 GAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAGGCCGGCGG
 CCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggatcctaccatacagatgttccagattacgctt
 acccatacagatgttccagattacgcttaccCatacagatgttccagattacgcttaaGAATTcctagagctcgtgatcagctcagctgt
 gccttctagttgccagccatctgttgttggccctccccctgccttccttgaccctggaaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatga
 ggaaattgcacgcattgtctgagttaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagagaa
 tagcaggcatgctggggaGGTACCGAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGG

CCCAGTGTCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGATGGC
 TGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCGCTATGTGTTCTGGG
 AAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTTGGGAATCTTATAAGTTCTGTATGA
 GACCACATATAGTAATGAAATTATTGGCACGTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTA
 CTA AAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGATTTTTTGGT
 ACCaggaacccctagtgatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcactgaggccggcgaccaaaaggctgccccgacg
 cccgggctttgccccggcgccctcagtgagcgagcgagcgagcgtgctgcaggggcgctgatgcggtatcttctcttacgcatct
 gtgcggtatcttacaccgcatacgtcaaaagcaaccatagtacgcgcctctagcggcgcatlaagcgcgggcggtgtggtggttacgcgc
 agcgtgaccgctacacttgccagcgccctagcgcccgctccttctgcttcttctccttctctgccacgttcgcccggctttccccgtcaagc
 tctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgccttacggcacctcgacccccaaaaacttgatttgggtgatggttcacgtagtgggc
 catcgccctgatagacggtttttgccccttgacgttggagtccacgttcttaaatagtggaactctgttccaaaactggaacaacactcaacccta
 tctcgggctattctttgatttataagggaatttgcgatttcggcctatttggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaattaacgcgaattttaaca
 aaatattaacgtttacaattttatggtgactctcagtaaatctgctctgatgcccatagttaagccagccccgacaccgccaacaccgcg
 tgacgcgcctgacgggcttgcctgcctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgcagagggtttcac
 cgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatacgctatctttataggttaaatgcatgataataatggttcttagacgtcaggt
 ggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgccttttttaataacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaa
 tgcctcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacattccgtgcgccttattccctttttgcggcatcttgccttctgttttgcctca
 cccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggttacatgaactggatctcaacagcggtgaagatc
 cttagagattttgcggcggaagaacgtttccaatgatgagcacttttaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggca
 agagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagtcacagaaaagcatcttacgggatggcatgacagt
 aagagaattatgcagtgtgccataacctgagtataactgcggccaacttacttctgacaacgatcgaggaccgaaggagctaacc
 gctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacac
 cacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaactggcgaaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggat
 ggaggcggaataaagtgcaggaccacttctgcgctcgcccttccggctggctggttattgctgataaatctggagccggtgagcgtggaa
 gccgcggtatcattgcagcactggggccagatggttaagccctcccgatcgtagtattctacacgacggggagtcaggcaactatggatga
 acgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattgtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaa
 acttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacaaaaacccttaacgtgagtttctgctcactgagcgtcag
 accccgtagaaaaatcaaaaggatcttcttgagatcctttttctgcgcgtaactctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctaccagcggt
 ggtttgtttgccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaataactgtccttctagtgtagc
 cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgctaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgata
 agtctgtcttaccgggttggaactcaagacgatagttaccggataaggcgagcggctgggctgaacggggggttcgtgcacacagccca
 gcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcggcagcttcccgaaggagaaaggcgga
 caggtatccggtaagcggcgagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctgggtatctttatagtcctgtcg
 ggttccgacactctgacttgagcgtcgattttgtgatgctcgtcagggggcgaggcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttac
 ggttctcgcccttttgcctggttgccttttgcctacatgt

SEQ ID NO: 24, Полинуклеотид, кодирующий интрон SV40

tctagaggatccggtactcaggaactgaaaaaccagaaagtaactggtaagttagtcttttgcctttatttcaggtcccggtac
 cgggtggtggtgcaaatcaagaactgctcctcagtggaatgttgcctttacttctaggcctgtacggaagtgttac

SEQ ID NO: 25

NNGRR (R=A или G; N может представлять собой любой нуклеотидный остаток,

например, любой из A, G, C или T)

SEQ ID NO: 26

NNGRN (R=A или G; N может представлять собой любой нуклеотидный остаток, например, любой из A, G, C или T)

SEQ ID NO: 27

NNRRRT (R=A или G; N может представлять собой любой нуклеотидный остаток, например, любой из A, G, C или T)

SEQ ID NO: 28

NNRRRV (R=A или G; N может представлять собой любой нуклеотидный остаток, например, любой из A, G, C или T)

SEQ ID NO: 29, Вариант 3 вектора 5

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgcccgggcgctgggcgacctttggcgccccggcctcagtgagcg
agcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttctcgggccTCTAGACTCGAGGAGCTCCACC
GCGGTGGCGGCCGTCCGCCtTCGGCACCATCCTCACGACACCCAAATATGGCGACGG
GTGAGGAATGGTGGGGAGTTATTTTTAGAGCGGTGAGGAAGGTGGGCAGGCAGCAG
GTGTTGGCGCTCTAAAAATAACTCCCGGGAGTTATTTTTAGAGCGGAGGAATGGTGG
ACACCCAAATATGGCGACGGTTCCTACCCGTCGCCATATTTGGGTGTCCGCCCTCG
GCCGGGGCCGCATTCTGGGGGCCGGGCGGTGCTCCCGCCCGCCTCGATAAAAGGC
TCCGGGGCCGCGCGGCCGCCACGAGCTACCCGGAGGAGCGGGAGGCGCCAAGCTCT
AGAACTAGTGGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCCATGGtctagaggatccggtactcg
aggaactgaaaaaccagaaagttaactggtaagttagtcttttcttttatttcaggtcccggatccggtggtggtgcaaatcaaagaactg
ctcctcagtggatgttgcccttacttctagccctgtacggaagtgttacgccaCCATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGA
AGGTTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAAGTACATCCTGGGCCTGGAC
ATCGGCATCACCAGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGAT
CGATGCCGGCGTGCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGG
CGGAGCAAGAGAGGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGA
GAGTGAAGAAGCTGCTGTTCTGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGC
GGCATCAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGG
AAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTG
AACGAGGTGGAAGAGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCC
GGAACAGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACTGCAGCTGGAACGGCT
GAAGAAAGACGGCGAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTAC
GTGAAAGAAGCCAAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCA
GAGCTTCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGG
GACCTGGCGAGGGCAGCCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATG
CTGATGGGCCACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTA
CAACGCCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGG
ACGAGAACGAGAAGCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTC
AAGCAGAAGAAGAAGCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACG
AAGAGGATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAAC

CTGAAGGTGTACCACGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAA
 CGCCGAGCTGCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGG
 ACATCCAGGAAGAACTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAG
 CAGATCTCTAATCTGAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCAT
 CAACCTGATCCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCA
 ACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCC
 ACCACCCTGGTGGACGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAG
 AGCATCAAAGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCAT
 TATCGAGCTGGCCCGCGAGAAGAACTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATCAACGAGA
 TGCAGAAGCGGAACCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCAC
 CGGCAAAGAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAG
 GAAGGCAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAA
 CCCCTTCAACTATGAGGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAG
 CTTCAACAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGG
 ACCCCATTCCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAA
 GAAGCACATCCTGAATCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAA
 GAGTATCTGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCAT
 CAACCGGAACCTGGTGGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGC
 GGAGCTACTTCAGAGTGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGC
 TTCACCAGCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGT
 CAAGCACCCACGCCGAGGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGA
 GTGGAAGAACTGGACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAA
 AAGCAGGCCGAGAGCATGCCCAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCT
 TCATCACCCCCCACCAGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGC
 CACCGGGTGGACAAGAAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCAC
 CCGGAAGGACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACG
 ACAAGGACAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCT
 GATGTACCACCACGACCCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGT
 ACGGCGACGAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACTACCTG
 ACCAAGTACTCCAAAAAGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGG
 CAACAACTGAACGCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACA
 AGGTCGTGAAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGC
 GTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACCTACTA
 CGAAGTGAATAGCAAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAAC
 CAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAG
 CTGTATAGAGTGATCGGCGTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACAT
 GATCGACATCACCTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGGCCCCCA
 GGATCATTAAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGAC
 ATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATAAAAA
 GGGCAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggat

ccGAATTCtagcaataaaggatcgtttattttcattggaagcgtgtgttggtttttgatcaggcgcgGGTACCAAAAATCT
 CGCCAACAAGTTGACGAGATAAACACGGCATTTCCTTGTTCCTTTAGTAGATTCTGTT
 TCCAGAGTACTAAAAACacatttcctctctatacaaatgCGGTGTTTCGTCCTTTCCACAAGATATAT
 AAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGCATATGATAGTCCATTTTA
 AAACATAATTTTAAAACTGCAAACACTACCCAAGAAATTATTACTTTCTACGTCACGTA
 TTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTCCAATTATCTCTCTAACAG
 CCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAAATAGGCCCTCCTCGACTA
 GTAGAAAAATCTCGCCAACAAGTTGACGAGATAAACACGGCATTTCCTTGTTCCTT
 GTAGATTCTGTTTCAGAGTACTAAAACGTGCCAATAATTTTCATTACTATATCGGTG
 TTTCGTCCTTTCCACAAGATATATAAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACG
 GTAAGCATATGATAGTCCATTTTAAACATAATTTTAAAACTGCAAACACTACCCAAGA
 AATTATTACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAAT
 TAATTCCAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCA
 TGGGAAATAGGCCCTCGGTACCaggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcact
 gaggccggcgaccaaaggctgcccagcggcggttggccggcgccctcagtgagcgagcgagcgcgagctgcctgcaggg
 gcgcctgatcggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtacgcgcctgtacggcgcat
 taagcgggcggtgtggtgttacgcgcagcgtaccgctacacttgcagcgccctagcgcccgctccttgccttcttcccttcttct
 cgccacgttcgcggcttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgccttacggcacctcgacccccaaaa
 acttgatttgggtgatggttcacgttagtggccatcgccctgatagacggttttgccttgcagtgaggctcacgttcttaaatgtgact
 ctgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggttcttcttatttataagggttttgcgatttgcgctattgggttaaaaaatgag
 ctgatttaacaaaaatftaacgcgaatttaacaaaatftaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatgtt
 aagccagccccgacaccgccaacccccgtgacgcgccctgacgggcttgcctgcctccggcatccgttacagacaagctgtgaccg
 tctccgggagctgcatgtgtcagagggtttcacccgtcatccggaacgcgcgagacgaaaggccctgtgatacgcctatttttataggta
 atgtcatgataaatggttcttagacgtcaggtggcacttttggggaaatgtgcgcggaacccctatttgttttttctaaatacattcaaat
 atgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgcgcccttatt
 ccttttttgcggcattttgccttctgttttgcctcaccagaaacgtggtgaaagtaaaagatgtgaagatcagttgggtgcacgagtggtg
 ttacatcgaactggatctcaacagcggtgaagatccttgagagtttgcggcgaagaacgtttccaatgatgagcacttttaagttctgctatg
 tggcgcggtattatccgtattgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtaactcaccagt
 cacagaaaagcatctacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgcataaccatgagtataacactcgggccaacttacttct
 gacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctg
 aatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaaactattaactggcgaaactactta
 ctctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcgataaagttgcaggaccacttctgcgctcgcccttccggctgggtggttta
 ttgctgataaatctggagccggtgagcgtggaagccggtatcattgcagcactggggccagatggttaagccctcccgatcgtagtatc
 tacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggttaactgtcag
 accaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcattttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacaaaatc
 ccttaacgtgagtttcttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaactctgctgct
 tgcaaacacaaaaaaccaccgtaccagcggtggtttgttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagag
 cgcagataccaaatactgtccttctagttagccgttagttagccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgctaaf
 cctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataagggcgagcggtcg
 ggctgaacgggggggtcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaag

cgccacgcttcccgaaggagaaaggcggacaggtatccggttaagcggcagggctcggaacaggagagcgcacagggagcttccag
ggggaacgcctgggtatctttatagtcctgtcgggtttccacctctgacttgagcgtcgattttgtgatgctcgtcagggggcgaggcct
atgaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttctggccttttctggccttttctcacatgt

SEQ ID NO: 30, Вариант 4 вектора 5

cctgcaggcagctgcgcgtcgtcgtcactgagggcccgccgggctcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcg
agcgagcgcgcagagagggagtgcccaactccatcactaggggttctcgcggccTCTAGACTCGAGagcttgcattgctaag
ctagacccttcagattaaaaataactgaggttaagggcctgggtaggggaggtggtgtgagacgctcctgtctctctatctgccatcggc
cctttggggaggaggaatgtgcccaaggactaaaaaaggccatggagccagaggggaggggcaacagacctttcatgggcaaacct
tggggccctgtgtctagcatccccactacgggtctaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacaccgagatgctgggtat
aattaacccagacatgtggctcccccccccccccaacacctgtcctctaaaaataaacctgtccctgggtggatccctgcattcgaaga
tcttgaacaaggtgtgggggactgagggcaggctgtaacaggttgggggcccagggttatactgtcctgggactcccaaagtattact
gttccatgttcccggcgaggggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagttagcaagtcagcccttggggc
agcccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgctgggtccggggtgggcacgggtcccgggcaacgagctgaaagctcatct
gctctcaggggccccctccctggggacagccccctctggctagtcacacctgtaggctcctctatataaccaggggcacaggggtgcc
ctcattctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcCCATGGtctagaggatccggtactcagggaact
gaaaaaccagaaagttaactggtaagtttagtcttttcttttatttcagggtcccggatccggtggtggtgcaaatcaaagaactgtcctcag
tggtgttgcttttacttctagggcctgtacggaagtgttacgccaCCATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTC
GGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACCTACATCCTGGGCCTGGACATCGG
CATCACCAGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATG
CCGGCGTGCGGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAG
CAAGAGAGGGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTG
AAGAAGCTGCTGTTCTGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCAT
CAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAG
TTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGA
GGTGAAGAGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAAC
AGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGA
AAGACGGCGAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAA
AGAAGCCAAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCT
TCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCT
GGCGAGGGCAGCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGAT
GGGCCACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACCTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACG
CCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAG
AACGAGAAGCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCA
GAAGAAGAAGCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAG
GATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAA
GGTGTACCACGACATCAAGGACATTACCGCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCG
AGCTGCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATC
CAGGAAGAACTGACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGAT
CTCTAATCTGAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCT
GATCCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGC

TGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACC
 CTGGTGGACGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATC
 AAAGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGA
 GCTGGCCCCGCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAG
 AAGCGGAACCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCA
 AAGAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGG
 CAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTT
 CAACTATGAGGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAGCTTCAA
 CAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCA
 TTCCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCA
 CATCCTGAATCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATC
 TGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGG
 AACCTGGTGGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTA
 CTTCAGAGTGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCA
 GCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCAC
 CACGCCGAGGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGA
 GAACTGGACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTTCGAGGAAAAGCAG
 GCCGAGAGCATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCAC
 CCCCCACCAGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGG
 TGGACAAGAAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAG
 GACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGA
 CAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACC
 ACCACGACCCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGAC
 GAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTGACCAAGTA
 CTCCAAAAAGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAAAC
 TGAACGCCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCGTG
 AAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAA
 GTTCGTGACCGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAACCTACTACGAAGTGA
 ATAGCAAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGA
 GTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAG
 AGTGATCGGCGTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACA
 TCACCTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGGCCCCCAGGATCATT
 AAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATTAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGG
 CAACCTGTATGAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAA
 GGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggaatccGAATTCTa
 gcaataaaggatcggtttatttcattggaagcgtgtgttggtttttgatcaggcgcgGGTACCAAAAATCTCGCCAACAA
 GTTGACGAGATAAACACGGCATTTCCTTGTGTTTAGTAGATTCTGTTTCCAGAGTA
 CTAAAAACacatttcctctctatacaaatgCGGTGTTTCGTCCTTTCCACAAGATATATAAAGCCAA
 GAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGCATATGATAGTCCATTTTAAACATAA
 TTTTAAAACTGCAAACTACCCAAGAAATTATTACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACT

[illegible]

atgaaaagga actacattct ggggctggac atcgggatta caagcgtggg gtatgggatt attgactatg aaacaaggga
 cgtgatcgac gcaggcgtca gactgttcaa ggaggccaac gtggaaaaca atgaggggacg gagaagcaag aggggagcca
 ggcgccctgaa acgacggaga aggcacagaa tccagagggt gaagaaactg ctgttcgatt acaacctgct gaccgacat
 tctgagctga gtggaattaa tccattatgaa gccagggtga aaggcctgag tcagaagctg tcagaggaag agttttccgc
 agctctgctg cacctggcta agcgccgagg agtgcataac gtcaatgagg tggaagagga caccggcaac gagctgtcta
 caaaggaaca gatctcacgc aatagcaaag ctctggaaga gaagtatgtc gcagagctgc agctggaacg gctgaagaaa
 gatggcgagg tgagaggggtc aattaatagg ttcaagacaa gcgactacgt caaagaagcc aagcagctgc tgaaagtga
 gaaggcttac caccagctgg atcagagctt catcgatact tatatcgacc tgctggagac tcggagaacc tactatgagg
 gaccaggaga agggagcccc ttcggatgga aagacatcaa ggaatggtac gagatgctga tgggacattg cacctatttt
 ccagaagagc tgagaagcgt caagtacgct tataacgcag atctgtacaa cgccctgaat gacctgaaca acctggtcat
 caccagggat gaaaacgaga aactggaata ctatgagaag ttccagatca tcgaaaacgt gtftaagcag aagaaaaagc
 ctacactgaa acagattgct aaggagatcc tggtaacga agaggacatc aagggtacc gggtgacaag cactggaaaa
 ccagagtcca ccaatctgaa agtgtatcac gatattaagg acatcacagc acggaagaa atcattgaga acgccgaact
 gctggatcag attgctaaga tctgactat ctaccagagc tccaggagca tccaggaaga gctgactaac ctgaacagcg
 agctgaccca ggaagagatc gaacagatta gtaatctgaa ggggtacacc ggaacacaca acctgtccct gaaagctatc
 aatctgattc tggatgagct gtggcataca aacgacaatc agattgcaat ctftaacgg ctgaagctgg tccccaaaa
 ggtggacctg agtcagcaga aagagatccc aaccacactg gtggacgatt tcattctgtc acccgtggtc aagcggagct
 tcatccagag catcaaagtg atcaacgcca tcatcaagaa gtacggcctg cccaatgata tcattatcga gctggctagg
 gagaagaaca gcaaggacgc acagaagatg atcaatgaga tgcagaaacg aaaccggcag accaatgaac gcattgaaga
 gattatccga actaccggga aagagaacgc aaagtacctg attgaaaaaa tcaagctgca cgatatgcag gagggaaagt
 gtctgtattc tctggaggcc tccccctgg aggacctgct gaacaatcca ttcaactacg aggtcgatca tattatcccc agaagcgtgt
 ccttcgacaa ttcttttaac aacaagggtgc tggtaacga ggaagagaa tctaaaaagg gcaataggac tctttccag
 tactgtcta gttcagattc caagatctct tacgaaacct ttaaaaaagca cattctgaat ctggccaaag gaaagggccg
 catcagcaag accaaaaagg agtacctgct ggaagagcgg gacatcaaca gattctccgt ccagaaggat tttattaacc
 ggaatctggt ggacacaaga tacgctactc gcggcctgat gaatctgctg cgatcctatt tccgggtgaa caatctggt
 gtgaaagtca agtccatcaa cggcgggttc acatcttttc tgaggcgcaa atggaagttt aaaaaggagc gcaacaaagg
 gtacaagcac catgccgaag atgctctgat tatcgcaaat gccgacttca tctftaagga gtggaaaaag ctggacaaag
 ccaagaaagt gatggagaac cagatgttcg aagagaagca ggccgaatct atgcccgaat tcgagacaga acaggagtac
 aaggagattt tcatcactcc tcaccagatc aagcatatca aggatttcaa ggactacaag tactctcacc ggtgtgataa
 aaagcccaac agagagctga tcaatgacac cctgtatagt acaagaaaag acgataaggg gaataccctg attgtgaaca
 atctgaacgg actgtacgac aaagataatg acaagctgaa aaagctgac aacaaaagtc ccgagaagct gctgatgtac
 caccatgatc ctacagacata tcagaaactg aagctgatta tggagcagta cggcgacgag aagaaccac tgtataagta
 ctatgaagag actgggaact acctgaccaa gtatagcaaa aaggataatg gccccgtgat caagaagatc aagtactatg
 ggaacaagct gaatgcccat ctggacatca cagacgatta ccctaacagt cgcaacaagg tggtaagct gtcactgaag
 ccatacagat tcgatgtcta tctggacaac ggcgtgtata aatttgtgac tgtcaagaat ctggatgtca tcaaaaagga gaactactat
 gaagtgaata gcaagtgtc cgaagaggct aaaaagctga aaaagattag caaccaggca gagttcatcg cctcctttta
 caacaacgac ctgattaaga tcaatggcga actgtatagg gtcatcgggg tgaacaatga tctgtgaac cgcattgaag
 tgaatatgat tgacatcact taccgagagt atctggaaaa catgaatgat aagcggcccc ctgcaattat caaaacaatt
 gcctctaaga ctacagagtat caaaaagtac tcaaccgaca ttctgggaaa cctgtatgag gtgaagagca aaaagcacc
 tcagattatc aaaaagggc [SEQ ID NO: 31]

SEQ ID NO: 32, Оптимизированный по кодонам полинуклеотид, кодирующий Cas9 *S. aureus*

atgaagcggg actacatcct gggcctggac atcggcata ccagcgtggg ctacggcatc atcgactacg
agacacggga cgtgatcgat gccggcgtgc ggctgttcaa agaggccaac gtggaaaaca acgagggcag gcgagcaag
agaggcgcca gaaggctgaa gcggcggagg cggcatagaa tccagagagt gaagaagctg ctgttcgact acaacctgct
gaccgaccac agcgagctga gcggcataca cccctacgag gccagagtga agggcctgag ccagaagctg agcgaggaag
agttctctgc cgccctgctg cacctggcca agagaagagg cgtgcacaac gtgaacgagg tggaagagga caccggcaac
gagctgtcca ccaaagagca gatcagccgg aacagcaagg ccttgaaga gaaatactg gccgaactgc agctggaacg
gctgaagaaa gacggcgaag tgcggggcag catcaacaga ttcaagacca gcgactacgt gaaagaagcc aaacagctgc
tgaagggtga gaaggcctac caccagctgg accagagctt catcgacacc tacatcgacc tgctggaaac cggcgggacc
tactatgagg gacctggcga gggcagcccc ttggctgga aggacatcaa agaattgtac gagatgctga tgggacctg
cacctacttc cccgaggaac tgcggagcgt gaagtacgcc tacaacgccg acctgtacaa cgccctgaac gacctgaaca
atctcgtgat caccaggac gagaacgaga agctggaata ttacgagaag ttccagatca tcgagaacgt gttcaagcag
aagaagaagc ccacctgaa gcagatgcc aaagaaatcc tctgaacga agaggatatt aagggtaca gactgaccag
caccggcaag cccgagttca ccaacctgaa ggtgtaccac gacatcaagg acattaccgc ccggaagag attattgaga
acggcgagct gctggatcag attgccaaga tctgacat ctaccagagc agcgaggaca tccaggaaga actgaccaat
ctgaactccg agctgaccca ggaagagatc gagcagatct ctaatctgaa gggctatacc ggcaaccaca acctgagcct
gaaggccatc aacctgatcc tggacgagct gtggcacacc aacgacaacc agatcgctat cttaaccgg ctgaagctgg
tgcccaagaa ggtggacctg tcccagcaga aagagatccc caccacctg gtggacgact tcactctgag ccccgctgtg
aagagaagct tcattccagag catcaaagt atcaacgcca tcataagaa gtacggcctg cccaacgaca tcattatcga
gctggccgc gagaagaact ccaaggacgc ccagaaaatg atcaacgaga tgcagaagcg gaaccggcag accaacgagc
ggatcgagga aatcatccgg accaccggca aagagaacgc caagtacctg atcgagaaga tcaagctgca cgacatgcag
gaaggcaagt gcctgtacag cctggaagcc atccctctgg aagatctgt gaacaacccc ttcaactatg aggtggacca
catcatcccc agaagcgtgt cctcgacaa cagcttcaac aacaaggtgc tctgaagca ggaagaaaac agcaagaagg
gcaaccggac ccattccag tacctgagca gcagcgacag caagatcagc tacgaaacct tcaagaagca catctgaat
ctggccaagg gcaagggcag aatcagcaag accaagaaag agtatctgt ggaagaacgg gacatcaaca ggttctcgt
gcagaaaagac ttcatcaacc ggaacctggt ggataccaga tacgccacca gaggcctgat gaacctgctg cggagctact
tcagagtga caacctggac gtgaaagtga agtccatcaa tggcggcttc accagctttc tgcggcgga gtggaagttt
aagaaagagc ggaacaaggg gtacaagcac cagccgagg acgccctgat cattgccaac gccatttca tcttcaaaga
gtggaagaaa ctggacaagg caaaaaagt gatggaaaac cagatgttcg aggaaaagca ggccgagagc atgcccgaga
tcgaaaccga gcaggagtac aaagagatct tcacacccc ccaccagatc aagcacatta aggacttcaa ggactacaag
tacagccacc ggggtggaca gaagccta atagagctga ttaacgacac cctgtactcc acccggaagg acgacaaggg
caacacctg atcgtgaaca atctgaacgg cctgtacgac aaggacaatg acaagctgaa aaagctgac aacaagagcc
ccgaaaagct gctgatgtac caccacgacc cccagacctc ccagaaactg aagctgatta tggaacagta cggcgacgag
aagaatcccc tgtacaagta ctacaggaa accgggaact acctgaccaa gtactccaaa aaggacaacg gccccgtgat
caagaagatt aagtattacg gcaaaaact gaacgccc atggacatca ccgacgacta cccaacagc agaaacaagg
tcgtgaagct gtccctgaag cctacagat tcgacgtgta cctggacaat ggcgtgtaca agttcgtgac cgtgaagaat
ctggatgtga tcaaaaaaga aaactactac gaagtgaata gcaagtgcta tgaggagct aagaagctga agaagatcag
caaccaggcc gattttatcg cctccttca caacaacgat ctgatcaaga tcaacggcga gctgtataga gtgatcggcg
tgaacaacga cctgctgaac cggatcgaag tgaacatgat cgacatcacc taccgcgagt acctgaaaa catgaacgac

aagaggcccc ccaggatcat taagacaatc gcctccaaga cccagagcat taagaagtac agcacagaca ttctgggcaa
cctgtatgaa gtgaaatcta agaagcacc ctagatcatc aaaaagggc [SEQ ID NO: 32]

SEQ ID NO: 33, Оптимизированный по кодомам полинуклеотид, кодирующий Cas9 *S. aureus*

atgaagcgca actacatcct cggactggac atcggcatta cctccgtggg atacggcatc atcgattacg aaactagggg
tgtgatcgac gctggagtca ggctgttcaa agaggcgaac gtggagaaca acgaggggcg gcgctcaaag agggggggccc
gccggctgaa gcgcgcgcgc agacatagaa tccagcgcgt gaagaagctg ctgttcgact acaaccttct gaccgaccac
tccgaacttt cgggcatcaa cccatatgag gctagagtga agggattgtc ccaaaagctg tccgaggaag agttctccgc
cgcgttgctc cactcgcga agcgcagggg agtgcacaat gtgaacgaag tggagaaga taccggaaac gagctgtcca
ccaaggagca gatcagccgg aactccaagg ccttgaaga gaaatactg gcggaactgc aactggagcg gctgaagaaa
gacggagaag tgcgcggctc gatcaaccgc ttcaagacct cggactacgt gaaggaggcc aagcagctcc tgaagtgc
aaaggcctat caccaacttg accagtcctt tatcgatacc tacatcgatc tgctcgagac tcggcggact tactacgagg
gtccagggga gggctcccca ttgggttga aggatattaa ggagtgtac gaaatgtga tgggacactg cacatactc
cctgaggagc tgcggagcgt gaaatacgca tacaacgcag acctgtaca cgcgctgaac gacctgaaca atctcgtgat
caccggggac gagaacgaaa agctcgagta ttacgaaaag ttccagatta ttgagaacgt gttaaacag aagaagaagc
cgacactgaa gcagattgcc aaggaaatcc tcgtgaacga agaggacatc aagggtatc gactgacctc aacgggaaag
ccggagtcca ccaatctgaa ggtctaccac gacatcaaag acattaccgc ccggaaggag atcattgaga acgcggagct
gttgaccag attgcgaaga ttctgacct ctaccaatcc tccgaggata ttcaggaaga actcaccaac ctcaacagcg
aactgaccca ggaggagata gagcaaatct ccaacctgaa gggctacacc ggaactcata acctgagcct gaaggccatc
aacttgatcc tggacgagct gtggcacacc aacgataacc agatcgctat tttaactcg ctgaagctgg tccccagaa
agtggacctc tcacaacaaa aggagatccc tactaccctt gtggacgatt tcattctgtc ccccggtgct aagagaagct
tcatacagtc aatcaaagt atcaatgcca ttatcaagaa atacggtctg cccaacgaca ttatcattga gctcgccgc
gagaagaact cgaaggacgc ccagaagatg attaacgaaa tgcagaagag gaaccgacag actaacgaac ggatcgaaga
aatcatccgg accaccggga aggaaaacgc gaagtacctg atcgaaaaga tcaagctcca tgacatgcag gaaggaaagt
gtctgtactc gctggaggcc attccgctgg aggactgtct gaacaaccct tttaactacg aagtggatca tatcattccg
aggagcgtgt cattcgaca ttcttcaac aacaaggctc tcgtgaagca ggaggaaaac tcgaagaagg gaaaccgcac
gccgttcag tacttgagca gcagcgactc caagatttcc tacgaaacct tcaagaagca catctcaac ctggcaaagg
ggaagggtcg catctccaag accaagaagg aatatctgct ggaagaaaga gacatcaaca gattctccgt gcaaaaggac
ttcatcaacc gcaacctcgt ggatactaga tacgtactc ggggtctgat gaacctctg agaagctact tttagagtga
caatctggac gtgaaggcca agtcgattaa cggaggtttc acctcttcc tcgggcgcaa gtggaagttc aagaaggaa
ggaacaaggg ctacaagcac cacgccgagg acgccctgat cattgccaac gccgactca tcttcaaaga atggaagaaa
cttgacaagg ctaagaagg catggaaaac cagatgttcg aagaaaagca ggccgagct atgcctgaaa tcgagactga
acaggagtac aaggaaatct ttattacgcc acaccagatc aaacacatca aggatttcaa ggattacaag tactcacatc
gcgtggacaa aaagccgaac agggaaactga tcaacgacac cctctactcc acccggaagg atgacaaagg gaataccctc
atcgtcaaca accttaacgg cctgtacgac aaggacaacg ataagctgaa gaagctcatt aacaagtcgc ccgaaaagtt
gctgatgtac caccacgacc ctacagacta ccagaagctc aagctgatca tggagcagta tggggacgag aaaaaccgt
tgtacaagta ctacgaagaa actgggaatt atctgactaa gtactccaag aaagataacg gccccgtgat taagaagatt
aagtactacg gcaacaagct gaacgccc atggacatca ccgatgacta ccctaattcc cgcaacaagg tcgtcaagct
gagcctcaag ccctaccggt ttgatgtgta ccttgacaat ggagtgtaca agttcgtgac tgtgaagaac cttgacgtga
tcaagaagga gaactactac gaagtcaact ccaagtgcta cgaggaagca aagaagttga agaagatctc gaaccaggcc

gagttcattg cctccttcta taacaacgac ctgattaaga tcaacggcga actgtaccgc gtcattggcg tgaacaacga
tctcctgaac cgcacgaag tgaacatgat cgacatcact taccgggaat acctggagaa tatgaacgac aagcgccgc
cccggatcat taagactatc gctcaaaga ccagtcgat caagaagtac agcaccgaca tctgggcaa cctgtacgag
gtcaaatcga agaagcacc ccagatcacc aagaaggga [SEQ ID NO: 33]

SEQ ID NO: 34, Оптимизированный по кодомам полинуклеотид, кодирующий Cas9 *S. aureus*

atggcccaagaagaagcggaaggtcggtatccacggagtcacagccaagcggaactacatcctgggcctggacatc
ggcatcaccagcgtgggctacggcatcatcgactacgagacacgggacgtgatcgatccggcgtgctggctgttcaagaggccaacgt
ggaaaacaacgagggcagggcgagcaagagaggcgccagaaggctgaagcggcgaggcgcatagaatccagagagtgaagaa
gctgctgttcgactacaacctgctgaccgaccacagcgagctgagcggcatcaacctacgaggccagagtgaaggcgctgagccaga
agctgagcagaggaagagttctctgccccctgctgcacctggccaagagaagaggcgtgcacaacgtgaacgaggtggaagaggacac
cggcaacgagctgtccaccagagagcagatcagccggaacagcaaggccctggaagagaaatctggccgaactgcagctggaacg
gctgaagaaagacggcggaagtgcggggcagcatcaacagattcaagaccagcgactacgtgaaagaagccaaacagctgctgaagggtg
cagaaggcctaccaccagctggaccagagcttcacgacacctacatcgacctgctggaaacccggcgacactactatagggacctgg
cgaggggcagccccctcggtggaaggacatcaagaatggtacgagatgctgatggccactgcacctacttccccgaggaactgcgga
gcgtgaagtacgctacaacgccacctgtacaacgccctgaacgacctgaacaatctcgtgatcaccaggacgagaacgagaagctg
gaatattacgagaagttccagatcatcgagaacgtgttcaagcagaagaagaagccaccctgaagcagatcgccaaagaaatcctcgtg
aacgaagaggatattaaaggctacagagtaccagcaccggcaagcccgagttcaccaacctgaagggtgaccagacatcaaggacat
taccgcccggaaagagattattgagaacgccgagctgctggatcagattgccaagatcctgacctctaccagagcagcaggacatcca
ggaagaactgaccaatctgaactccgagctgaccaggaagagatcgagcagatcttaatctgaagggtataccggcaccacacacct
gagcctgaaggccatcaacctgatcctggacgagctgtggcacaccaacgacaaccagatcgctatcttcaaccggctgaagctgtgcc
caagaaggtggacctgtccagcagaaagagatccccaccacctggtggacgacttcacctgagccccgtcgtgaagagaagcttcac
ccagagcatcaaatgatcaacgccatcatcaagaagtacggcctgccaacgacatcattatcgagtggcccgagagaagaactccaa
ggacggccagaaaatgatcaacgagatgcagaagcggaaccggcagaccaacgagcggatcgaggaaatcatccggaccaccggca
aagagaacgccaaagtacctgatcgagaagatcaagctgcacgacatgcaggaaggcaagtgcctgtacagcctggaagccatccctctg
gaagatctgctgaacaacccctcaactatgaggtggaccacatcatcccagaagcgtgtccttcgacaacagcttcaacaacaaggtgct
cgtgaagcaggaagaaaacagcaagaagggaaccggacccattccagtacctgagcagcagcgacagcaagatcagctacgaaac
cttcaagaagcacatcctgaatctggccaagggaaggcgagaatcagcaagaccaagaaagagtatctgctggaagaacgggacatca
acaggttctcctgacagaaagacttcataaccggaaacctggtgataccagatacgccaccagaggcctgatgaacctgctcggagct
acttcagagtgaacaacctggacgtgaaagtgaagtccatcaatggcggttcaccagctttctcggcggaagtgaagttaagaaaga
gcggaacaaggggtacaagcaccacgccgaggacgcctgatcattgccaacgccgatttcatttcaaagagtgaagaactggaca
aggccaaaaaagtgatggaaccagatgttcgaggaaaggcaggccgagagcatgccgagatcgaaaccgagcaggagtacaag
agatcttcacacccccaccagatcaagcacattaaggacttcaaggactacaagtacagccaccgggtggacaagaagcctaatagag
agctgattaacgacacctgtactccaccgggaaggacgacaagggaacacctgatcgtgaacaatctgaacggcctgtacgacaag
gacaatgacaagctgaaaaagctgatcaacaagagccccgaaaagctgctgatgtaccaccacgacccccagacctaccagaaactgaa
gctgattatggaacagtacggcgacgagaagaatccccgttacaagtactacgaggaaaccgggaactacctgaccaagtactccaaaaa
ggacaacggccccgtgatcaagaagattatgggcaaaaactgaacgcccatctggacatcaccgacgactaccccaacagca
gaaacaaggctcgtgaagctgtccctgaagccctacagattcgacgtgtacctggacaatggcgtgtacaagttcgtgacctgaagaatctg
gatgtgatcaaaaaagaaaactactacgaagtgaatagcaagtgtctatgaggaaagctaagaagctgaagaagatcagcaaccaggccga
gtttatcgctccttctacaacaacgatctgatcaagatcaacggcgagctgtatagagtatcggcgtgaacaacgacctgctgaaccgga

tcgaagtgaacatgatcgacatcacctaccgcgagtagcttgaaaacatgaacgacaagaggccccccaggatcattaagacaatcgctt
ccaagacccagagcattaagaagtacagcacagacattctgggcaacctgtatgaagtgaatctaagaagcaccctcagatcatcaaaaa
gggcaaaaaggccggcgccacgaaaaaggccggccaggcaaaaaagaaaaag [SEQ ID NO: 34]

**SEQ ID NO: 35, Оптимизированный по кодонам полинуклеотид, кодирующий
Cas9 *S. aureus***

accggtgcc a ccatgtaccc atacgatgtt ccagattacg cttcgccgaa gaaaaagcgc aagggtcgaag
cgtccatgaa aaggaactac attctggggc tggacatcgg gattacaagc gtgggggtatg ggattattga ctatgaacaa
agggacgtga tgcagcagg cgtcagactg ttcaaggagg ccaacgtgga aaacaatgag ggacggagaa gcaagagggg
agccaggcgc ctgaaacgac ggagaaggca cagaatccag aggggtgaaga aactgctgtt cgattacaac ctgctgaccg
accattctga gctgagtgga attaatcctt atgaagccag ggtgaaaggc ctgagtcaga agctgtcaga ggaagagttt
tccgcagctc tgctgcacct ggctaagcgc cgaggagtgc ataactgcaa tgagggtgaa gaggacaccg gcaacgagct
gtctacaaag gaacagatct cagcgaatag caaagctctg gaagagaagt atgtcgaga gctgcagctg gaacggctga
agaaagatgg cgagggtgaga ggggtcaatta atagggtcaa gacaagcgac tacgtcaaag aagccaagca gctgtgaaa
gtgcagaagg cttaccacca gctggatcag agcttcacg atacttatat cgacctgctg gagactcgga gaacctacta
tgagggacca ggagaaggga gcccttcgg atggaaagac atcaaggaat ggtacgagat gctgatggga cattgcacct
attttccaga agagctgaga agcgtcaagt acgcttataa cgcagatct tacaacgcc tgaatgacct gaacaacctg
gtcatcacca gggatgaaaa cgagaaactg gaatactatg agaagttcca gatcatcgaa aacgtgttta agcagaagaa
aaagcctaca ctgaaacaga ttgctaagga gatcctggtc aacgaaggagg acatcaaggg ctaccgggtg acaagcactg
gaaaaccaga gttcaccaat ctgaaagtgt atcacgatat taaggacatc acagcacgga aagaaatcat tgagaacgcc
gaactgctgg atcagattgc taagatcctg actatctacc agagctccga ggacatccag gaagagctga ctaacctgaa
cagcgagctg acccaggaag agatcgaaac gattagtaat ctgaaggggt acaccggaac acacaacctg tccctgaaag
ctatcaatct gattctggat gagctgtggc atacaacga caatcagatt gcaatcttta accggctgaa gctgggtcca
aaaaagggtg acctgagtca gcagaaagag atcccaacca cactgggtgga cgatttcatt ctgtcacccg tggtaacgc
gagcttcac cagagcatca aagtgatcaa cgccatcacc aagaagtacg gcctgccccaa tgatacatt atcgagctgg
ctagggagaa gaacagcaag gacgcacaga agatgatcaa tgagatgcag aaacgaaacc ggcagaccaaa tgaacgcatt
gaagagatta tccgaactac cgggaaagag aacgcaaagt acctgattga aaaaatcaag ctgcacgata tgcaggaggg
aaagtgtctg tattctctgg aggccatccc cctggaggac ctgctgaaca atccattcaa ctacgaggtc gatcatatta
tccccagaag cgtgtccttc gacaattcct ttaacaacaa ggtgctggtc aagcaggaag agaactctaa aaagggaat
aggactcctt tccagtacct gtctagtcca gattccaaga tctcttacga aacctttaa aagcacattc tgaatctggc caaaggaaag
ggccgcatca gcaagaccaaa aaaggagtac ctgctggaag agcgggacat caacagattc tccgtccaga aggattttat
taaccggaat ctggtggaca caagatacgc tactcgggc ctgatgaatc tgctgcgac ctatttccgg gtgaacaatc
tggatgtgaa agtcaagtcc atcaacggcg ggttcacatc tttctgagg cgcaaatgga agtttaaaaa ggagcgcaac
aaagggtaca agcaccatgc cgaagatgct ctgattatcg caaatgccga cttcatcttt aaggagtgga aaaagctgga
caaagccaag aaagtgatgg agaaccagat gttcgaagag aagcaggccg aatctatgcc cgaaatcgag acagaacagg
agtacaagga gattttcatc actcctcacc agatcaagca tatcaaggat ttcaaggact acaagtactc tcaccgggtg
gataaaaagc ccaacagaga gctgatcaat gacacctgt atagtacaag aaaagacgat aagggggaata ccctgattgt
gaacaatctg aacggactgt acgacaaaga taatgacaag ctgaaaaagc tgatcaacaa aagtcccag aagctgctga
tgtaccacca tgatctcag acatctcaga aactgaagct gattatggag cagtacggcg acgagaagaa cccactgtat
aagtactatg aagagactgg gaactacctg accaagtata gcaaaaagga taatggcccc gtgatcaaga agatcaagta
ctatgggaac aagctgaatg cccatctgga catcacagac gattacccta acagtcgcaa caagggtggtc aagctgtcac

tgaagccata cagattcgat gtctatctgg acaacggcgt gtataaatTT gtgactgtca agaactctgga tgcatacaaa
aaggagaact actatgaagt gaatagcaag tgctacgaag aggctaaaaa gctgaaaaag attagcaacc aggcagagtt
cagcgcctcc ttttacaaca acgacctgat taagatcaat ggcgaaactgt atagggtcat cgggggtgaac aatgatctgc
tgaaccgcat tgaagtgaat atgattgaca tcacttaccg agagtatctg gaaaacatga atgataagcg cccccctcga
attatcaaaa caattgcctc taagactcag agtatcaaaa agtactcaac cgacattctg ggaaacctgt atgaggtgaa
gagcaaaaag caccctcaga ttatcaaaaa gggctaagaa ttc [SEQ ID NO: 35]

SEQ ID NO: 36, Оптимизированный по кодомам полинуклеотид, кодирующий Cas9 *S. aureus*

atggcccaagaagaagcggaaggtcggtatccacggagtcacagccaagcggaactacatcctgggcctggacatc
ggcatcaccagcgtgggctacggcatcatcgactacgagacacgggacgtgatcgatccggcgtgctggctgttcaagaggccaacgt
ggaaaacaacgagggcagggcgagcaagagaggcgccagaaggctgaagcggcggaggcgcatagaatccagagagtgaagaa
gctgctgttcgactacaacctgctgaccgaccacagcgagctgagcggcatcaaccttacgaggccagagtgaaggcgctgagccaga
agctgagcggaggaagagttctctgccgccctgctgcacctggccaagagaagaggcgtgcacaacgtgaacgaggtggaagaggacac
cggcaacgagctgtccaccaagagcagatcagccggaacagcaaggccctggaagagaaatcgtggccgaactgcagctggaacg
gctgaagaaagacggcgaaagtgcggggcagcatcaacagattcaagaccagcgactacgtgaaagaagccaacagctgctgaaggtg
cagaaggcctaccaccagctggaccagagcttcacgacacctacatcgacctgctggaaacccggcgacctaactatagggacctgg
cgagggcagccccctcggtggaagacatcaagaatggtacgagatgctgatggccactgcacctacttccccgaggaactgcgga
gctgaagtacgcttacaacgccgacctgtacaacgccctgaacgacctgaacaatctcgtgatcaccaggagcagaaacgagaagctg
gaatattacgagaagttccagatcatcgagaacgtgttcaagcagaagaagaagccaccctgaagcagatcgccaaagaaatcctcgtg
aacgaagaggatattaaaggctacagagtaccagcaccggcaagcccgagttcaccaacctgaaggtgtaccagacatcaaggacat
taccgcccggaaagagattattgagaacgccgagctgctggatcagattgccaagatcctgacctctaccagagcagcgaggacatcca
ggaagaactgaccaatctgaactccgagctgacctcaggaagagatcgagcagatcttaatctgaagggtataccggcaccacacct
gagcctgaaggccatcaacctgatcctggacgagctgtggcacaccaacgacaaccagatcgctatcttcaaccggctgaagctgtgcc
caagaaggtggacctgtccagcagaaagagatccccaccacctggtggacgacttcacctgagccccgtcgtgaagagaagcttcac
ccagagcatcaaatgatcaacgccatcatcaagaagtacggcctgccaacgacatcattatcagctggcccgagagaagaactccaa
ggacgccagaaaatgatcaacgagatgcagaagcggaaccggcagaccaacgagcggatcgaggaaatcatccggaccaccggca
aagagaacgccaaagtacctgatcgagaagatcaagctgcacgacatgcaggaaggcaagtgcctgtacagcctggaagccatccctctg
gaagatctgctgaacaacccccctcaactatgaggtggaccacatcatccccagaagcgtgtccttcgacaacagcttcaacaacaaggtgct
cgtgaagcaggaagaaaacagcaagaagggaaccggacccattccagtacctgagcagcagcgacagcaagatcagctacgaaac
cttcaagaagcacatcctgaatctggccaagggaaggcgagaatcagcaagaccaagaaagagtatctgctggaagaacgggacatca
acaggttctccgtgcagaaagacttcataaccggaacctggtggataccagatacgccaccagaggcctgatgaacctgctcggagct
acttcagagtgaacaacctggacgtgaaagtgaagtccatcaatggcggttcaccagctttctcggcggaagtggaagttaagaaaga
gcggaacaagggttacaagcaccacgccgaggacgccctgatcattgccaacgccgatttcatttcaaagagtgaagaaactggaca
aggccaaaaaagtgatgaaaaccagatgttcaggaaaagcaggccgagagcatgcccagatcgaaaccgagcaggagtacaaag
agatcttcacacccccaccagatcaagcacattaaggacttcaaggactacaagtacagccaccgggtggacaagaagcctaataagag
agctgattaacgacacctgtactccaccgggaaggacgacaagggaacacctgatcgtgaacaatctgaacggcctgtacgacaag
gacaatgacaagctgaaaaagctgatcaacaagagccccgaaaagctgctgatgtaccaccacgacccccagacctaccagaaactgaa
gctgattatggaacagtacggcgacgagaagaatccccgttacaagtactacgaggaaaccgggaactacctgaccaagtactccaaaaa
ggacaacggccccgtgatcaagaagattaaagtattacggcaaaaactgaacgcccattctggacatcaccgacgactaccccaacagca
gaaacaaggctcgtgaagctgtccctgaagccctacagattcgacgtgtacctggacaatggcgtgtacaagttcgtgacctgaagaatctg

gatgtgatcaaaaaagaaaactactacgaagtgaatagcaagtgctatgaggaagctaagaagctgaagaagatcagcaaccaggccga
gtttatcgctccttctacaacaacgatctgatcaagatcaacggcgagctgtatagatgatcggtgaacaacgacctgctgaaccgga
tcgaagtgaacatgatcgacatcacctaccgcgagctacctggaaaacatgaacgacaagaggccccccaggatcattaagacaatcgct
ccaagacccagagcattaagaagtacagcacagacattctgggcaacctgtatgaagtgaatctaagaagcaccctcagatcatcaaaaa
gggcaaaaaggccggcgccacgaaaaaggccggccaggcaaaaaagaaaaag [seq id no: 36]

SEQ ID NO: 37, Полинуклеотидная последовательность Cas9 *S. aureus*

aagcggaaactacatcctgggcctggacatcgccatcaccagcgtgggtacggcatcatcgactacgagacacgggacgtga
tcgatccggcgctgctgctgttcaagaggccaacgtggaaaacaacgaggcgaggcgagcaagagaggcgccagaaggctgaag
cggcgaggcgccatagaatccagagagtgaagaagctgctgttcgactacaacctgctgaccgaccacagcgagctgagcggcatca
accctacgaggccagagtgaaggcctgagccagaagctgagcgagggaagagttctctgccgccctgctgcacctggccaagagaag
aggcgtgcacaacgtgaacgaggtggaagaggacaccggcaacgagctgtccaccaagagcagatcagccggaacagcaaggccc
tggaagagaaatcgtggccgaactgcagctggaacggctgaagaaagacggcgaaagtgcggggcagcatcaacagattcaagacca
gcgactacgtgaaagaagccaacacgctgctgaaggtgcagaaggcctaccaccagctggaccagagcttcacgacacctacatcgac
ctgctggaaacccggcgacctaactatgaggacctggcgaggcgagcccccttcggctggaaggacatcaagaatggtacgagatgct
gatggccactgcacctactccccgaggaactcgggagcgtgaagtacgcttacaacgccgacctgtacaacgccctgaacgacctga
acaatctcgtgatcaccaggacgagaacgagaagctggaatattacgagaagttccagatcatcgagaacgtgttcaagcagaagaaga
agccaccctgaagcagatcgccaaagaaatcctcgtgaacgaagaggatattaagggtacagagtgaaccagaccggcaagcccgga
gttcaccaacctgaaggtgtaccacgacatcaaggacattaccggccgaaagagattattgagaacgccgagctgctggatcagattgcc
aagatcctgaccatctaccagagcagcgaggacatccaggaagaactgaccaatctgaactccgagctgaccagggaagagatcgagca
gatctctaattgaagggtataccggcaccacaacctgagcctgaaggccatcaacctgatcctggacgagctgtggcacaccaacga
caaccagatcgctatcttcaaccggctgaagctggtgccaagaaggtggacctgtccagcagaaagagatccccaccacctggtgga
cgacttcactctgagccccgtcgtgaagagaagcttcacccagagcatcaaaagtatcaacgccatcatcaagaagtacggcctgccaac
gacatcattatcgagctggccgcgagaagaactccaaggacgccagaaaatgatcaacgagatgcagaagcggaaccggcgagacca
acgagcggatcgaggaaatcatccggaccaccggcaagagaaacgccaagtacctgatcgagaagatcaagctgcacgacatgcagga
aggcaagtgcctgtacagcctggaagccatccctctggaagatctgctgaacaaccccttcaactatgaggtggaccacatcatccccaga
agcgtgtccttcgacaacagcttcaacaacaaggtgctcgtgaagcaggaagaaaacgcaagaagggaaccggacccattccagta
cctgagcagcagcgacagcaagatcagctacgaaaccttcaagaagcacatctgaatctggccaagggaaggcgagaatcagcaag
accaagaagagtatctgctggaagaacgggacatcaacagggtctccgtgcagaagacttcacaaaccggaacctggtgataccaga
tacgccaccagaggcctgatgaacctgctgcggagctacttcagagtgaacaacctggacgtgaaagtgaagtccatcaatggcggttca
ccagcttctcggcggaagtggaaagttaagaaagagcggaaacaagggttacaagcaccacgccgaggacgccctgatcattgccaac
gccgatttcacttcaagagtggaagaaactggacaaggccaaaaaagtgatggaaaaccagatgttcgaggaaaagcaggccgagag
catgcccagatcgaaaccgagcaggagtacaagagatcttcacccccaccagatcaagcacattaaggacttcaaggactacaa
gtacagccaccgggtggacaagaagcctaatagagagctgattaacgacacctgtactccaccgggaaggacgacaagggaacacc
ctgatcgtgaacaatctgaacggcctgtacgacaaggacaatgacaagctgaaaaagctgatcaacaagagccccgaaaagctgctgatg
taccaccagacccccagacctaccagaaactgaagctgattatggaacagtacggcgacgagaagaatccccgtacaagtactacgag
gaaaccgggaactacctgaccaagtactccaaaaaggacaacggccccgtgatcaagaagattaagtattacggcaacaactgaacgc
ccatctggacatcaccgacgactacccaacagcagaaacaaggtcgtgaagctgtccctgaagccctacagattcgacgtgtacctgga
caatggcgtgtacaagttcgtgacctgaagaatctggatgtgatcaaaaaagaaaactactacgaagtgaatagcaagtgtataggaa
gctaagaagctgaagaagatcagcaaccaggccgagttatcgctccttctacaacaacgatctgatcaagatcaacggcgagctgtata
gagtgatcggcgtgaacaacgacctgctgaaccggatcgaagtgaacatgatcgacatcacctaccgcgagctacctggaaaacatgaacg

acaagaggccccccaggatcattaagacaatcgccctccaagaccagagcattaagaagtacagcacagacattctgggcaacctgtatg
aagtgaatctaagaagcaccctcagatcatcaaaaagggc [SEQ ID NO: 37]

SEQ ID NO: 38, pDO242 (SaCas9, используемый во всех проектах JCR89/91 и JCR157/160 для исследований *in vitro*; SaCas9 показан прописными буквами)

ctaaattgtaagcgtaataatgtttgttaaaattcgcgtaaatgtttgttaaatcagctcatttttaaccaataggccgaaatcggcacaaa
tcccttataaatcaaaaagaatagaccgagataggggtgagtggttccagtttgaacaagagtcactattaaagaacgtggactccaacgt
caaagggcgaaaaaccgtctatcagggcgatggccactacgtgaaccatcacctaataagtttttggggctgaggtgccgtaaaagca
ctaaatcggaaccctaaagggagccccgatttagagcttgacggggaaagccggcgaaacgtggcgagaaaggaagggaagaaagcg
aaaggagcggggcgctagggcgctggcaagtgtagcgggtcacgctgcgcgtaaccaccacacccgccgcgttaatgcgcgctacagg
gcgcgtccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagggcgatcggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaagggg
gatgtgctgcaaggcgattaagtgggtaacgccaggggttccagtcacgacgttgtaaaacgacggccagtgagcgcgctaatacga
ctcactatagggcgaaattgggtacCtttaattctagtaactatgcaTgcgttgacattgatttgactagtattaatagtaataacgtgggtc
attagttcatagcccatatattggagttccgcgttacataaactacggttaaatggccgcctggctgaccgccccacgacccccgccattgac
gtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagattttacggttaaactgccacttggca
gtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccatttgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcattatgccagttacatgaccttat
gggactttcctacttggcagttacatctagttatgcatcgctattaccatgggtgatgcgggttttggcagttacatcaatgggcgtggatagcgg
tttgactcacggggatttccaagtctccacccattgacgtcaatgggagtttggcaccacaaatcaacgggactttccaaatgtcgtaa
caactccgccccattgacgcaaatggcggttaggcgtgtacgggtggaggtctatataagcagagctctctggctaactaccgggtgccacc
ATGAAAAGGAACTACATTCTGGGGCTGGACATCGGGATTACAAGCGTGGGGTATGG
GATTATTGACTATGAAACAAGGGACGTGATCGACGCAGGCGTCAGACTGTTCAAGG
AGGCCAACGTGGAAAACAATGAGGGACGGAGAAGCAAGAGGGGAGCCAGGCGCCT
GAAACGACGGAGAAGGCACAGAATCCAGAGGGTGAAGAACTGCTGTTCGATTAC
AACCTGCTGACCGACCATTCTGAGCTGAGTGGAATTAATCCTTATGAAGCCAGGGTG
AAAGGCCTGAGTCAGAAGCTGTCAGAGGAAGAGTTTTCCGCAGCTCTGCTGCACCT
GGCTAAGCGCCGAGGAGTGCATAACGTCAATGAGGTGGAAGAGGACACCGGCAAC
GAGCTGTCTACAAAGGAACAGATCTCACGCAATAGCAAAGCTCTGGAAGAGAAGTA
TGTCGCAGAGCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGATGGCGAGGTGAGAGGGTCA
ATTAATAGGTTCAGACAAGCGACTACGTCAAAGAAGCCAAGCAGCTGCTGAAAGT
GCAGAAGGCTTACCACCAGCTGGATCAGAGCTTCATCGATACTTATATCGACCTGCT
GGAGACTCGGAGAACCTACTATGAGGGACCAGGAGAAGGGAGCCCCCTTCGGATGG
AAAGACATCAAGGAATGGTACGAGATGCTGATGGGACATTGCACCTATTTTCCAGA
AGAGCTGAGAAGCGTCAAGTACGCTTATAACGCAGATCTGTACAACGCCCTGAATG
ACCTGAACAACCTGGTCATCACCAGGGATGAAAACGAGAACTGGAATACTATGAG
AAGTTCCAGATCATCGAAAACGTGTTTAAGCAGAAGAAAAAGCCTACACTGAAACA
GATTGCTAAGGAGATCCTGGTCAACGAAGAGGACATCAAGGGCTACCGGGTGACAA
GCACTGGAAAACCAGAGTTCACCAATCTGAAAGTGTATCACGATATTAAGGACATC
ACAGCACGGAAAGAAATCATTGAGAACGCCGAAGTCTGGATCAGATTGCTAAGAT
CCTGACTATCTACCAGAGCTCCGAGGACATCCAGGAAGAGCTGACTAACCTGAACA
GCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAACAGATTAGTAATCTGAAGGGGTACACCGGA
ACACACAACCTGTCCCTGAAAGCTATCAATCTGATTCTGGATGAGCTGTGGCATAACA

AACGACAATCAGATTGCAATCTTTAACCGGCTGAAGCTGGTCCCCAAAAAAGGTGGA
CCTGAGTCAGCAGAAAGAGATCCCAACCACACTGGTGGACGATTTTATTCTGTACCC
CGTGGTCAAGCGGAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACGCCATCATCAAGA
AGTACGGCCTGCCCAATGATATCATTATCGAGCTGGCTAGGGAGAAGAACAGCAAG
GACGCACAGAAGATGATCAATGAGATGCAGAAACGAAACCGGCAGACCAATGAAC
GCATTGAAGAGATTATCCGAACCTACCGGGAAAGAGAACGCAAAGTACCTGATTGAA
AAAATCAAGCTGCACGATATGCAGGAGGGGAAAGTGTCTGTATTCTCTGGAGGCCAT
CCCCCTGGAGGACCTGCTGAACAATCCATTCAACTACGAGGTCGATCATATTATCCC
CAGAAGCGTGTCTTCGACAATTCTTTAACAACAAGGTGCTGGTCAAGCAGGAAG
AGAACTCTAAAAAGGGCAATAGGACTCCTTTCCAGTACCTGTCTAGTTCAGATTCCA
AGATCTCTTACGAAACCTTTAAAAAGCACATTCTGAATCTGGCCAAAGGAAAGGGC
CGCATCAGCAAGACCAAAAAAGGAGTACCTGCTGGAAGAGCGGGACATCAACAGATT
CTCCGTCCAGAAGGATTTTATTAACCGGAATCTGGTGGACACAAGATACGCTACTCG
CGGCCTGATGAATCTGCTGCGATCCTATTTCCGGGTGAACAATCTGGATGTGAAAGT
CAAGTCCATCAACGGCGGGTTCACATCTTTTCTGAGGCGCAAATGGAAGTTTAAAAA
GGAGCGCAACAAAGGGTACAAGCACCATGCCGAAGATGCTCTGATTATCGCAAATG
CCGACTTCATCTTTAAGGAGTGGA AAAAGCTGGACAAAGCCAAGAAAGTGATGGAG
AACCAGATGTTTGAAGAGAAGCAGGCCGAATCTATGCCCCGAAATCGAGACAGAACAA
GGAGTACAAGGAGATTTTCATCACTCCTCACCAGATCAAGCATATCAAGGATTTCAA
GGACTACAAGTACTCTCACCGGGTGGATAAAAAGCCCAACAGAGAGCTGATCAATG
ACACCCTGTATAGTACAAGAAAAGACGATAAGGGGAATACCCTGATTGTGAACAAT
CTGAACGGACTGTACGACAAAGATAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAAA
GTCCCGAGAAGCTGCTGATGTACCACCATGATCCTCAGACATATCAGAACTGAAG
CTGATTATGGAGCAGTACGGCGACGAGAAGAACCCACTGTATAAGTACTATGAAGA
GACTGGGAACCTGACCAAGTATAGCAAAAAGGATAATGGCCCCGTGATCAAGA
AGATCAAGTACTATGGGAACAAGCTGAATGCCCATCTGGACATCACAGACGATTAC
CCTAACAGTCGCAACAAGGTGGTCAAGCTGTCACTGAAGCCATACAGATTTCGATGT
CTATCTGGACAACGGCGTGTATAAATTTGTGACTGTCAAGAATCTGGATGTCATCAA
AAAGGAGA ACTACTATGAAGTGAATAGCAAGTGCTACGAAGAGGCTAAAAAGCTG
AAAAAGATTAGCAACCAGGCAGAGTTCATCGCCTCCTTTTACAACAACGACCTGATT
AAGATCAATGGCGAACTGTATAGGGTCATCGGGGTGAACAATGATCTGCTGAACCG
CATTGAAGTGAATATGATTGACATCACTTACCGAGAGTATCTGGAAAACATGAATG
ATAAGCGCCCCCTCGAATTATCAAAAACAATTGCCTCTAAGACTCAGAGTATCAAAA
AGTACTCAACCGACATTCTGGGAAACCTGTATGAGGTGAAGAGCAAAAAGCACCCCT
CAGATTATCAAAAAGGGCagcggaggcaagcgctcgtcgtactaagaaagctggtaagctaagaaaaagaaagga
tctaccatacagatgttccagattacgcttaagaattcctagagctcgctgatcagcctcgactgtgccttctagtgtccagccatctgtgtttg
ccccccccctgccttcttgaccctggaaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgcacgcattgtctgagtaggt
gtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagagaatagcaggcatgctggggaggtagcgg
ccgcCCgcggtggagctccagcttttgttcccttttagtgagggttaattgcgcgcttggcgtaatcatggtcatagctgttctctgtgtgaaatt
gttatccgctcacaattccacacaacatacagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaatagtgtgagctaaactcacattaattg

cgttgcgctcactgcccgtttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcgcccaacgcgcggggagaggcggtttgcg
tattgggcgctcttccgcttcctcgctcactgactcgctgcgtcggcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaaggcggtaat
acggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgc
gttgctggcggttttccataggtccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagagggtggcgaaaccgacaggacta
taaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctcctgttccgacctgccgcttaccggatacctgtccgcttttcccttc
gggaagcggtggcgcttttcatagctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaaccccc
cgttcagcccagccgctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatgccactggcagcagccactg
gtaacaggattagcagagcgaggtatgtaggggtgtacagagttctgaagtgggtggcctaactacggctacactagaaggacagtattt
ggatctgcgctcgtgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaacaccccgctggtagcggtggtttt
tttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggtctgacgctcagtgaacgaa
aactcacgttaagggattttggcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatccttttaaaataaaaatgaagtttaaatcaatctaaagtat
atatgagtaaaacttggtctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcatccatagttgcctgactc
cccgctgtagataactacgatacgggaggggttaccatctgccccagtgctgcaatgataccgcgagacccacgctcaccggctcca
gatttatcagcaataaaccagccagccggaagggccgagcgcagaagtggctctgcaactttatccgctccatccagctatttaattgttgc
cggaagctagagtaagtagttcgcaggttaatatgtttgcgaacgttggtgcatctacaggcatcgtggtgtcacgctcgtcgtttggtat
ggcttattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatgttggtgcaaaaaagcggttagctccttcggtcctccgac
gttgtcagaagtaagttggccgcagtggtatcactcatggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgctttctg
tgactggtgagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgcggcgcaataacgggataataccgcg
ccacatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaaagttcttcggggcgaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcga
tgtaaccactcgtgcaccaactgatcttcagcatcttttactttaccagcggtttctgggtgagcaaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaa
aaaagggaataagggcgacacggaaatgtgaatactcatactcttcttttcaatattattgaagcatttatcaggggtattgtctcatgagcg
gatacatatttgatgtatttagaaaaataaacaataaggggtccgcgcacatttccccgaaaagtgccac [SEQ ID NO:38]

SEQ ID NO: 39, Аминокислотная последовательность молекулы Cas9 *S. aureus*

MKRNILGLDIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARR
LKRRRRHRIQVRVKKLLFDYNLLTDHSELGINPYEARVKGLSQKLSEEEFSAALLHLAKR
RGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKKDGEVRGSINRFKTS
DYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEKSPFGWKDIKEWYEM
LMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVITRDENEKLEYEYKFQIENVFKQK
KKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNLKVYHDIKDITARKEIENAEILLDQIA
KILTIYQSSEDIQEELTNLNSLTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQ
IAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIKKYGLPNDIHEL
AREKNSKDAQKMINEMQKRNRQTNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYS
LEAIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSK
ISYETFKKHILNLA KGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRGLMN
LLRSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEALIANADFIFKE
WKKLDKAKKVMENQMFEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIKHIKDFKDYKYSHRVD
KKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKLINKSPEKLLMYHHDP
QTYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYEEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGNKLNAHLD
ITDDYPNSRNKVVKLSLKPYRFDVYLDNGVYKFVTVKNLDVIKKENYYEVNSKCYEEA
KKLKKISNQAEFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMIDITYREYLENMND

KRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEVKSKKHPQIIKKG [SEQ ID NO: 39]

SEQ ID NO: 40, Аминокислотная последовательность молекулы Cas9 *S. aureus*

KRNYILGLDIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARRL
KRRRRHRIQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEEEFSAALLHLAKRR
GVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKKDGEVRGSINRFKTS
YVKEAKQLLKVKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEM
MGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVITRDENEKLEYEYKFIENVFKQKK
KPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNLKVYHDIKDITARKEIENAELLDQIAKI
LTIYQSSEDIQEELTNLNSLTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQIA
IFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIELAR
EKNSKDAQKMINEMQKRNRQTNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLE
AIPLEDLLNPNFNYEVDHIIIPRSVSFDNSFNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKIS
YETFKKHILNLAAGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRGLMNL
LRSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEW
KKLDKAKKVMENQMFEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIKHIKDFKDYKYSHRVDK
KPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLLKLINKSPEKLLMYHHDPQ
TYQKLKLIMEQYGDENPLYKYEEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYGYGNKLNAHLDI
TDDYPNSRNKVVKLSLKPYRFDVYLDNGVYKFVTVKNLDVIKKENYYEVNSKCYEEA
KKLKKISNQAEFIAFYNNDLIKINGELRVIGVNNDLLNRIEVMIDITYREYLENMND
KRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEVKSKKHPQIIKKG [SEQ ID NO: 40]

SEQ ID NO: 41, Вариант 1 вектора 5

cctgcaggcagctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgcccggcgctggggcgacctttggtgcggcgccctcagtgcgcg
agcgagcgcgcagagaggagtgcccaactccatcactaggggttcctgcggccTCTAGACTCGAGTCGAGTGGCT
CCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGG
GGAGGGGTTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGG
AAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATA
TAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACAC
AGGTGTCGTGACCGCGGCCATGGtctagaggatccggtactcgaggaaactgaaaaccagaaagttaactggttaagt
ttagtctttttgtctttttttcaggtcccggatccggtggtggtgcaaatcaagaactgctcctcagtggtggtgctttacttctaggcctgta
cggaagtgttacgccaCCATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTTCGGTATCCACGGAGTCCC
AGCAGCCAAGCGGAACCTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCACCAGCGTGGGCT
ACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACGTGATCGATGCCGGCGTGCGGCTGTTC
AAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGCAGGCGGAGCAAGAGAGGGCGCCAGA
AGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCCAGAGAGTGAAGAAGCTGCTGTTCG
ACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTGAGCGGCATCAACCCCTACGAGGCC
AGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCGAGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCT
GCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAACGTGAACGAGGTGGAAGAGGACACC
GGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCAGCCGGAACAGCAAGGCCCTGGAAG
AGAAATACGTGGCCGAACCTGCAGCTGGAACGGCTGAAGAAAGACGGCGAAGTGCG
GGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGACTACGTGAAAGAAGCCAAACAGCTGC

TGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGACCAGAGCTTCATCGACACCTACATC
GACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGAGGGACCTGGCGAGGGCAGCCCCTT
CGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGATGCTGATGGGCCACTGCACCTACT
TCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCTACAACGCCGACCTGTACAACGCC
CTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGGGACGAGAACGAGAAGCTGGAATA
TTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTTCAAGCAGAAGAAGAAGCCCACCC
TGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAACGAAGAGGATATTAAGGGCTACAGA
GTGACCAGCACCGGCAAGCCCGAGTTCACCAACCTGAAGGTGTACCACGACATCAA
GGACATTACCGCCCCGGAAAGAGATTATTGAGAACGCCGAGCTGCTGGATCAGATTG
CCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAGGACATCCAGGAAGAACTGACCAAT
CTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGAGCAGATCTCTAATCTGAAGGGCTA
TACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCATCAACCTGATCCTGGACGAGCTGT
GGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCAACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAG
AAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCCACCACCCTGGTGGACGACTTCAT
CCTGAGCCCCGTCTGTGAAGAGAAGCTTCATCCAGAGCATCAAAGTGATCAACGCCA
TCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCATTATCGAGCTGGCCCCGCGAGAAG
AACTCCAAGGACGCCCAGAAAATGATCAACGAGATGCAGAAGCGGAACCGGCAGA
CCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCACCGGCAAAGAGAACGCCAAGTA
CCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAGGAAGGCAAGTGCCTGTACAGCC
TGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAACCCCTTCAACTATGAGGTGGACC
ACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAGCTTCAACAACAAGGTGCTCGTGA
AGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGGACCCCATTCAGTACCTGAGCAG
CAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAAGAAGCACATCCTGAATCTGGCCA
AGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAAGAGTATCTGCTGGAAGAACGGGA
CATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCATCAACCGGAACCTGGTGGATACCA
GATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGCGGAGCTACTTCAGAGTGAACAAC
CTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGCTTCACCAGCTTTCTGCGGCGGAA
GTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGTACAAGCACCACGCCGAGGACGCC
CTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGAGTGGAAGAACTGGACAAGGC
CAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAAAAGCAGGCCGAGAGCATGCCC
GAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCTTCATCACCCCCCACCAGATCAA
GCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGCCACCGGGTGGACAAGAAGCCTA
ATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCACCCGGAAGGACGACAAGGGCAAC
ACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACGACAAGGACAATGACAAGCTGAA
AAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCTGATGTACCACCACGACCCCCAGA
CCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGTACGGCGACGAGAAGAATCCCCTG
TACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTGACCAAGTACTCCAAAAAGGACAA
CGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGGCAACAACTGAACGCCCATCTGG
ACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACAAGGTCTGTGAAGCTGTCCCTGAAG
CCCTACAGATTTCGACGTGTACCTGGACAATGGCGTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAG

AATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAAGTACTACGAAGTGAATAGCAAGTGCTATGA
 GGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAACCAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCT
 ACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAGCTGTATAGAGTGATCGGCGTGAAC
 AACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACATGATCGACATCACCTACCGCGAGTA
 CCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCCCCAGGATCATTAAAGACAATCGCCTCCA
 AGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGACATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTG
 AAATCTAAGAAGCACCTCAGATCATCAAAAAGGGCAAAAGGCCGGCGGCCACGA
 AAAAGGCCGGCCAGGCCAAAAAAGAAAAAGggatccGAATTCtagcaataaaggatcggtttatttcattg
 gaagcgtgtgttggtttttgatcaggcgGGTACCAAAAATCTCGCCAACAAGTTGACGAGATAAAC
 ACGGCATTTTGCCTTGTTTTAGTAGATTCTGTTTCCAGAGTACTAAAAACacatttctctctata
 caaatgCGGTGTTTCGTCCTTTCCACAAGATATATAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTT
 CAAGTTACGGTAAGCATATGATAGTCCATTTTAAAACATAATTTTAAAACACTGCAAAC
 TACCCAAGAAATTATTACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTA
 CAGTCAAATTAATTCCAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATG
 AAGGAATCATGGGAAATAGGCCCTCCTCGACTAGTAGAAAAATCTCGCCAACAAGT
 TGACGAGATAAACACGGCATTTTGCCTTGTTTTAGTAGATTCTGTTTCCAGAGTACT
 AAAACGTGCCAATAATTTCACTATATCGGTGTTTCGTCCTTTCCACAAGATATAT
 AAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGCATATGATAGTCCATTTTA
 AAACATAATTTTAAAACACTGCAAACACTACCCAAGAAATTATTACTTTCTACGTCACGTA
 TTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTCCAATTATCTCTCTAACAG
 CTTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAAATAGGCCCTCGGTACAg
 gaacccctagtgatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcactgagggcgggcgaccaaaggctgcccgcgcccggg
 ctttggccggggcgccctcagtgagcgagcgagcgcgagctgctgcagggcgccctgatgcggtattttctcttaccgcatctgtcggt
 atttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtagcgccctgtagcgcgcatlaagcgcgggcggtgtggtggttacgcgagcgtga
 ccgctacacttgccagcgccctagcgcccgctcttctgctttcttcccttcttctcgccacgttcgcccgtttccccgtaagctctaaatc
 gggggctccctttaggttccgatttagtctttacggcacctcgacccccaaaaacttgatttgggtgatggttcacgtagtgggccatcgcc
 ctgatagacggtttttcgcccttgacgttggagtccacgttcttaataaggactctgttccaaactggaacaacactcaacctctatctggg
 ctattcttttgattataagggttttgcgatttcggcctatttggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatatta
 acgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatgtaagccagccccgacaccgccaacaccgctgacgcg
 ccctgacgggcttgtctgctcccgcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgctagaggtttaccgtcatca
 ccgaaacgcgcgagacgaaaggccctgtgatacgctattttataggttaatgtcatgataataatggttcttagacgtcaggtggcacttt
 tcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgttttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacccctgataaatgttcaa
 taatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattccctttttcgggcattttgcttctctgttttctcaccagaa
 acgttggtgaaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgaga
 gttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaagtctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggcaagagca
 actcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagtcacagaaaagcatcttacggtggcatgacagtaagaga
 attatgcagtgtgccataaccatgagtataacactcgggccaacttactctgacaacgatcgaggaccgaaggagctaaccgcttttt
 gcacaacatgggggatcatgtaactcgcttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccagat
 gcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactatttaactggcgaactacttactctagcttccccggcaacaattaatagactggatggagcg
 ggataaagttgcaggaccacttctgcgctcgcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtggaagccgcg

gtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgatcgtagtattctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaat
 agacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcattt
 ttaattttaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacaaaatcccttaacgtgagttttcgtccactgagcgtcagaccccgta
 gaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcacaaaaaaaccaccgctaccagcgggtgtttgttg
 ccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttag
 gccaccactcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgctaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtct
 taccgggttggaactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctgggctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagcttgagc
 gaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcggcagctcccgaaggagaaaggcggacaggtatcc
 ggtaagcggcaggggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttcagggggaaacgcctggatctttatagtcctgtcgggttcgcc
 acctctgacttgagcgtcgtatttttgtgatgctcgtcagggggggcgagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacgggttcctgg
 ccttttctggccttttctcacatgt

SEQ ID NO: 42, Вариант 2 вектора 5

cctgcaggcagctgcgcgtcgtcgtcactgaggccgccggggcgctggggcgacctttggctgccccggcctcagtgagcg
 agcgagcgcgcagagaggagtgccaactccatcactaggggttctcgcggccTCTAGACTCGAGCTAGACTAGC
 ATGCTGCCCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGGGGACACCCGAGATGCCTGGTTATAAT
 TAACCCAGACATGTGGCTGCCCCCCCCCCCCAACACCTGCTGCCTCTAAAAATAAC
 CCTGCATGCCATGTTCCCGGCGAAGGGCCAGCTGTCCCCCGCCAGCTAGACTCAGCA
 CTTAGTTTAGGAACCAAGTGAGCAAGTCAGCCCTTGGGGCAGCCCATAACAAGGCCAT
 GGGGCTGGGCAAGCTGCACGCCTGGGTCCGGGGTGGGCACGGTGCCCGGGCAACGA
 GCTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGCCCCCTCCCTGGGGACAGCCCCTCCTGGCTAG
 TCACACCCTGTAGGCTCCTCTATATAACCCAGGGGACAGGGGGCTGCCCTCATTCTA
 CCACCACCTCCACAGCACAGACAGACACTCAGGAGCCAGCCAGCCATGGtctagaggatcc
 ggtactcgaggaactgaaaaaccagaaagtaactggtaagtttagtctttttatttcaggtccccggtggtggtgcaaatcaa
 agaactgctcctcagtggatgttgcctttacttctagggcgtgtacggaagtgttacgccaCCATGGCCCCAAAGAAGAAG
 CGGAAGGTTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCAAGCGGAACCTACATCCTGGGCCT
 GGACATCGGCATCACCAAGCGTGGGCTACGGCATCATCGACTACGAGACACGGGACG
 TGATCGATGCCGGCGTGC GGCTGTTCAAAGAGGCCAACGTGGAAAACAACGAGGGGC
 AGGCGGAGCAAGAGAGGCGCCAGAAGGCTGAAGCGGCGGAGGCGGCATAGAATCC
 AGAGAGTGAAGAAGCTGCTGTTGACTACAACCTGCTGACCGACCACAGCGAGCTG
 AGCGGCATCAACCCCTACGAGGCCAGAGTGAAGGGCCTGAGCCAGAAGCTGAGCG
 AGGAAGAGTTCTCTGCCGCCCTGCTGCACCTGGCCAAGAGAAGAGGCGTGCACAAC
 GTGAACGAGGTGGAAGAGGACACCGGCAACGAGCTGTCCACCAAAGAGCAGATCA
 GCCGGAACAGCAAGGCCCTGGAAGAGAAATACGTGGCCGAACTGCAGCTGGAACG
 GCTGAAGAAAGACGGCGAAGTGCGGGGCAGCATCAACAGATTCAAGACCAGCGAC
 TACGTGAAAGAAGCCAAACAGCTGCTGAAGGTGCAGAAGGCCTACCACCAGCTGGA
 CCAGAGCTTCATCGACACCTACATCGACCTGCTGGAAACCCGGCGGACCTACTATGA
 GGGACCTGGCGAGGGCAGCCCCCTTCGGCTGGAAGGACATCAAAGAATGGTACGAGA
 TGCTGATGGGCCACTGCACCTACTTCCCCGAGGAACTGCGGAGCGTGAAGTACGCCT
 ACAACGCCGACCTGTACAACGCCCTGAACGACCTGAACAATCTCGTGATCACCAGG
 GACGAGAACGAGAAGCTGGAATATTACGAGAAGTTCCAGATCATCGAGAACGTGTT

CAAGCAGAAGAAGAAGCCCCACCCTGAAGCAGATCGCCAAAGAAATCCTCGTGAAC
GAAGAGGATATTAAGGGCTACAGAGTGACCAGCACCGGCAAGCCCCGAGTTCACCAA
CCTGAAGGTGTACCACGACATCAAGGACATTACCGCCCCGAAAGAGATTATTGAGA
ACGCCGAGCTGCTGGATCAGATTGCCAAGATCCTGACCATCTACCAGAGCAGCGAG
GACATCCAGGAAGAAGTGAACCAATCTGAACTCCGAGCTGACCCAGGAAGAGATCGA
GCAGATCTCTAATCTGAAGGGCTATACCGGCACCCACAACCTGAGCCTGAAGGCCA
TCAACCTGATCCTGGACGAGCTGTGGCACACCAACGACAACCAGATCGCTATCTTCA
ACCGGCTGAAGCTGGTGCCCAAGAAGGTGGACCTGTCCCAGCAGAAAGAGATCCCC
ACCACCCTGGTGGACGACTTCATCCTGAGCCCCGTCGTGAAGAGAAGCTTCATCCAG
AGCATCAAAGTGATCAACGCCATCATCAAGAAGTACGGCCTGCCCAACGACATCAT
TATCGAGCTGGCCCCGCGAGAAGAAGTCCAAGGACGCCAGAAAATGATCAACGAGA
TGCAGAAGCGGAACCGGCAGACCAACGAGCGGATCGAGGAAATCATCCGGACCAC
CGGCAAAGAGAACGCCAAGTACCTGATCGAGAAGATCAAGCTGCACGACATGCAG
GAAGGCAAGTGCCTGTACAGCCTGGAAGCCATCCCTCTGGAAGATCTGCTGAACAA
CCCCTTCAACTATGAGGTGGACCACATCATCCCCAGAAGCGTGTCTTCGACAACAG
CTTCAACAACAAGGTGCTCGTGAAGCAGGAAGAAAACAGCAAGAAGGGCAACCGG
ACCCCATTCAGTACCTGAGCAGCAGCGACAGCAAGATCAGCTACGAAACCTTCAA
GAAGCACATCCTGAATCTGGCCAAGGGCAAGGGCAGAATCAGCAAGACCAAGAAA
GAGTATCTGCTGGAAGAACGGGACATCAACAGGTTCTCCGTGCAGAAAGACTTCAT
CAACCGGAACCTGGTGGATACCAGATACGCCACCAGAGGCCTGATGAACCTGCTGC
GGAGCTACTTCAGAGTGAACAACCTGGACGTGAAAGTGAAGTCCATCAATGGCGGC
TTCACCAGCTTTCTGCGGCGGAAGTGGAAGTTTAAGAAAGAGCGGAACAAGGGGT
CAAGCACACGCGCGAGGACGCCCTGATCATTGCCAACGCCGATTTTCATCTTCAAAGA
GTGGAAGAACTGGACAAGGCCAAAAAAGTGATGGAAAACCAGATGTTCGAGGAA
AAGCAGGCCGAGAGCATGCCCCGAGATCGAAACCGAGCAGGAGTACAAAGAGATCT
TCATCACCCCCCACCAGATCAAGCACATTAAGGACTTCAAGGACTACAAGTACAGC
CACCGGGTGGACAAGAAGCCTAATAGAGAGCTGATTAACGACACCCTGTACTCCAC
CCGGAAGGACGACAAGGGCAACACCCTGATCGTGAACAATCTGAACGGCCTGTACG
ACAAGGACAATGACAAGCTGAAAAAGCTGATCAACAAGAGCCCCGAAAAGCTGCT
GATGTACCACCACGACCCCCAGACCTACCAGAACTGAAGCTGATTATGGAACAGT
ACGGCGACGAGAAGAATCCCCTGTACAAGTACTACGAGGAAACCGGGAACCTACCTG
ACCAAGTACTCCAAAAAGGACAACGGCCCCGTGATCAAGAAGATTAAGTATTACGG
CAACAACTGAACGCCATCTGGACATCACCGACGACTACCCCAACAGCAGAAACA
AGGTCGTGAAGCTGTCCCTGAAGCCCTACAGATTCGACGTGTACCTGGACAATGGC
GTGTACAAGTTCGTGACCGTGAAGAATCTGGATGTGATCAAAAAAGAAAATACTA
CGAAGTGAATAGCAAGTGCTATGAGGAAGCTAAGAAGCTGAAGAAGATCAGCAAC
CAGGCCGAGTTTATCGCCTCCTTCTACAACAACGATCTGATCAAGATCAACGGCGAG
CTGTATAGAGTGATCGGCGTGAACAACGACCTGCTGAACCGGATCGAAGTGAACAT
GATCGACATCACCTACCGCGAGTACCTGGAAAACATGAACGACAAGAGGCCCCCA
GGATCATTAAGACAATCGCCTCCAAGACCCAGAGCATTAAAGAAGTACAGCACAGAC

ATTCTGGGCAACCTGTATGAAGTGAAATCTAAGAAGCACCCCTCAGATCATCAAAAA
 GGGCAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGggat
 ccGAATTCtagcaataaaggatcggtttattttcattggaagcgtgtgtgtgtttttgatcaggcgcgGGTACCAAAAATCT
 CGCCAACAAGTTGACGAGATAAACACGGCATTTCCTTGTTCCTTTAGTAGATTCTGTT
 TCCAGAGTACTAAAAACacatttcctctctatacaaatgCGGTGTTTCGTCCTTTCCACAAGATATAT
 AAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACGGTAAGCATATGATAGTCCATTTTA
 AAACATAATTTTAAACTGCAAACACTACCCAAGAAATTATTACTTTCTACGTCACGTA
 TTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAATTAATTCCAATTATCTCTCTAACAG
 CCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCATGGGAAATAGGCCCTCCTCGACTA
 GTAGAAAAATCTCGCCAACAAGTTGACGAGATAAACACGGCATTTCCTTGTTCCTT
 GTAGATTCTGTTTCCAGAGTACTAAACGTGCCAATAATTTTCATTACTATATCGGTG
 TTTCGTCCTTTCCACAAGATATATAAAAGCCAAGAAATCGAAATACTTTCAAGTTACG
 GTAAGCATATGATAGTCCATTTTAAACATAATTTTAAACTGCAAACACTACCCAAGA
 AATTATTACTTTCTACGTCACGTATTTTGTACTAATATCTTTGTGTTTACAGTCAAAT
 TAATTCCAATTATCTCTCTAACAGCCTTGTATCGTATATGCAAATATGAAGGAATCA
 TGGGAAATAGGCCCTCGGTACCaggaaccctagtgatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcact
 gaggccggggcgaccaaaggctgcccgcgcccggggtttgcccggcgccctcagtgcgcgagcgagcgcgagctgcctgcaggg
 gcgcctgatgcggtattttctcttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatacgtcaaagcaaccatagtcgcgcctgtagcggcgcat
 taagcggcggggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttgcgcgccttagcgcgcctctcttctcttctctctctctct
 cgccacgttcgcgggtttcccgctcaagctctaaatcgggggtcccttttagggttccgatttagtgccttacggcacctcgacccccaaaa
 acttgatttgggtgatggttcacgttagtggccatcgccctgatagacggttttgcgcctttgacgttggagtcacgttcttaaatagtgact
 ctgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggttattctttgatttataagggttttgcgcctttgcgcctattggttaaaaaatgag
 ctgatttaacaaaaatftaacgcgaatttaacaaaatftaacgtttacaattttatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagtt
 aagccagccccgacaccgccaacaccgctgacgcgcctgacgggcttgcctgcctccggcatccgcttacagacaagctgtgaccg
 tctccgggagctgcatgtgacagaggttttaccgctcatccgaaacgcgcgagacgaaagggcctgtgatacgcctattttataggtta
 atgtcatgataaatggttcttagacgtcaggtggcacttttggggaaatgtgcgcggaaccctatttgttttttctaaatacattcaaat
 atgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgttcaataatftgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgcgccttatt
 ccttttttgcggcattttgccttctgttttgcctcaccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggtg
 ttacatcgaactggatctcaacagcggtgaagatccttgagagtttgcgcctgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaggttctgctatg
 tggcgcggtattatccggtattgacgcgggcaagagcaactcggtgcgcgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagt
 cacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgcataaccatgagtataacactgcggccaacttacttct
 gacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctg
 aatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaaactattaactggcgaactactta
 ctctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcgataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggttta
 ttgctgataaatctggagccggtgagcgtggaagccggtatcattgcagcactggggccagatggttaagccctcccgatcgtatgtatc
 tacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggttaactgtcag
 accaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcattttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgacaaaatc
 ccttaacgtgagtttcttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgatcctttttctgcgcgtaactctgctgct
 tgcaaacacaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggttaactggcttcagcagag
 cgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctgctaact

cctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggaactcaagacgatagttaccggataaggcgagcggctc
ggctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacacgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaag
cgccacgcttcccgaaggagaaaaggcggacaggtatccgtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttcag
ggggaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggttcgccacctctgacttgagcgtcgatTTTTgtgatgctcgtcaggggggcggagcct
atggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgt

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Система CRISPR-Cas, содержащая один или более векторов, кодирующих композицию, где указанная композиция включает:

(a) первую молекулу руководящей РНК (рРНК), нацеленную на интрон 44 дистрофина;

(b) вторую молекулу рРНК, нацеленную на интрон 55 дистрофина;

(c) белок Cas9; и

(d) один или более остовов рРНК Cas9.

2. Система по п. 1, где система содержит один вектор.

3. Система по п. 1, где система содержит два или более векторов, где два или более векторов содержат первый вектор и второй вектор.

4. Система по п. 3, где

(a) первый вектор кодирует первую молекулу рРНК и вторую молекулу рРНК; и

(b) второй вектор кодирует белок Cas9.

5. Система по п. 3, где

(a) первый вектор кодирует первую молекулу рРНК; и

(b) второй вектор кодирует вторую молекулу рРНК.

6. Система по п. 5, где первый вектор дополнительно кодирует белок Cas9.

7. Система по п. 5 или 6, где второй вектор дополнительно кодирует белок Cas9.

8. Система по любому из пп. 1-7, где экспрессия белка Cas9 инициируется конститутивным промотором или мышцеспецифическим промотором.

9. Система по п. 8, где мышцеспецифический промотор включает промотор МНСК7, промотор СК8 или промотор Spc512.

10. Система по п. 2, где один вектор кодирует первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и белок Cas9.

11. Система по любому из пп. 1-10, где вектор содержит по меньшей мере один двунаправленный промотор.

12. Система по п. 11, где двунаправленный промотор включает:

первый промотор, инициирующий экспрессию первой молекулы рРНК и/или второй молекулы рРНК; и

второй промотор, инициирующий экспрессию белка Cas9.

13. Система по любому из пп. 1-12, где первая рРНК нацелена на полинуклеотид SEQ ID NO: 2 или его 5'-усеченный вариант.

14. Система по любому из пп. 1-13, где вторая рРНК нацелена на полинуклеотид SEQ ID NO: 3 или его 5'-усеченный вариант.

15. Система по любому из пп. 1-14, где белок Cas9 представляет собой белок SpCas9, SaCas9 или St1Cas9.

16. Система по любому из пп. 1-15, где остов рРНК Cas9 представляет собой остов рРНК SaCas9.

17. Система по п. 16, где остов рРНК SaCas9 содержит полинуклеотид SEQ ID NO:

4 или кодируется этим полинуклеотидом.

18. Система по любому из пп. 1-17, где белок Cas9 представляет собой белок SaCas9, кодируемый полинуклеотидом SEQ ID NO: 11.

19. Система по любому из пп. 1-18, где вектор содержит по меньшей мере один полинуклеотид, выбранный из SEQ ID NO: 1-13 и 24.

20. Система по любому из пп. 1-19, где вектор содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 24.

21. Система по любому из пп. 1-20, где вектор содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30.

22. Система по любому из пп. 1-21, где вектор представляет собой вирусный вектор.

23. Система по любому из пп. 1-22, где вектор представляет собой аденоассоциированный вирусный (AAV) вектор.

24. Система по п. 23, где вектор AAV представляет собой AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV-10, AAV-11, AAV-12, AAV-13 или AAVrh.74.

25. Система по любому из пп. 1-24, где вектор содержит универсальный промотор или тканеспецифический промотор, функционально связанный с полинуклеотидной последовательностью, кодирующей первую молекулу рРНК, вторую молекулу рРНК и/или белок Cas9.

26. Система по п. 25, где тканеспецифический промотор представляет собой мышцеспецифический промотор.

27. Клетка, включающая систему по любому из пп. 1-26.

28. Набор, включающий систему по любому из пп. 1-26.

29. Способ коррекции мутантного гена дистрофина в клетке, включающий введение в клетку системы по любому из пп. 1-26.

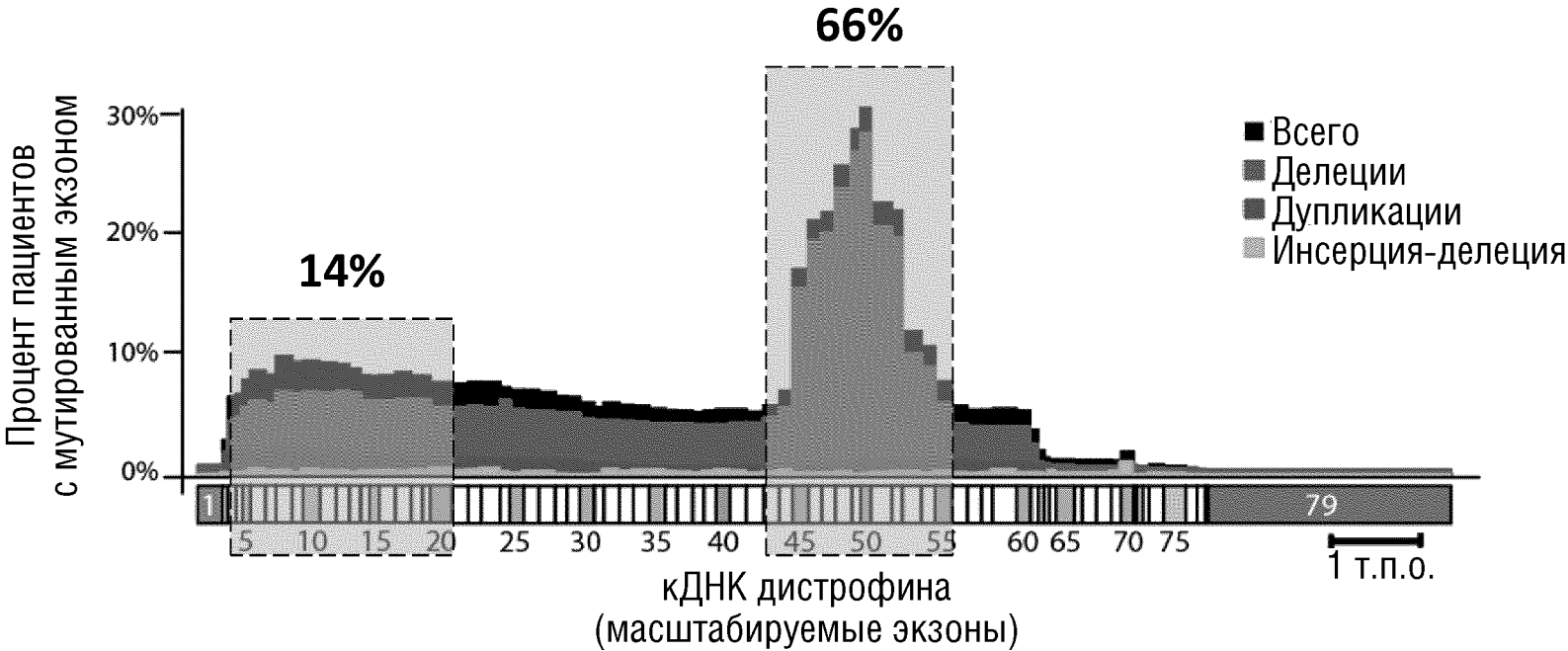
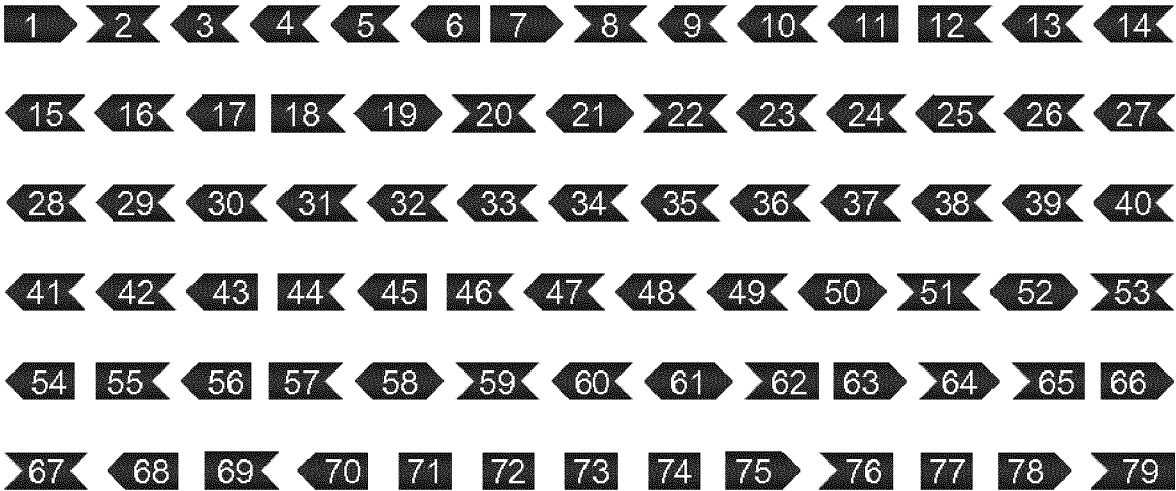
30. Способ редактирования генома мутантного гена дистрофина у индивидуума, где указанный способ включает введение индивидууму системы по любому из пп. 1-26 или клетки по п. 27.

31. Способ лечения индивидуума, имеющего мутантный ген дистрофина, где указанный способ включает введение индивидууму системы по любому из пп. 1-26 или клетки по п. 27.

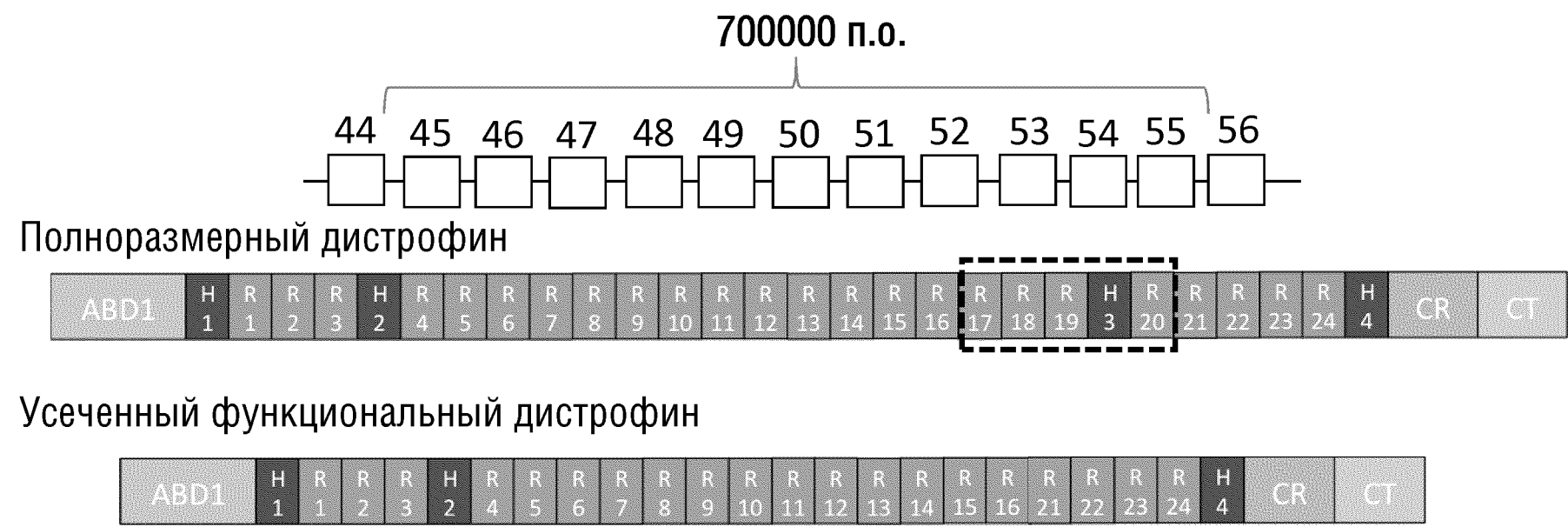
32. Способ по п. 30 или 31, где систему или клетку вводят индивидууму внутримышечно, внутривенно или в их комбинации.

По доверенности

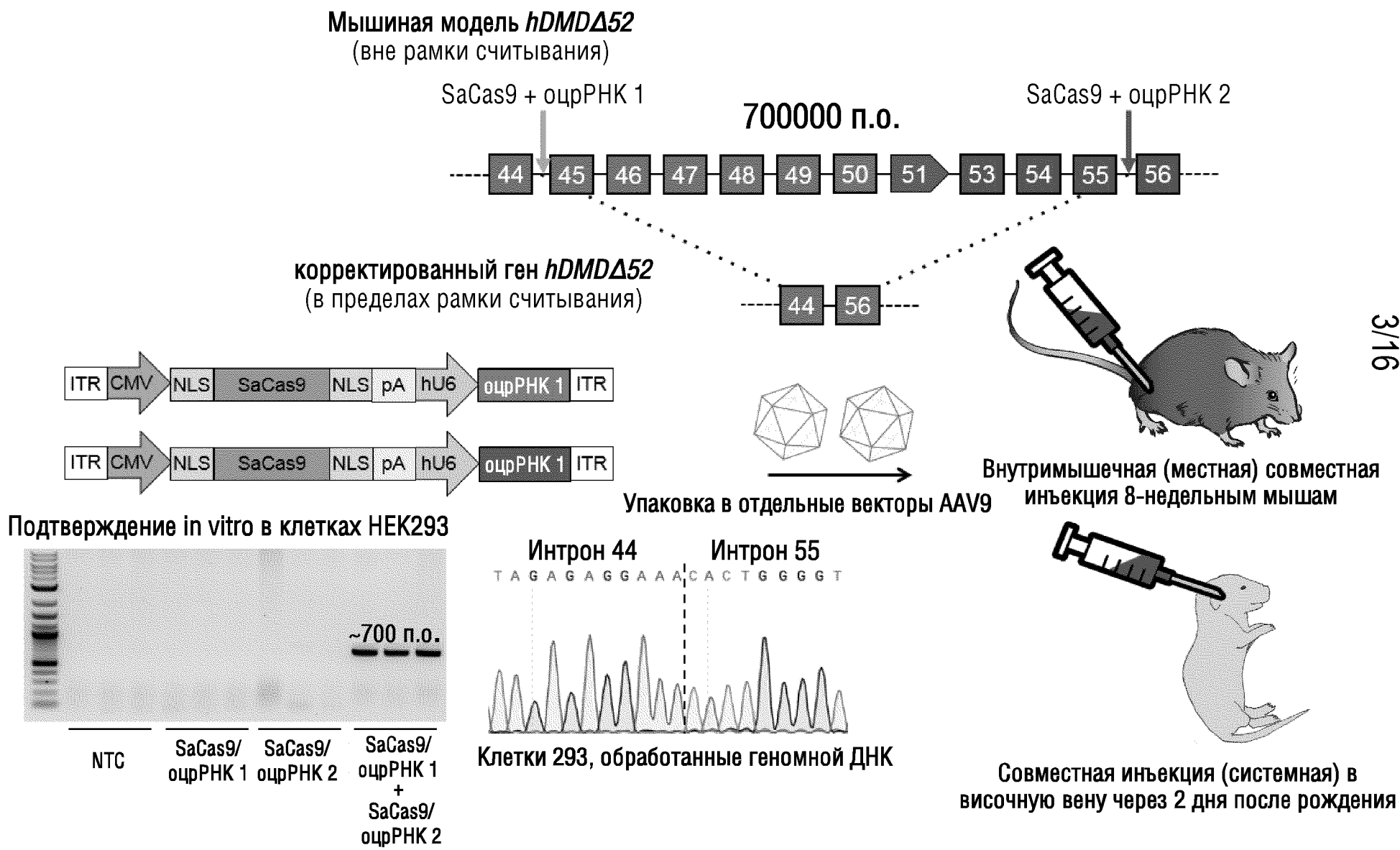
ФИГ.1



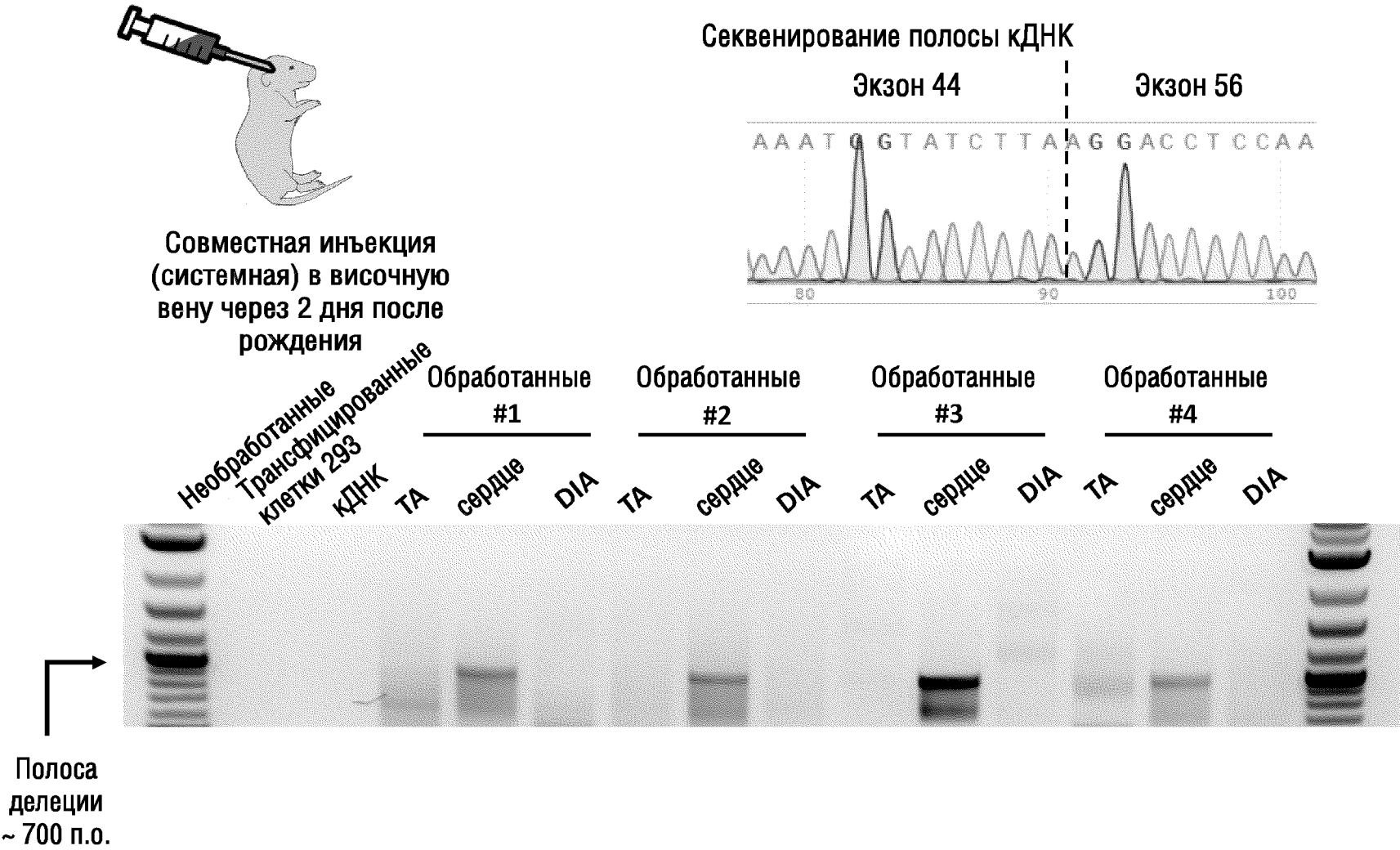
ФИГ.2



ФИГ.3

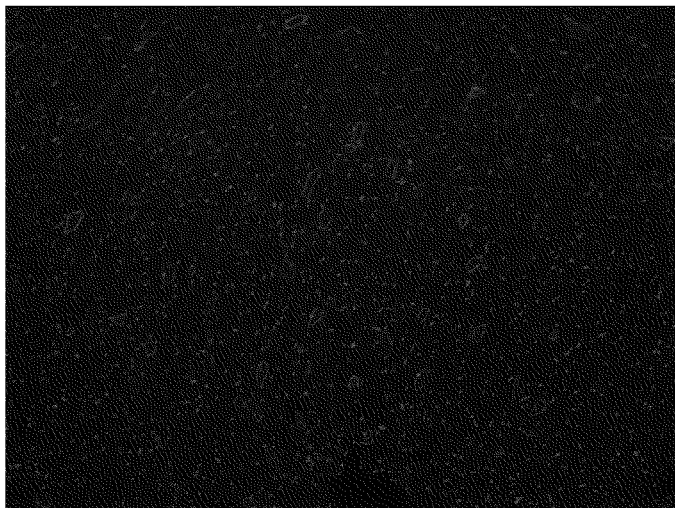


ФИГ.4

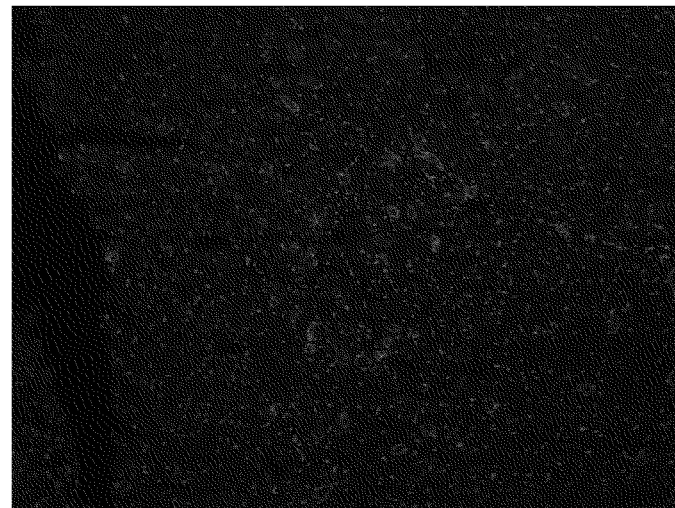


ФИГ.5

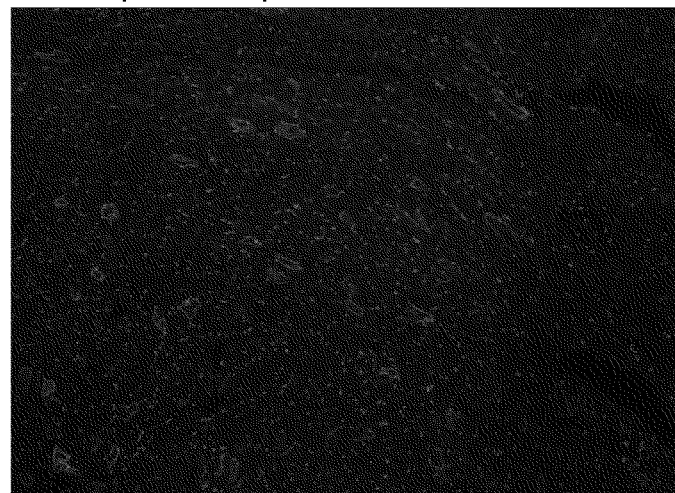
Сердце обработанной мыши 1



Сердце обработанной мыши 2

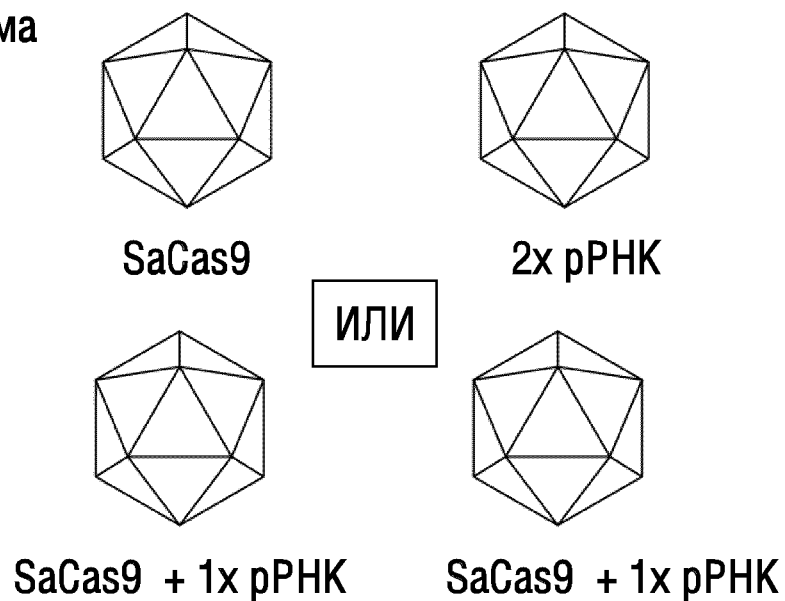


Сердце обработанной мыши 3



ФИГ.6

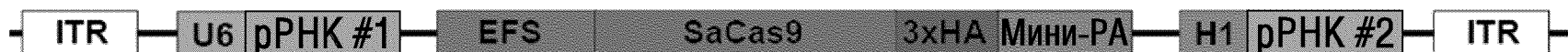
Традиционная двухвекторная система
(используемая ранее)



Одновекторная система

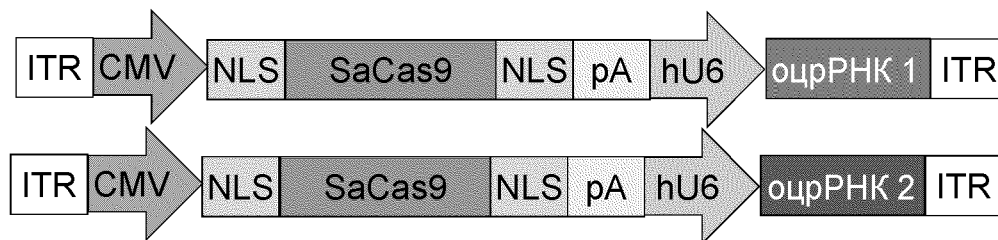


~3,2 т.п.о.



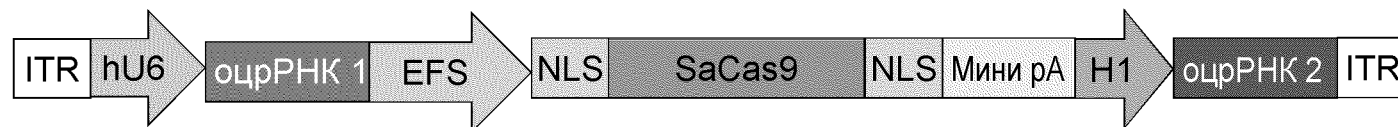
ФИГ.7

2x SaCas9/руководящая (двойная)

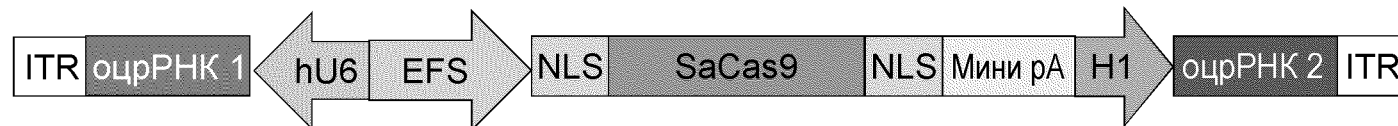


Объединенный (AIO)

Вариант 1



Вариант 2

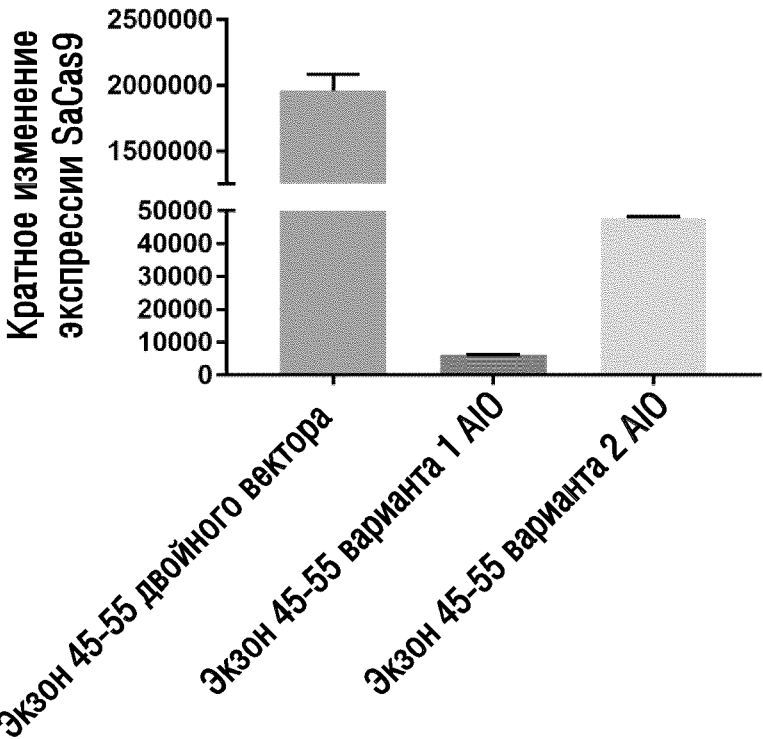


ФИГ.8

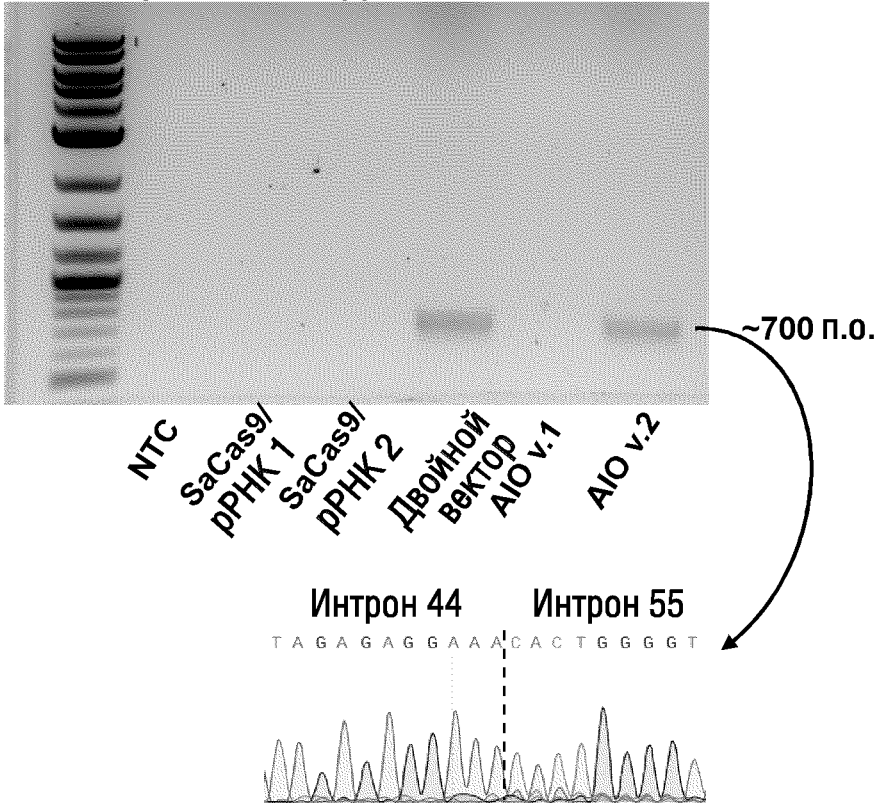
Вариант 1



Вариант 2

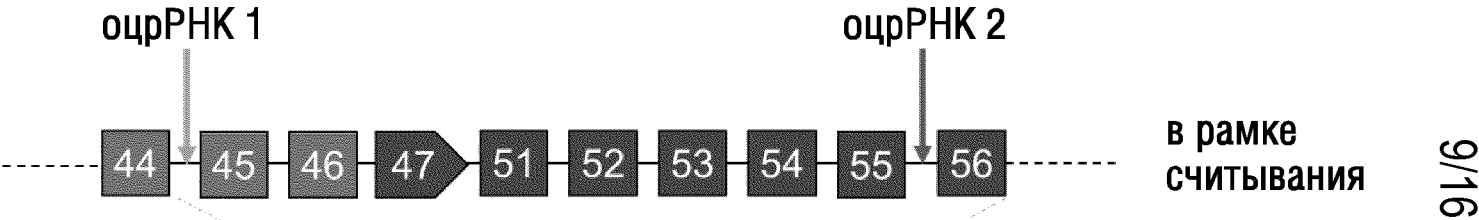


ПЦР геномной ДНК на делецию



ФИГ.9А

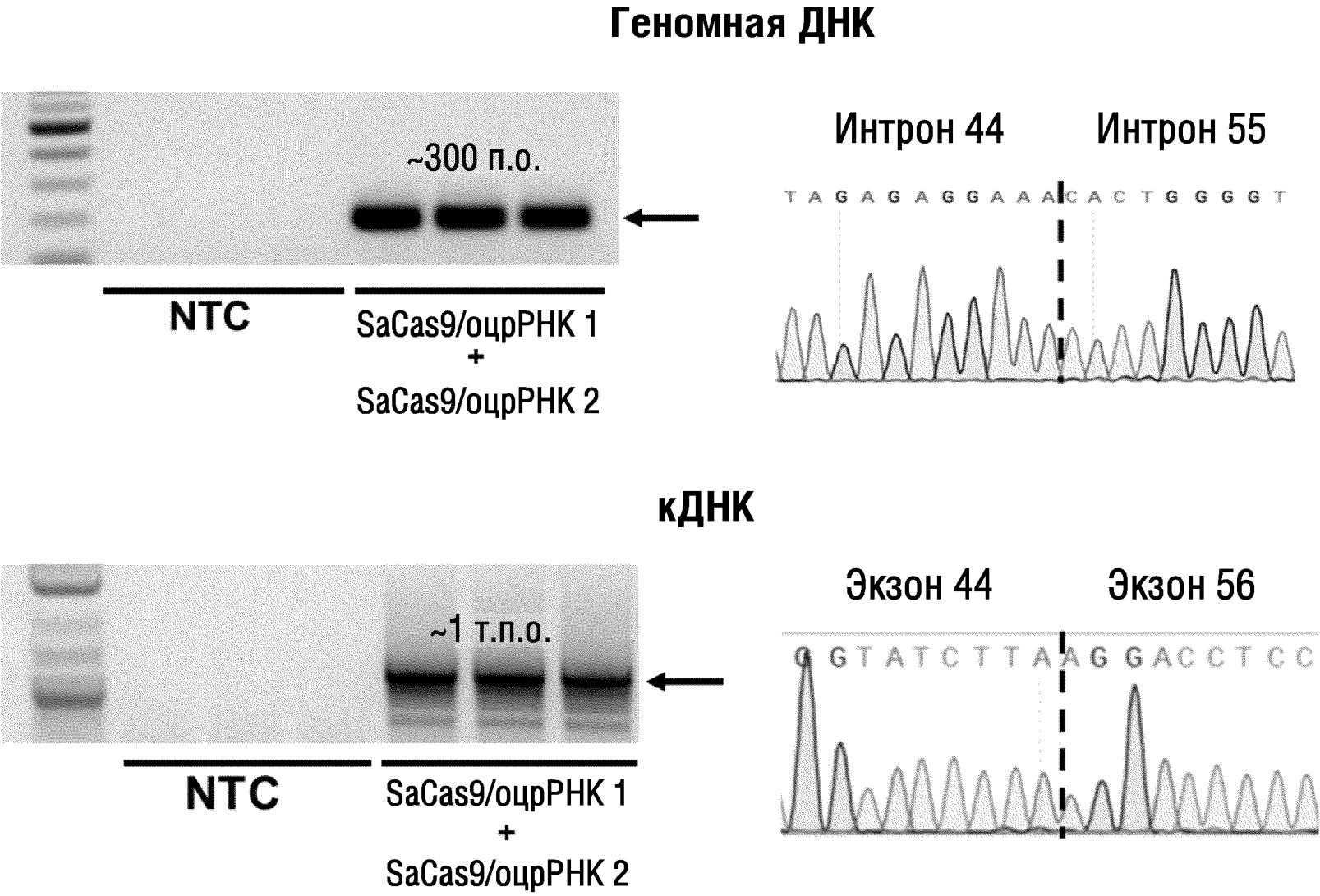
Ген дистрофина миобластов пациента



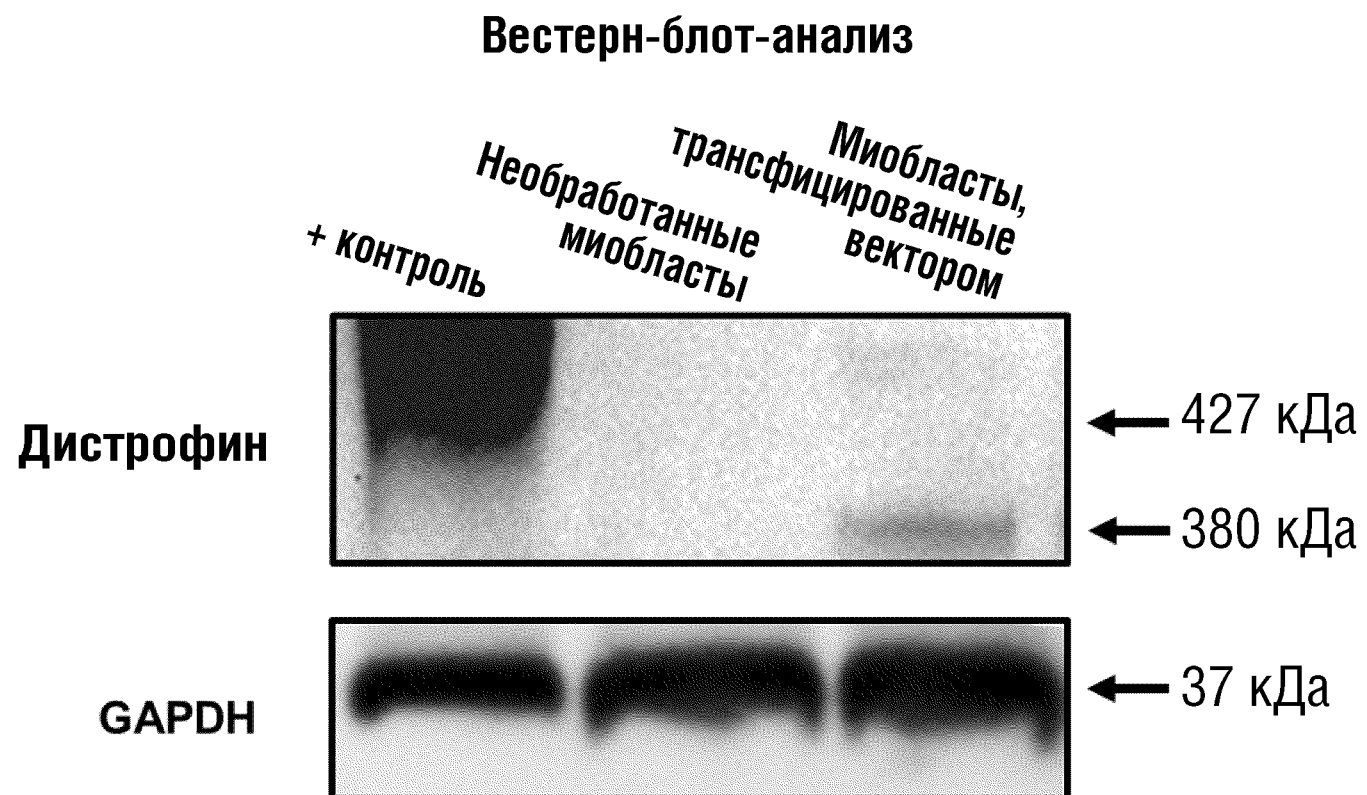
Отредактированный ген дистрофина



ФИГ.9В

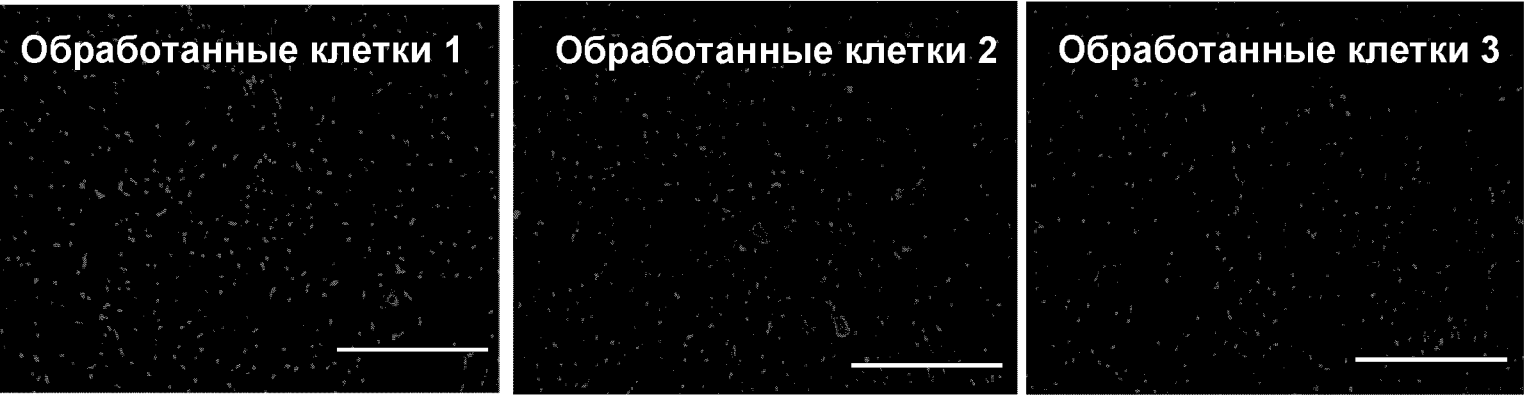


ФИГ.9С

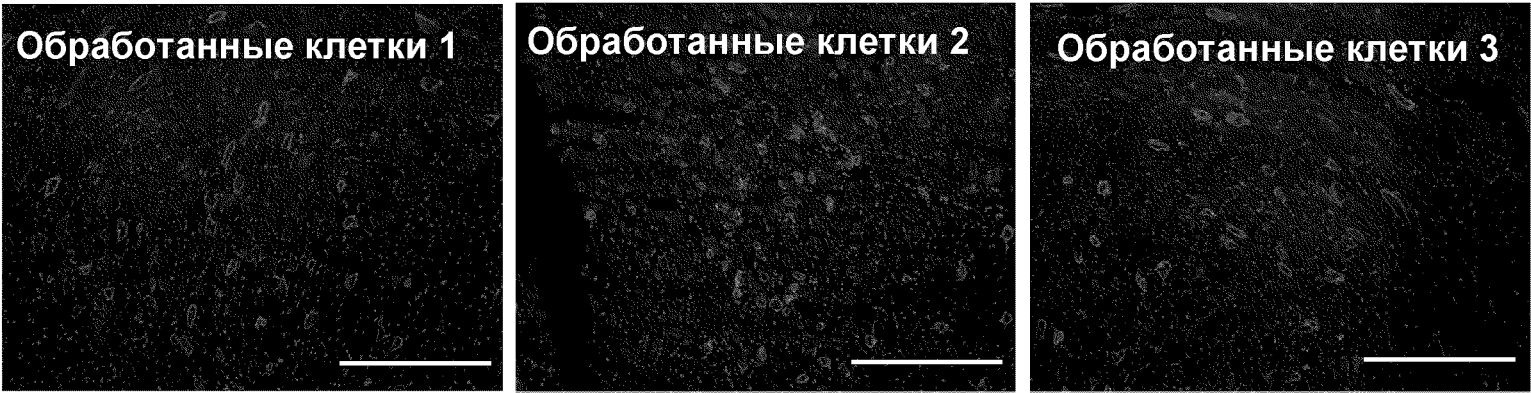


ФИГ.10

ROSA26
AAV9-CRISPR

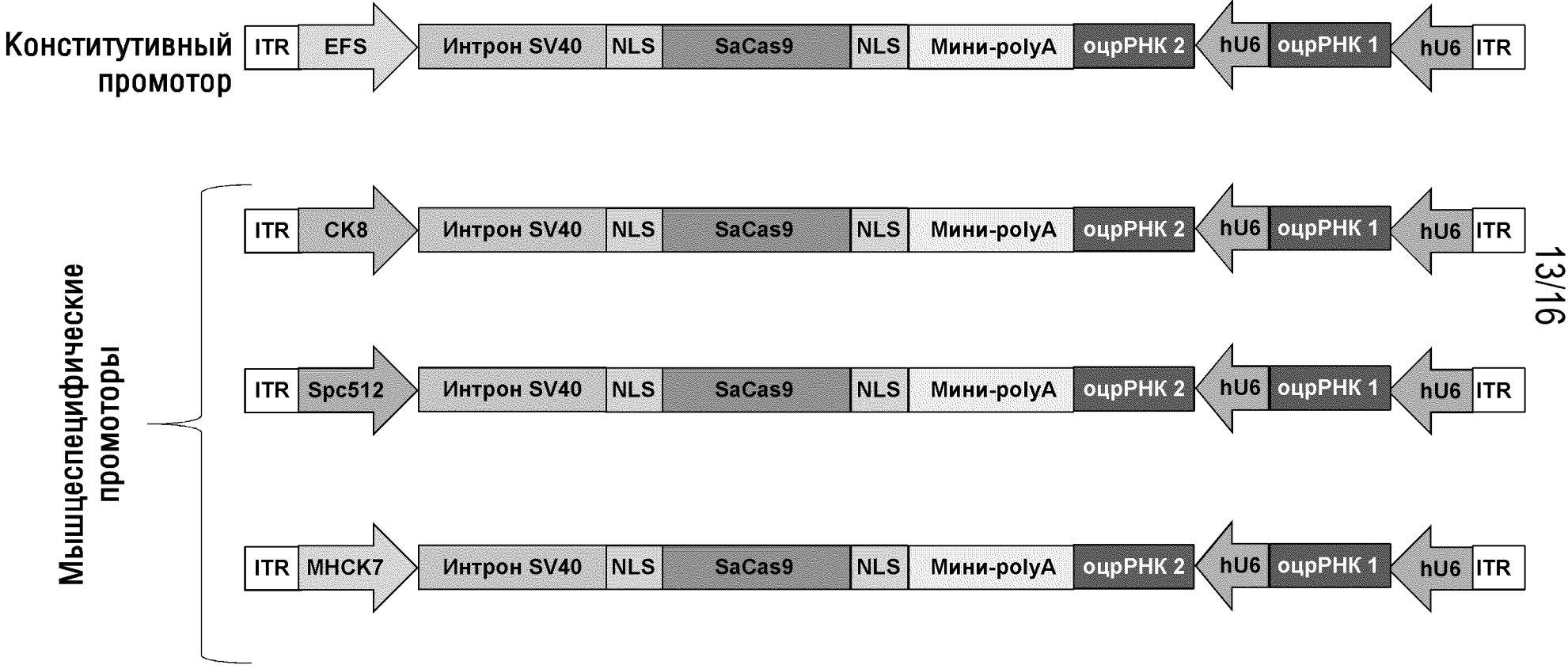


Экзон 45-55
AAV9-CRISPR

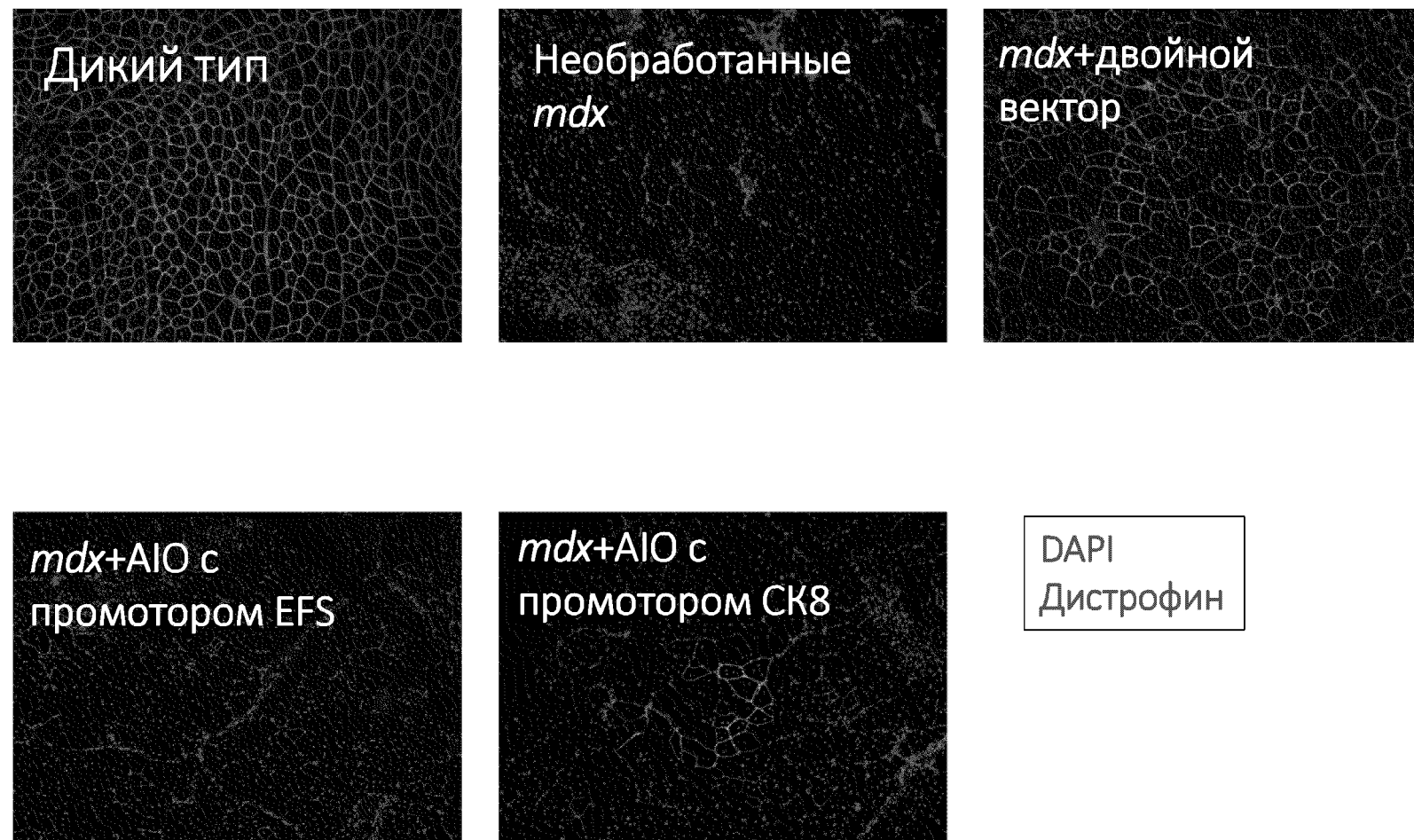


Дистрофин
DAPI

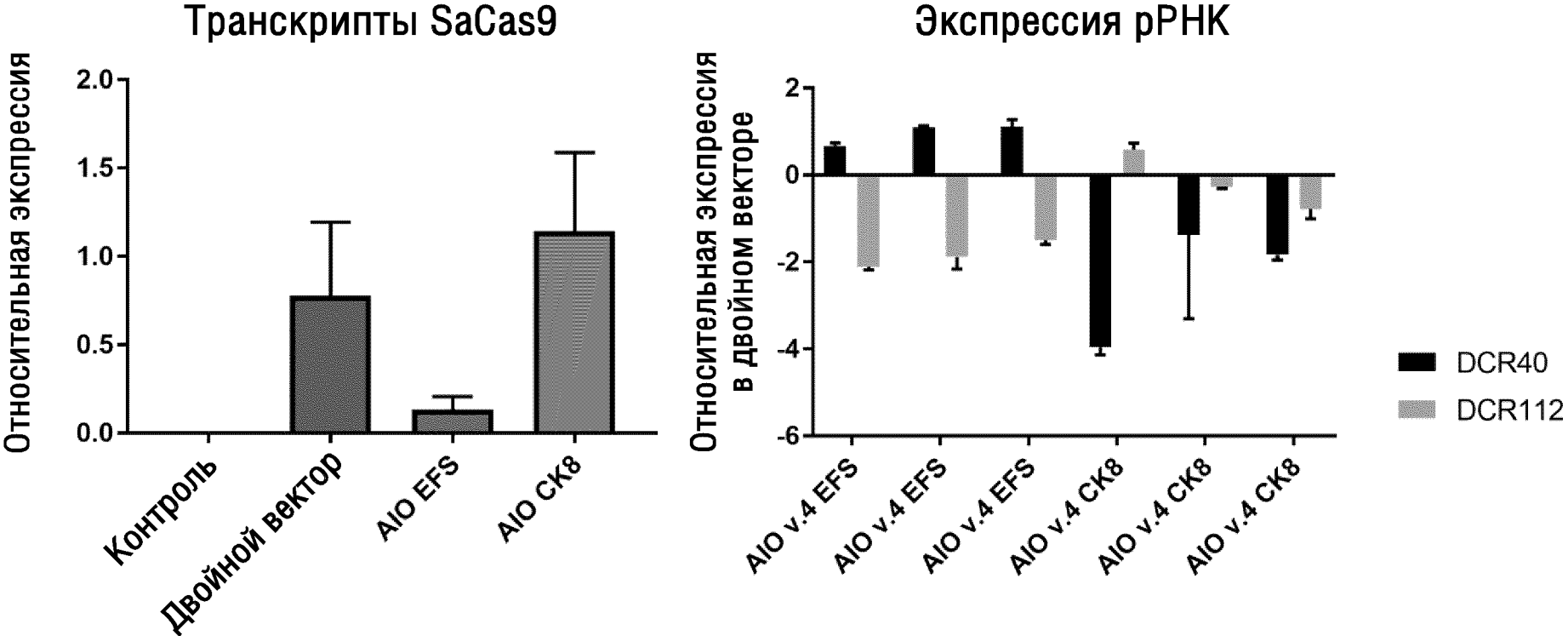
ФИГ.11



ФИГ.12



ФИГ.13



ФИГ.14

