

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293016** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.12.08

(22) Дата подачи заявки
2021.04.22

(51) Int. Cl. **C07K 14/11** (2006.01)
A01H 5/00 (2018.01)
A61K 39/145 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
C12N 15/44 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)
C12N 7/01 (2006.01)
C12P 21/00 (2006.01)

(54) **СУПРАСТРУКТУРА, СОДЕРЖАЩАЯ МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ГЕМАГГЛЮТИНИН ГРИППА СО СНИЖЕННЫМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕМ С СИАЛОВОЙ КИСЛОТОЙ**

(31) **63/014,008**

(32) **2020.04.22**

(33) **US**

(86) **PCT/CA2021/050554**

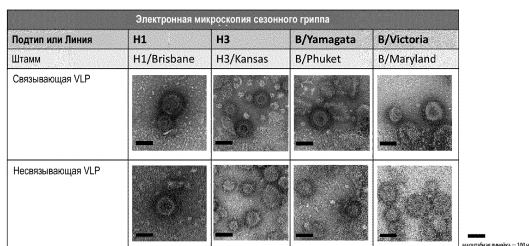
(87) **WO 2021/212230 2021.10.28**

(71) Заявитель:
**МЕДИКАГО ИНК.; ХЕНДИН
ХИЛАРИ И.; ВАРД БРАЙАН ДЖ.
(СА)**

(72) Изобретатель:
**Хендин Хилари И., Вард Брайан Дж.,
Лавуа Пьер-Оливье, Д'Ауст Марк-
Андре, Бедард Микаэль, Саксена
Пуджа, Ландри Натали (СА)**

(74) Представитель:
Суюндуков М.Ж. (KZ)

(57) Предлагается супраструктура, содержащая модифицированный гемагглютинин гриппа (НА). Модифицированный НА может содержать одно или более чем одно изменение, которое снижает неродственное связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие с клеткой, такой как В-клетка. Также описывается композиция, включающая супраструктуру и модифицированный НА и фармацевтически приемлемый носитель. Также предлагается способ усиления иммунологического ответа или индуцирования иммунитета в ответ на вакцину, содержащую супраструктуру и модифицированный НА.



A1

202293016

202293016

A1

СУПРАСТРУКТУРА, СОДЕРЖАЩАЯ МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ГЕМАГГЛЮТИНИН ГРИППА СО СНИЖЕННЫМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕМ С СИАЛОВОЙ КИСЛОТОЙ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] Данное изобретение относится к супраструктурам, которые содержат модифицированный белок гемагглютинина гриппа (НА). Модифицированный белок НА содержит одно или более чем одно изменение, которое снижает неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Вирусы гриппа являются членами семейства *Orthomyxoviridae* (одноцепочечные РНК с отрицательным смыслом), которые вызывают острую респираторную инфекцию у людей. Сезонные вспышки гриппа ежегодно ответственны примерно за 250000-500000 смертей во всем мире. Антигенные варианты гриппа возникают в результате межвидовой генетической реассортации и представляют значительную угрозу пандемии. Государственные программы вакцинации помогают свести к минимуму заболеваемость и смертность, связанные с инфекцией гриппа, однако современные составы вакцин эффективны только у 50-60% здоровых взрослых, и очевидны значительные различия в иммуногенности от штамма к штамму. Например, вакцины, нацеленные на штаммы птичьего гриппа, обычно вызывают слабый ответ антител по сравнению с вакцинами, нацеленными на штаммы млекопитающих (т.е. сезонные). В результате пандемические вакцины часто требуют более высоких доз антигена и/или добавления адъювантов для достижения приемлемого уровня сероконверсии.

[0003] Универсальная вакцина представляет собой вакцину, которая вырабатывает нейтрализующие антитела широкого спектра с защитными титрами при введении субъекту. Разработка универсальной противогриппозной вакцины была бы полезна для уменьшения угрозы, которую представляет вирус гриппа.

[0004] Существует четыре типа вируса гриппа: А, В, С и D, из которых грипп А и В является возбудителем эпидемий сезонных заболеваний у людей. Вирусы гриппа А далее подразделяются на основе экспрессии подтипов гликопротеинов гемагглютинина (НА) и

нейраминидазы (NA) на поверхности вируса. Существует 18 различных подтипов НА (Н1-Н18).

[0005] НА представляет собой тримерный лектин, который облегчает связывание частицы вируса гриппа с белками, содержащими сиаловую кислоту, на поверхности клеток-мишеней и опосредует высвобождение вирусного генома в клетку-мишень. Белки НА состоят из двух структурных элементов: головки, которая является основной мишенью серопротекторных антител; и стебель. НА транслируется как один полипептид НА0 (собранный в виде тримеров), который должен быть расщеплен сериновой эндопротеазой между субдоменами НА1 (~40 кДа) и НА2 (~20 кДа). После расщепления два домена белка, связанные дисульфидной связью, принимают требуемую конформацию, необходимую для вирусной инфекционности. НА1 образует глобулярный головной домен, содержащий сайт связывания рецептора (ССР), и является наименее консервативным сегментом генома вируса гриппа. НА2 представляет собой интегральный мембранный белок однократного прохождения со слитым пептидом (СП), растворимым эктодоменом (РЭ), трансмембранным (ТМ) и цитоплазматическим хвостом (ЦХ) с соответствующими длинами примерно 25, 160, 25 и 10 остатков. НА2 вместе с N- и C-концевыми остатками НА1 образует стебельчатый домен, который включает трансмембранную область и является относительно консервативным.

[0006] Супраструктуры (белковые супраструктуры), например, вирусоподобные частицы (VLP), могут быть использованы в иммуногенных композициях. VLP очень похожи на зрелые вирионы, но они не содержат вирусного геномного материала и нерепликативны, что делает их безопасными для введения в качестве вакцины. Кроме того, можно сконструировать VLP для экспрессии вирусных гликопротеинов на поверхности VLP, что является их наиболее естественной физиологической конфигурацией. Поскольку VLP напоминают интактные вирионы и представляют собой мультивалентные структуры частиц, VLP могут быть более эффективными в индукции нейтрализующих антител к гликопротеину, чем антигены растворимых белков оболочки.

[0007] VLP были получены в растениях (WO 2009/076778; WO 2009/009876; WO 2009/076778; WO 2010/003225; WO 2010/003235; WO 2010/006452; WO 2011/03522; включены сюда в качестве ссылки). Например, WO 2009/009876 и WO 2009/076778 раскрывают получение в растениях вирусоподобных частиц (VLP), содержащих гемагглютинин гриппа (НА). Такие растительные VLP очень напоминают вирусы гриппа, а вакцины, изготовленные

из растительных VLP, вызывают хорошие титры антител и сильный клеточный ответ, что делает их многообещающей альтернативой существующим вакцинным композициям (Landry, N. et.al. 2014 Clin Immun (Orlando Fla) August 17, 2014).

[0008] Гуморальный иммунитет (иммунитет, опосредованный антителами) представляет собой адаптивный иммунитет, опосредованный антителами, секретируемыми В-клетками. Затем антитела, продуцируемые В-клетками, можно использовать для нейтрализации антигена или патогена. Гуморальный иммунитет включает активацию В-клеток, возникающую в результате связывания В-клетками чужеродного антигена или патогена. Активированные В-клетки тесно взаимодействуют с Т-хелперами, образуя комплекс, который приводит к пролиферации В-клеток с образованием плазматических клеток и В-клеток памяти. Когда клетки памяти сталкиваются с антигеном (патогеном), они могут делиться, образуя плазматические клетки. Плазматические клетки вырабатывают большое количество антител, которые затем связывают антиген (патоген). Антитела, вырабатываемые В-клетками плазмы, нейтрализуют вирусы и токсины, выделяемые бактериями; убивают организмы, активируя систему комплемента; покрывают антиген (опсонизация) или образуют комплекс антиген-антитело для стимуляции фагоцитоза; и предотвращают прилипание антигена к его рецептору, например, на клетках мишенях хозяина.

[0009] Клеточно-опосредованный иммунитет (КОИ) опосредован антиген-специфическими CD4 и CD8 Т-клетками, и в нем не участвуют антитела. Ответы КОИ инициируются, когда антигенпрезентирующие клетки (APC), включая макрофаги, дендритные клетки и, в некоторых случаях, В-клетки интернализуют микробный организм или его части. Затем весь организм или материал микробного происхождения расщепляется на небольшие антигенные пептиды, которые презентуются на молекулах МНС на поверхности APC. Наивные CD4 и CD8 Т-клетки, которые распознают специфические микробные пептиды на поверхности APC, активируются и высвобождают цитокины, что способствует пролиферации и дифференциации антиген-специфических Т-клеток в различные эффекторные субпопуляции и субпопуляции памяти. Основными медиаторами противовирусного КОИ являются хелперные Т-клетки CD4+ типа 1 (Th1), которые активируют макрофаги, что способствует клиренсу микробов, и цитотоксические Т-клетки CD8, которые непосредственно убивают инфицированные клетки-мишени. Т-клетки памяти реактивируются при последующем контакте с патогеном и обеспечивают длительный иммунитет.

[0010] Гемагглютинин гриппа (НА) инициирует инфекцию путем связывания с остатками сиаловой кислоты (SA) на поверхности респираторных эпителиальных клеток. НА связывает SA через консервативную область в сайте связывания рецептора, расположенном в области глобулярной головки молекулы НА (Whittle, J.R., et al., 2014, *J Virol*, 88(8): p. 4047-57). Специфичность и аффинность этого взаимодействия зависят от штамма: штаммы гриппа млекопитающих (например, H1N1) преимущественно связываются с $\alpha(2,6)$ -связанной SA, а штаммы птичьего гриппа (например, H5N1 или H7N9) обычно связываются с $\alpha(2,3)$ -связанной SA (Ramos I., et. al., 2013 *J. Gen. Virol.* 94:2417-2423). Рецепторная специфичность гриппа и распределение рецепторов SA в дыхательных путях человека в значительной степени определяют тяжесть и трансмиссивность инфекции. $\alpha(2,6)$ -связанная SA плотно экспрессируется в верхних дыхательных путях, что приводит к относительно легкой, но высокой трансмиссивной инфекции штаммами гриппа млекопитающих (например, H1N1). Однако $\alpha(2,3)$ -связанная SA преобладает в нижних дыхательных путях, что приводит к снижению передачи штаммов птичьего гриппа (например, H5N1, H7N9), но значительно более высокой степени тяжести и смертности.

[0011] Остатки сиаловой кислоты (SA) экспрессируются по всему организму, в том числе на поверхности иммунных клеток. В результате НА в вакцинах связывается с клетками-хозяевами, экспрессирующими SA. Кроме того, существуют различия в характере $\alpha(2,6)$ -связанной SA и $\alpha(2,3)$ -связанной SA на иммунных клетках человека. Вакцины-кандидаты VLP, несущие H1 или H5, взаимодействуют с различными подмножествами мононуклеарных клеток периферической крови человека (PBMC) зависимым от НА образом, вызывая штаммоспецифические реакции врожденного иммунитета (Hendin H.E., et. al., 2017 *Vaccine* 35:2592-2599). Ранние события на пути инфекции могут влиять на последующие адаптивные реакции, а связывающие свойства НА могут быть фактором, способствующим иммуногенности и эффективности вакцины.

[0012] Meisner, J., et al. (2008, *J. Virol.* 82, 5079-83) с помощью обратной генетики создали вирус Y98F H3 (A/Aichi/2/68). Мутация Y98F снижает связывание в 20 раз. Через три месяца после заражения мыши, инфицированные Y98F или вирусом нативного/дикого типа, имели сходные титры HAI. Анализ вирусных бляшек, выделенных из легких мышей, инфицированных Y98F, показал реверсию, поскольку 13 из 18 изолятов приобрели другие мутации, которые восстанавливали связывание НА.

[0013] Y98F HA использовался в качестве зонда, например, Villar et. al. (2016, *Sci Rep*, 6: p. 36298) получили наночастицы с использованием самоассоциирующегося ферритина для создания 8-меров HA для повышения валентности зонда. Zost et al (2019, *Cell Rep*. 29:4460-4470) экспрессировали Y98F H3 на поверхности клеток 293F для измерения нейтрализующих антител в сыворотке человека. Tan, H.-X. X. et al. (2019, *J. Clin. Invest.* 129, 850–862) получили Y98F HA для использования в качестве зонда для идентификации HA-специфических ответов антител и антиген-специфических В-клеток. Tan также сообщает о вакцинации HA Y98F и стеблем HA и обнаружил, что иммуногенность белка HA Y98F была сравнима с иммуногенностью контрольного стебля HA. Whittle et al. (2014, *J Virol*, 88(8): p. 4047-57) описывают H1 HA, содержащий мутацию Y98F в аминокислотной последовательности H1, которая ингибирует связывание SA, но делает возможной связывание с клеткой-хозяином. Поскольку нативные белки HA связываются с SA на В-клетках и вызывают высокий уровень фонового «шума» в исследованиях, которые сосредоточены на связывании между рецептором В-клетки и его родственным антигеном, Whittle описывает использование Y98F-HA в качестве зонда для обнаружения. Взаимодействие HA-специфического В-клеточного рецептора у пациентов, ранее вакцинированных вирусом гриппа H5.

[0014] WO 2015183969 описывает вакцину на основе наночастиц, состоящую из нового стабилизированного HA стебля (SS) без вариабельной иммунодоминантной головной области, генетически слитой с поверхностью наночастиц (Gen6 HA-SS np, также называемой H1-SS-np). В WO 2015183969 обнаружено, что H1-SS-np индуцирует эффективную передачу сигналов через В-клеточный рецептор дикого типа. Однако наночастица с полноразмерным HA, содержащим мутацию Y98F для устранения неспецифического связывания с сиаловой кислотой (HA-np), в меньшей степени индуцировала В-клеточный рецептор дикого типа, что свидетельствует о снижении иммунного ответа на HA с мутацией Y98F.

[0015] Сайт связывания рецептора расположен на глобулярной головке HA, а аминокислота 98 находится в основании сайта связывания рецептора. Фенольная боковая цепь Y98 образует водородную связь с сиаловой кислотой для облегчения связывания. Фенилаланин имеет структуру, аналогичную тирозину, так что форма кармана связывания и антигенность поддерживаются мутацией Y98F. Однако фенилаланин не имеет гидроксильной группы в боковой цепи и поэтому не может образовывать водородные связи с сиаловой кислотой. Хотя замена Y98F предотвращает связывание HA с SA, общая структура и конформация HA остаются нетронутыми (Zost S.J., et. al., 2019, *Cell Rep*. 29:4460-4470).

[0016] Потенциальная роль родственных и неродственных взаимодействий между НА и клетками-хозяевами в результатах противогриппозной вакцины с использованием супраструктур, например, белковых комплексов или VLP, содержащих модифицированный НА, который уменьшает связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) описана в данном документе.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0017] Данное изобретение относится к супраструктурам или вирусоподобным частицам (VLP), которые содержат модифицированный белок гемагглютинина гриппа (НА). Модифицированный белок НА содержит одно или несколько изменений, которые уменьшают взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA), взаимодействие может быть неродственным взаимодействием.

[0018] В соответствии с данным изобретением предложена супраструктура, содержащая модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, которое уменьшает неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) мишени, сохраняя родственное взаимодействие с мишенью. Кроме того, предложена супраструктура, содержащая модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, которое снижает неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие с клеткой.

[0019] Например, модифицированный НА может содержать одно или более чем одно изменение, которое уменьшает связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) при сохранении родственных взаимодействий с мишенью или клеткой. Неограничивающие примеры мишени могут включать В-клеточный рецептор и/или одну или несколько мишеней, содержащих поверхностный В-клеточный рецептор, содержащий SA. Неограничивающие примеры клетки могут включать В-клетку, а неограничивающие примеры белка на поверхности клетки могут включать поверхностный рецептор В-клетки.

[0020] Изменение, снижающее связывание модифицированного НА с SA, может включать замену, делецию или вставку одной или нескольких аминокислот в модифицированную НА. Кроме того, супраструктура может представлять собой вирусоподобную частицу (VLP). Также описаны композиция, содержащая супраструктуру

или VLP, и фармацевтически приемлемый носитель, вакцина, содержащая указанную композицию, и вакцина, содержащая указанную композицию в комбинации с адъювантом.

[0021] Также в данном документе предложено растение или часть растения, содержащие супраструктуру или VLP, содержащие модифицированный гемагглютинин гриппа (HA), причем модифицированный HA содержит одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного HA с сиаловой кислотой (SA) на мишени или белке на поверхности клетки, сохраняя при этом родственные взаимодействия с мишенью или клеткой. Неограничивающие примеры мишени могут включать В-клеточный рецептор и/или одну или несколько мишеней, содержащих поверхностный В-клеточный рецептор, содержащий SA. Неограничивающие примеры клетки могут включать В-клетку, а неограничивающие примеры белка на поверхности клетки могут включать поверхностный рецептор В-клетки.

[0022] Также описана нуклеиновая кислота, кодирующая модифицированный HA, содержащий модифицированный гемагглютинин гриппа (HA), причем модифицированный HA содержит одно или более чем одно изменение, которое уменьшает связывание модифицированного HA с сиаловой кислотой (SA), сохраняя родственные взаимодействия с мишенью или белком на поверхности клетки. Неограничивающие примеры мишени могут включать В-клеточный рецептор и/или В-клеточный поверхностный рецептор, содержащий SA. Кроме того, в данном документе предложено растение или часть растения, содержащие нуклеиновую кислоту.

[0023] Также раскрыт способ индуцирования иммунитета к инфицированию вирусом гриппа у животного или субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение вакцины, причем вакцина содержит:

- супраструктуру или VLP, содержащую модифицированный гемагглютинин гриппа (HA), причем модифицированный HA содержит одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного HA с сиаловой кислотой (SA), при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, белком на поверхности клетки, такой как рецептор В-клетки, рецептор поверхности В-клетки, который содержит SA, или их комбинацию, и

- фармацевтический носитель для животного или субъекта.

Вакцину можно вводить животному или субъекту перорально, внутрикожно, интраназально, внутримышечно, внутрибрюшинно, внутривенно или подкожно.

[0024] В данном документе описан способ улучшения иммунологического ответа (первого) животного или субъекта в ответ на антигенную стимуляцию, включающий,

i) введение животному или субъекту первой вакцины, причем первая вакцина содержит вакцину, содержащую супраструктуру или VLP, содержащую модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, снижающее связывание модифицированного НА к сиаловой кислоте (SA) при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например белком на поверхности клетки, таким как рецептор В-клетки или рецептор поверхности В-клетки, который содержит SA, и фармацевтический носитель, животному или субъекту и определение иммунологического ответа;

ii) введение второму животному или второму субъекту второй вакцины, содержащей композицию, содержащую супраструктуру или вирусоподобную частицу, содержащую соответствующий исходный НА, и определение второго иммунологического ответа;

iii) сравнение иммунологического ответа со вторым иммунологическим ответом, тем самым определяя улучшение иммунологического ответа; при этом иммунологический ответ представляет собой клеточный иммунологический ответ, гуморальный иммунологический ответ и как клеточный иммунологический ответ, так и гуморальный иммунологический ответ.

[0025] Также предлагается способ увеличения величины, или качества, или улучшения иммунологического ответа животного или субъекта в ответ на антигенную стимуляцию. Этот способ включает введение первой вакцины, причем первая вакцина содержит супраструктуру или VLP, содержащую модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA), при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, белком на поверхности клетки, таким как рецептор В-клетки или рецептор поверхности В-клетки, который содержит SA; и фармацевтический носитель для животного или субъекта и определение иммунологического ответа, при этом иммунологический ответ представляет собой клеточный иммунологический ответ, гуморальный иммунологический ответ и как клеточный иммунологический ответ, так

и гуморальный иммунологический ответ, и при этом иммунологический ответ повышен или улучшен по сравнению со вторым иммунологическим ответом, полученным после введения второму субъекту второй вакцины, содержащей вирусоподобные частицы, содержащие соответствующий исходный НА.

[0026] Также предлагается способ получения супраструктуры или вирусоподобной частицы (VLP) у хозяина, включающий экспрессию нуклеиновой кислоты, кодирующей модифицированный НА, содержащий модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, которое уменьшает связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, белком на поверхности клетки, таким как рецептор В-клетки или рецептор поверхности В-клетки, содержащий SA, внутри хозяина в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию супраструктуры или VLP. Хозяин может включать, помимо прочего, эукариотического хозяина, эукариотическую клетку, клетку млекопитающего, клетку млекопитающего, птицу-хозяина, клетку птицы, насекомого-хозяина, клетку насекомого, бакуловирусную клетку или растение-хозяина, растение или часть растения, растительную клетку. При желании супраструктуру или VLP можно получить или экстрагировать из организма-хозяина и очистить.

[0027] Также предлагается способ получения супраструктуры или VLP, содержащих модифицированный НА, в растении или части растения. Способ включает введение нуклеиновой кислоты, как только что определено, в растение или часть растения, и выращивание растения или части растения в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию супраструктуры или VLP. Способ получения супраструктуры, содержащей модифицированный НА, в растении или части растения, может также включать выращивание растения или части растения, которые содержат только что определенную нуклеиновую кислоту, в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию супраструктуры или VLP. При желании, в любом из этих способов можно собрать растение или часть растения и очистить супраструктуру или VLP.

[0028] Также описана композиция, включающая супраструктуру, содержащую модифицированный НА, и фармацевтически приемлемый носитель. Модифицированный НА супраструктуры содержит одно или более чем одно изменение, которые уменьшают

связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) при сохранении родственных взаимодействий с мишенью. Неограничивающие примеры мишени могут включать В-клеточный рецептор и/или одну или несколько мишеней, содержащих поверхностный В-клеточный рецептор, содержащий SA. Также раскрыта композиция (как только что описано), содержащая супраструктуру или VLP, содержащую модифицированный НА с одним или более чем одним изменением, как только что описано, где модифицированный НА выбирают из:

i) модифицированного H1 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 203;

ii) модифицированного H3 НА, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y98F, S136D; Y98F, S136N; Y98F, S137N; Y98F, D190G; Y98F, D190K; Y98F, R222W; Y98F, S228N; Y98F, S228Q; S136D; S136N; D190K; S228N и S228Q; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 204.

iii) модифицированного H5 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 205.

iv) модифицированного H7 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y88F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 206;

v) модифицированного В НА, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из S140A; S142A; G138A; L203A; D195G и L203W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 207; или

vi) их комбинации.

[0029] Модифицированный гемагглютинин гриппа H1 (НА), включающий одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного H1 НА с сиаловой кислотой (SA) при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, рецептором В-клетки, и/или одной или несколькими мишенями, содержащими рецептор поверхности В-клеток, который содержит SA. Модифицированный H1 НА может

содержать специфичные для растений N-гликаны или модифицированные N-гликаны. Также описана вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный H1 HA, как только что определено. Кроме того, VLP может содержать один или более чем один липид, полученный из растения.

[0030] Также раскрыт модифицированный гемагглютинин гриппа H3 (HA), включающий одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного H3 HA с сиаловой кислотой (SA) при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, рецептором В-клетки, и/или одной или несколькими мишенями, содержащими рецептор поверхности В-клеток, который содержит SA. Модифицированный H3 HA может содержать специфичные для растений N-гликаны или модифицированные N-гликаны. Также описана вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный H3 HA, как только что определено. Кроме того, VLP может содержать один или более чем один липид, полученный из растения.

[0031] Модифицированный гемагглютинин гриппа H7 (HA), включающий одно или более чем одно изменение, снижающих связывание модифицированного H7 HA с сиаловой кислотой (SA), при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, рецептором В-клетки, и/или одной или несколькими мишенями, содержащими рецептор поверхности В-клеток, который содержит SA. Модифицированный H7 HA может содержать специфичные для растений N-гликаны или модифицированные N-гликаны. Также описана вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный H7 HA, как только что определено. Кроме того, VLP может содержать один или более чем один липид, полученный из растения.

[0032] Также раскрыт модифицированный гемагглютинин гриппа H5 (HA), включающий одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного H5 HA с сиаловой кислотой (SA), при сохранении родственных взаимодействий с мишенью, например, рецептором В-клетки, и/или одной или несколькими мишенями, содержащими рецептор поверхности В-клеток, который содержит SA. Модифицированный H5 HA может содержать специфичные для растений N-гликаны или модифицированные N-гликаны. Также описана вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный В HA, как только что определено. Кроме того, VLP может содержать один или более чем один липид, полученный из растения.

[0033] Далее раскрыта супраструктура, содержащая модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, причем модифицированный НА выбирают из:

i) модифицированного H1 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 203;

ii) модифицированного H3 НА, в котором одно или более чем одно изменение выбрано из Y98F, S136D; Y98F, S136N; Y98F, S137N; Y98F, D190G; Y98F, D190K; Y98F, R222W; Y98F, S228N; Y98F, S228Q; S136D; S136N; D190K; S228N и S228Q; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 204.

iii) модифицированного H5 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 205.

iv) модифицированного H7 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y88F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 206;

v) модифицированного В НА, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из S140A; S142A; G138A; L203A; D195G и L203W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 207; или

vi) их комбинации.

[0034] В супраструктуре, как описано выше, модифицированный НА уменьшает неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие с клеткой. Супраструктура и/или модифицированный НА, содержащийся в супраструктуре, может усиливать иммунологический ответ животного или субъекта в ответ на введение антигена.

[0035] Также описан модифицированный гемагглютинин гриппа В (НА), содержащий одно или более чем одно изменение, которое снижает связывание модифицированного В НА с сиаловой кислотой (SA), при сохранении родственных взаимодействий с мишенью,

например, рецептором В-клетки, и/или одной или несколькими мишенями, содержащими рецептор поверхности В-клеток, который содержит SA. Модифицированный В НА может содержать специфичные для растений N-гликаны или модифицированные N-гликаны. Также описана вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный В НА, как только что определено. Кроме того, VLP может содержать один или более чем один липид, полученный из растения.

[0036] Также предложен способ увеличения величины, или качества, или улучшения иммунологического ответа животного или субъекта в ответ на антигенную стимуляцию. Способ включает введение первой вакцины, причем первая вакцина, содержащая вакцину, как определено выше, животному или субъекту и определение иммунологического ответа, где иммунологический ответ представляет собой клеточный иммунологический ответ, гуморальный иммунологический ответ, и как клеточный иммунологический ответ, так и гуморальный иммунологический ответ, и где иммунологический ответ усиливается или улучшается по сравнению со вторым иммунологическим ответом, полученным после введения второму животному или субъекту второй вакцины, содержащей композицию, содержащую вирусоподобные частицы, содержащие соответствующий НА дикого типа.

[0037] Как описано в данном документе, использование модифицированного белка НА, супраструктуры (белковой супраструктуры) или VLP, содержащих модифицированный белок НА, в качестве противогриппозной вакцины повышает иммуногенность и эффективность по сравнению с иммуногенностью и эффективностью вакцины против гриппа, содержащей соответствующий исходный НА, который не содержит модификации, приводящей к уменьшенному, не поддающемуся обнаружению или отсутствию родственного взаимодействия с SA, например, уменьшенному, не поддающемуся обнаружению или отсутствию связывания с SA. Исходный НА, который не содержит модификации, приводящей к уменьшенному, не поддающемуся обнаружению или отсутствию неродственного взаимодействия с SA, может включать немодифицированный НА, НА гриппа дикого типа, НА, содержащий измененную последовательность, но изменение не связано со связыванием SA, супраструктуру или VLP, содержащими исходный НА, НА вируса гриппа дикого типа или НА, содержащий измененную последовательность, но изменение не связано со связыванием SA.

[0038] Это краткое описание изобретения не обязательно описывает все признаки изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0039] Эти и другие особенности изобретения станут более очевидными из следующего описания, в котором сделана ссылка на прилагаемые чертежи, на которых:

[0040] **ФИГ. 1А** иллюстрирует выравнивание аминокислотных последовательностей гемагглютинаина (HA) A/California/7/09 (H1N1) (SEQ ID NO:2); A/Idaho/7/18 (H1N1) (SEQ ID NO:101); A/Brisbane/02/18 (H1N1) (SEQ ID NO: 195); A/Kansas/14/17 (H3N2) (SEQ ID NO: 61); A/Minnesota/41/19 (H3N2) (SEQ ID NO: 13). A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (SEQ ID NO: 14); A/Egypt/NO4915/14 (H5N1) (SEQ ID NO:108; A/Shanghai/2/2013 (H7N9) (SEQ ID NO: 21); A/Hangzhou/1/13 (H7N9) (SEQ ID NO: 109); Выделенные остатки совпадают с аминокислотами Y98 HA из штаммов гриппа H3, например, A/Kansas/14/17 (H3N2) (SEQ ID NO: 61). Сигнальные пептиды были удалены для ясности. **ФИГ. 1В** иллюстрирует выравнивание аминокислотных последовательностей гемагглютинаина (HA) B/Phuket/3703/13 (линия Yamagata) (SEQ ID NO:28); B/Singapore/INFKK-16-0569/16 (линия Yamagata) (SEQ ID NO:14); B/Maryland/15/16 (линия Victoria) (SEQ ID NO:15); B/Victoria/705/18 (линия Victoria) (SEQ ID NO:16); B/Washington/12/19 (линия Victoria) (SEQ ID NO:17); B/Darwin/8/19 (линия Victoria) (SEQ ID NO:18); B/Darwin/20/19 (линия Victoria) (SEQ ID NO:19). Выделенные остатки совпадают с аминокислотами. **ФИГ. 1С** иллюстрирует получение вирусоподобных частиц (VLP), содержащих либо HA, которые связываются с сиаловой кислотой (связывающие VLP), либо HA, которые не связываются с сиаловой кислотой (несвязывающие VLP), с использованием HA из четырех типов сезонного гриппа: грипп типа А H1 (H1/Brisbane), грипп типа А H3 (H3/Kansas), групп В/Yamagata (B/Phuket) и грипп В/Victoria (B/Maryland). Получение VLP было также подтверждено для H1/California, H1/Idaho, B/Singapore и B/Washington (данные не показаны).

[0041] **ФИГ. 2А** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащий H1 A/Idaho/07/2018 (исходный H1; указано как «1»), VLP, содержащий модифицированный Y91F H1 A/Idaho/07/2018 производный от исходного H1 (n=6). **ФИГ. 2В** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих H1 A/Idaho/07/2018 (исходный H1), и VLP, содержащей Y91F H1 A/Idaho/07/2018, производный от исходного H1 (n=6). **ФИГ. 2С** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащий H1 A/Brisbane/02/2018 (исходный H1; указано как «1»), и VLP, содержащей Y91F H1 A/Brisbane/02/2018 производный от исходного H1 (n=6). **ФИГ. 2D** иллюстрирует титры

гемагглютинации VLP, содержащих H1 A/Brisbane/02/2018 (исходный H1), и VLP, содержащей Y91F H1 A/Brisbane/02/2018, производный от исходного H1 (n=6).

[0042] **ФИГ. 3А** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих H3 Kansas/14/2017 (исходный H3; конструкт 7281; левый столбец) и VLP, содержащих Y98F H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8179; производный от исходного H3); Y98F, S136D H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8384; производный от исходного H3); Y98F, S136N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8385; производный от исходного H3); Y98F, S137N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8387; производный от исходного H3); Y98F, D190G H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8388; производный от исходного H3); Y98F, D190K H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8389; производный от исходного H3); Y98F, R222W H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8391; производный от исходного H3); Y98F, S228N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8392; производный от исходного H3); Y98F, S228Q H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8393; производный от исходного H3), (n=6). **ФИГ. 3В** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих H3 Kansas/14/2017 (исходный H3; конструкт 7281; левый столбец), и VLP, содержащих Y98F H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8179; производный от исходного H3); Y98F, S136D H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8384; производный от исходного H3); Y98F, S136N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8385; производный от исходного H3); Y98F, S137N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8387; производный от исходного H3); Y98F, D190G H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8388; производный от исходного H3); Y98F, D190K H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8389; производный от исходного H3); Y98F, R222W H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8391; производный от исходного H3); Y98F, S228N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8392; производный от исходного H3); Y98F, S228Q H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8393; производный от исходного H3), (n=6). **ФИГ. 3С** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих H3 Kansas/14/2017 (исходный H3; конструкт 7281; левый столбец) и VLP, содержащих S136D H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8477; производный от исходного H3); S136N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8478; производный от исходного H3); D190K H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8481; производный от исходного H3); R222W H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8482; производный от исходного H3); S228N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8483; производный от исходного H3); S228Q H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8484; производный от исходного H3), (n=6). **ФИГ. 3D** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих H3 Kansas/14/2017 (исходный H3; конструкт 7281; левый столбец) и VLP, содержащих S136D H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8477; производный от исходного H3);

S136N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8478; производный от исходного H3); D190K H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8481; производный от исходного H3); R222W H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8482; производный от исходного H3); S228N H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8483; производный от исходного H3); S228Q H3 Kansas/14/2017 (конструкт 8484; производный от исходного H3), (n=6).

[0043] **ФИГ. 4А** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих B/Phuket/3073/2013 (исходный В; конструкт 2835; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих S140A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8352; производный от исходного В); S142A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8354; производный от исходного В НА); G138A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8358; производный от исходного В НА); L203A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8363; производный от исходного В НА); D195G B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8376; производный от исходного В НА); L203W B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8382; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4В** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих B/Phuket/3073/2013 (исходный В НА; конструкт 2835; левый столбец), и VLP, содержащих S140A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8352; производный от исходного В НА); S142A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8354; производный от исходного В НА); G138A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8358; производный от исходного В НА); L203A B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8363; производный от исходного В НА); D195G B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8376; производный от исходного В НА); L203W B/Phuket/3073/2013 (конструкт 8382; производный от исходного В НА), (n=6).

ФИГ. 4С иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (исходный В; конструкт 2879; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8485; производный от исходного В НА); S140A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8486; производный от исходного В НА); S142A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8487; производный от исходного В НА); D195G B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8488; производный от исходного В НА); L203A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8489; производный от исходного В НА); L203W B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8490; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4Д** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (исходный В; конструкт 2879; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8485; производный от исходного В НА); S140A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8486; производный от исходного В НА); S142A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016

(конструкт 8487; производный от исходного В НА); D195G B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8488; производный от исходного В НА); L203A B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8489; производный от исходного В НА); L203W B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (конструкт 8490; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4Е** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих В/Maryland/15/2016 (исходный В; конструкт 6791; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8434; производный от исходного В НА); S140A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8435; производный от исходного В НА); S142A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8436; производный от исходного В НА); D194G B/Maryland/15/2016 (конструкт 8437; производный от исходного В НА); L202A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8438; производный от исходного В НА); L202W B/Maryland/15/2016 (конструкт 8439; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4F** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих В/Maryland/15/2016 (исходный В; конструкт 6791; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8434; производный от исходного В НА); S140A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8435; производный от исходного В НА); S142A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8436; производный от исходного В НА); D194G B/Maryland/15/2016 (конструкт 8437; производный от исходного В НА); L202A B/Maryland/15/2016 (конструкт 8438; производный от исходного В НА); L202W B/Maryland/15/2016 (конструкт 8439; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4G** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих В/Washington/02/2019 (исходный В; конструкт 7679; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Washington/02/2019 (конструкт 8440; производный от исходного В НА); S140A B/Washington/02/2019 (конструкт 8441; производный от исходного В НА); S142A B/Washington/02/2019 (конструкт 8442; производный от исходного В НА); D193G B/Washington/02/2019 (конструкт 8443; производный от исходного В НА); L201A B/Washington/02/2019 (конструкт 8444; производный от исходного В НА); L201W B/Washington/02/2019 (конструкт 8445; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4H** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих В/Washington/02/2019 (исходный В; конструкт 7679; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Washington/02/2019 (конструкт 8440; производный от исходного В НА); S140A B/Washington/02/2019 (конструкт 8441; производный от исходного В НА); S142A B/Washington/02/2019 (конструкт 8442; производный от исходного В НА); D193G B/Washington/02/2019 (конструкт 8443; производный от исходного В НА); L201A

B/Washington/02/2019 (конструкт 8444; производный от исходного В НА); L201W B/Washington/02/2019 (конструкт 8445; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4И** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих B/Darwin/20/2019 (исходный В; конструкт 8333; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8458; производный от исходного В НА); S140A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8459; производный от исходного В НА); S142A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8460; производный от исходного В НА); D193G B/Darwin/20/2019 (конструкт 8461; производный от исходного В НА); L201A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8462; производный от исходного В НА); L201W B/Darwin/20/2019 (конструкт 8463; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4Ж** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих B/Darwin/20/2019 (исходный В; конструкт 8333; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8458; производный от исходного В НА); S140A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8459; производный от исходного В НА); S142A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8460; производный от исходного В НА); D193G B/Darwin/20/2019 (конструкт 8461; производный от исходного В НА); L201A B/Darwin/20/2019 (конструкт 8462; производный от исходного В НА); L201W B/Darwin/20/2019 (конструкт 8463; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4К** иллюстрирует относительные выходы (кратность изменения) VLP, содержащих B/Victoria/705/2018 (исходный В; конструкт 8150; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8446; производный от исходного В НА); S140A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8447; производный от исходного В НА); S142A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8448; производный от исходного В НА); D193G B/Victoria/705/2018 (конструкт 8450; производный от исходного В НА); L201A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8449; производный от исходного В НА); L201W B/Victoria/705/2018 (конструкт 8451; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4Л** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих B/Victoria/705/2018 (исходный В; конструкт 8150; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих G138A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8446; производный от исходного В НА); S140A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8447; производный от исходного В НА); S142A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8448; производный от исходного В НА); D193G B/Victoria/705/2018 (конструкт 8450; производный от исходного В НА); L201A B/Victoria/705/2018 (конструкт 8449; производный от исходного В НА); L201W B/Victoria/705/2018 (конструкт 8451; производный от исходного В НА), (n=6). **ФИГ. 4М**

иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих H5 A/Indonesia/5/05 (исходный H5; конструктор 2295; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих modified HA Y91F H5 A/Indonesia/5/05 (конструктор 6101; производный от исходного H5 HA). **ФИГ. 4N** иллюстрирует титры гемагглютинации VLP, содержащих H7 A/Shanghai/2/2013 (исходный H7; конструктор 6102; левый столбец, указано как «1»), и VLP, содержащих modified HA Y88F H7 A/Shanghai/2/2013 (конструктор 6103; производный от исходного H7 HA);

[0044] **ФИГ. 5A** иллюстрирует, что Y91F H1-VLP не способен к агглютинации клеток. Человеческие PBMC (Мононуклеарная клетка периферической крови) (1×10^6) инкубировали с VLP (5 мкг/мл) на протяжении 30 мин (37°C, 5% CO₂). Левая панель иллюстрирует PBMC инкубированных со средой cRPMI (контроль) без наблюдаемой агглютинации; Средняя панель иллюстрирует агглютинацию после инкубирования PBMC с исходным H1 VLP (дикий тип/немодифицированный H1 A/California/07/2009 VLP); Правая панель не иллюстрирует агглютинацию, когда PBMC инкубировали с Y91F H1 A/California/07/2009 VLP. **ФИГ. 5B** иллюстрирует, что Y91F H1 A/California/07/2009 VLP не способен к агглютинации клеток. Гемагглютинацию 0,5% эритроцитов индейки инкубировали на протяжении 2 ч с H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1), или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP (2-кратное серийное разведение). Верхняя панель иллюстрирует агглютинацию в присутствии исходного H1 VLP; Нижняя панель не иллюстрирует агглютинацию в присутствии Y91F H1 A/California/07/2009 VLP. **ФИГ. 5C** иллюстрирует, что Y91F H1 A/California/07/2009 VLP не связывает гликаны, содержащие сиаловую кислоту, как определено используя SPR; Контроль: исходный H1 A/California/07/2009 VLP. Левая панель: общий белок из H1 A/California/07/2009 VLP и Y91F H1 A/California/07/2009 VLP; Правая панель H1 A/California/07/2009 VLP и Y91F A/California/07/2009 VLP связывающийся с сиаловой кислотой; BLQ означает «нижнюю границу определения». **ФИГ. 5D** иллюстрирует, что Y98F H3 A/Kansas/14/17 VLP связывает гликаны, содержащие сиаловую кислоту, как определено используя SPR; Контроль: исходный H3 A/Kansas/14/17. Левая панель: общий белок из исходного H3 A/Kansas/14/17 VLP и Y98F A/Kansas/14/17 VLP; Правая панель: исходный H3 A/Kansas/14/17 VLP и Y98F A/Kansas/14/17 VLP связывающийся с сиаловой кислотой.

[0045] **ФИГ. 6** иллюстрирует активацию PBMC при взаимодействии HA-SA гриппа человека. 1×10^6 PBMC стимулировали дикий тип/немодифицированный H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1) или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP на протяжении 6 ч (37 °C, 5% CO₂) и определяли CD69 с помощью проточной цитометрии.

Данные представлены как пропорция CD69⁺ клеток в рамках каждой субпопуляции PBMC. Левая панель: В клетки; средняя панель: CD4⁺ клетки; Правая панель: CD8⁺ клетки. Столбики погрешностей представляют собой среднюю стандартную ошибку (SEM), (n=3).

[0046] **ФИГ. 7А** иллюстрирует, что Y91F H1-VLP вызывает более сильный ответ нейтрализующих антител, чем нативный H1 A/California/07/2009 VLP (дикий тип/немодифицированный; исходный H1). BALB/с мышей (8-10 недель) вакцинировали ВМ (внутримышечно) 3 мкг H1 A/California/07/2009 VLP или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Сыворотку собирали на 21 день после вакцинации и H1-специфический ответ нейтрализующего антитела характеризовали с помощью исследования ингибирования гемагглютинации (HAI; левая панель) и микронеutralизующего исследования (MN; правая панель). Образец (n=9). Столбики погрешностей для HAI и MN представляют 95% доверительных интервалов геометрического среднего. Статистическую значимость определяли по критерию Манна-Уитни. (* $P < 0,033$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$). **ФИГ. 7В** иллюстрирует зависимые от времени титры H1-специфичного IgG определенного с помощью ELISA до 8 недель после вакцинации. BALB/с мышей (8-10 недель) вакцинировали ВМ 3 мкг H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1) или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Сыворотку собирали в указанное время. Столбики погрешностей представляют собой среднюю стандартную ошибку (SEM). **ФИГ. 7С** иллюстрирует зависимый от времени индекс avidности H1-специфичного IgG на 8 неделе после вакцинации (% связывания после обработки указанными концентрациями мочевины). BALB/с мышей (8-10 недели) вакцинировали ВМ 3 мкг H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1) или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Сыворотку собирали в указанное время. Столбики погрешностей представляют собой среднюю стандартную ошибку (SEM). **ФИГ. 7D** иллюстрирует зависимые от времени титры H7 IgG до 8 недель после вакцинации (3 мкг). BALB/с мышей (8-10 недели) вакцинировали ВМ 3 мкг H7 A/Shanghai/2/2013 VLP (исходный H7) или Y88F H7 A/Shanghai/2/2013 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ, и сыворотку собирали в указанное время. Титры H7-специфического IgG определяли с помощью ELISA. **ФИГ. 7E** иллюстрирует зависимый от времени индекс avidности H7-специфичного IgG до 2 месяцев после вакцинации. BALB/с мышей (8-10 недели) вакцинировали ВМ 3 мкг H7 A/Shanghai/2/2013 VLP (исходный H7) или Y88F H7 A/Shanghai/2/2013 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Сыворотку собирали в указанное время. Индекс avidности: % связывания после обработки 6М и 8М мочевины. Столбики погрешностей представляют

собой SEM. **ФИГ. 7F** иллюстрирует длительное поддержание активности IgG. Y91F H1 A/California/07/2009 VLP приводит к обеспечению более высокой avidности IgG, по сравнению с нативным H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1). Avidность сохранялась в обеих группах на протяжении, по меньшей мере, 7 месяцев. BALB/c мышей (8-10 недели) вакцинировали 3 мкг дикий тип/немодифицированный H1 A/California/07/2009 VLP или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ, и сыворотку собирали в указанные временные интервалы.

[0047] **ФИГ. 7G и 7H** иллюстрируют, что несвязывающие H1 A/California/07/2009 VLP, обеспечивают более высокие титры HI и MN на протяжении 7 месяцев после вакцинации и улучшают стойкость титров HI. Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали (BM) H1-VLP или Y91F H1-VLP (3 мкг/дозу). Сыворотку собирали ежемесячно для измерения титров HI (**7G**) и титров MN (**7H**). Статистическую значимость определяли с помощью множественных t-тестов, скорректированных на множественные сравнения, с использованием метода Холма-Сidak. (* $p < 0,033$, ** $p < 0,01$). **ФИГ. 7I** иллюстрирует ингибирование титров (HI) гемагглютинации после вакцинации H1 A/Idaho/07/2018 VLP или Y91F A/Idaho/07/2018 VLP. Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающего или несвязывающего (Y91F) H1-VLP (A/Idaho/07/2018) и ревакцинировали 1 мкг на день 21. Сыворотку собирали и измеряли титры HI на 21 день после ревакцинации. Статистическую значимость оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. **ФИГ. 7J** иллюстрирует титры IgG определенные с помощью ELISA используя H1 A/Idaho/07/2018 VLP или Y91F A/Idaho/07/2018 VLP после введения одной дозы вакцины (Д21) и после ревакцинации (Д42). Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающего или несвязывающего (Y91F) H1-VLP (A/Idaho/07/2018) и ревакцинировали 1 мкг на день 21. Сыворотку собирали и измеряли титры H1-специфического IgG с помощью ELISA на 21д после первой вакцинации и 21д после ревакцинации (д42). **ФИГ. 7K** иллюстрирует титры IgG определенные с помощью ELISA после вакцинации с помощью H1 A/Brisbane/02/2018 HA тримеров или Y91F A/Brisbane/02/2018 HA тримеров после одной дозы вакцинации (Д21) и после ревакцинации (Д42). Мышей (n=18/группу) вакцинировали 0,5 мкг связывающего или несвязывающего рекомбинантного H1 (A/Brisbane/02/2018) HA и ревакцинировали 0,5 мкг на день 21. Сыворотку собирали и измеряли H1-специфический IgG с помощью ELISA на 21д после первой вакцинации и 21д после ревакцинации (д42). **ФИГ. 7L** иллюстрирует индекс avidности H1-специфического IgG с помощью H1 A/Brisbane/02/2018 HA или Y91F A/Brisbane/02/2018 HA. IgG avidность оценивали с помощью шкалы avidности ELISA.

Образцы связанной сыворотки обрабатывали 4-6М мочевины и индекс avidности представляет собой пропорцию IgG, которая остается связанной после инкубирования мочевины ([IgG титр 2-10М мочевины]/[IgG титр 0М мочевины]). Статистическую значимость определяли по критерию Манна-Уитни. (* $p < 0,033$, *** $p < 0,001$). **ФИГ. 7М** не иллюстрирует изменение титров ингибирования гемагглютинации (HI) после вакцинации исходным B/Phuket/3073/2013 и несвязывающей (HC) D195G B/Phuket/3073/2013 VLP (левая панель). Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающего B/Phuket/3073/2013 VLP или несвязывающей (HC) D195G B/Phuket/3073/2013 VLP и ревакцинировали 1 мкг на день 21. Сыворотку собирали и измеряли титры HI на 21д после ревакцинации. Титры микронеутрализации (MN) были ниже после вакцинации несвязывающей (HC) D195G B/Phuket/3073/2013 VLP по сравнению со связывающей B/Phuket/3073/2013 VLP, но разница не была статистически значимой (правая панель). **ФИГ. 7N** иллюстрирует, что связывающая HA B/Phuket/3073/2013 VLP или несвязывающая (HC) D195G HA B/Phuket/3073/2013 VLP обеспечивают подобные количества HA-специфического IgG, но наблюдается небольшое увеличение avidности IgG среди мышей, вакцинированных несвязывающей D195G B/Phuket/3073/2013 VLP. Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающего или не связывающего D195G B/Phuket/3073/2013 VLP и ревакцинировали 1 мкг на день 21. Сыворотку собирали и измеряли B-специфический IgG с помощью ELISA на 21д после первой вакцинации и 21д после ревакцинации (д42) (правая панель). **ФИГ. 7O** иллюстрирует активность IgG измеренную с использованием avidности ELISA. Образцы связанной сыворотки обрабатывали 4-6М мочевины и индекс avidности представляет собой пропорцию IgG, которая остается связанной после инкубирования мочевины ([IgG титр 2-10М мочевины]/[IgG титр 0М мочевины]). Различия в avidности не были статистически значимыми между связывающим HA B/Phuket/3073/2013 VLP или несвязывающей (HC) D195G HA B/Phuket/3073/2013 VLP.

[0048] **ФИГ. 8А** иллюстрирует увеличение памяти В клеток после вакцинации Y91F H1-BLP. BALB/с мышей (8-10 недель) вакцинировали ВМ (внутримышечно) в День 0 и День 21 3 мкг или 0,5 мкг дикий тип/немодифицированный H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1) или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. H1-специфическую память В клеток измеряли в селезенке и костном мозге с помощью IgG ELISpot через 4 недели после ревакцинации. Клетки стимулировали в течение 72 часов с помощью R848 и гесIL-2 для идентификации памяти В клеток и оценивали сразу же после выделения на наличие активированных *in vivo* АСК. Пятна подсчитывали и измеряли,

используя планшет-ридер ImmunoSpot (Cellular Technology Limited). Столбики погрешностей: средняя стандартная ошибка (SEM). Статистическую значимость определяли с помощью теста Крускала-Уоллиса (* $P < 0,033$, ** $P < 0,01$). **ФИГ. 8В** иллюстрирует активированные *in vivo* АСК, измеряемые в селезенке и костном мозге с помощью IgG ELISpot через 4 недели после ревакцинации. Клетки оценивали сразу после выделения на наличие активированных *in vivo* АСК. Пятна подсчитывали и измеряли, как указано на **ФИГ. 8А**. На **ФИГ. 8С** проиллюстрированы активированные *in vivo* АСК, измеренные в селезенке (слева) и костном мозге (справа) с помощью IgG ELISpot через 4 недели после ревакцинации. Был проведен анализ IgG ELISpot (согласно **ФИГ. 8В**) для идентификации активированных *in vivo* АСК, и были получены изображения с использованием планшет-ридера ImmunoSpot (Cellular Technology Limited). **ФИГ. 8Д** иллюстрирует, что несвязывающиеся H1-VLP приводили к незначительному увеличению плазматических клеток костного мозга (BMPC) через 7 месяцев после вакцинации и коррелировали с поддержанием титров MN. Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали (ВМ) H1-VLP или Y91F H1-VLP (3 мкг/доза). Мышей подвергали эвтаназии при 7сот и собирали ВМ для количественного определения H1-специфических плазматических клеток (ПК) в костном мозге с помощью ELISpot. Репрезентативные лунки из каждой группы показаны справа. Все мыши, у которых было >10 клеток BMPC/ 1×10^6 , сохраняли свои титры MN между 3 и 7 месяцами после вакцинации. У всех мышей с <10 BMPC/ 1×10^6 клеток наблюдалось снижение титров MN через 3 месяца.

[0049] **ФИГ. 9А** иллюстрирует пролиферативный ответ у мышей, вакцинированных дикий тип/немодифицированный H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1) или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP. **ФИГ. 9В** иллюстрирует пролиферативный ответ у мышей, вакцинированных серией пептидов, полученных из исходного VLP H1 A/California/07/2009 (левый столбец) и VLP Y91F H1 A/California/07/2009 (правый столбец). Мышей BALB/c (8-10 недель) вакцинировали ВМ 3 мкг исходного (дикий тип/немодифицированный) VLP H1 A/California/07/2009 или VLP Y91F H1 A/California/07/2009, или эквивалентным объемом ФСБ. Через четыре недели после вакцинации мышей подвергали эвтаназии и собирали селезенки. Спленоциты ($2,5 \times 10^5$) стимулировали исходным (дикий тип/немодифицированный) H1 A/California/07/2009 VLP (**ФИГ. 9А**) или пулами из 20 перекрывающихся пептидов (по 15 аминокислот каждый), охватывающих всю исходную последовательность H1 НА (2 мкг/мл; **ФИГ. 9В**) в течение 72 ч (37°C, 5% CO₂). Пролиферативный ответ измеряли на основе включения бромдезоксисуридина (BrdU) и данные представлены как соотношение пролиферации по сравнению с нестимулированными

клетками. Столбики погрешностей представляют собой среднюю стандартную ошибку (SEM), $n=8$.

[0050] **ФИГ. 10А** иллюстрирует, что клеточно-опосредованный иммунный ответ сохраняется при вакцинации Y91F H1 A/California/07/2009 VLP. Мышей BALB/c (8-10 недель) вакцинировали ВМ 3 мкг дикий тип/немодифицированный VLP H1 A/California/07/2009 (исходный H1) или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Через четыре недели после вакцинации или после ревакцинации на 28-й день мышей подвергали эвтаназии и собирали селезенки. Спленоциты (1×10^6) стимулировали диким типом/немодифицированным H1 A/California/07/2009 VLP или Y91F H1 A/California/07/2009 VLP (2 мкг/мл) в течение 18 часов (37°C , 5% CO_2). Внутриклеточный IL-2, $\text{TNF}\alpha$ и $\text{IFN}\gamma$ измеряли с помощью проточной цитометрии. Данные представлены в виде общей доли CD4^+ Т-клеток, продуцирующих по меньшей мере один из измеряемых цитокинов. Левый столбец: ФСБ; Средний столбец исходный H1-VLP; правый столбец: Y91F H1 VLP. **ФИГ. 10В** иллюстрирует популяции монофункциональных CD4^+ Т-клеток (способы согласно ФИГ. 10А). Левая столбец: ФСБ; Средний столбец: исходный H1 HA VLP; правый столбец: Y91F H1 VLP. **ФИГ. 10С** иллюстрирует полифункциональные популяции CD4^+ Т-клеток (способы согласно ФИГ. 10А). Все значения вычитаются из фона с использованием нестимулированных клеток одного и того же животного. Левый столбец: ФСБ; Средний столбец: исходный H1 HA VLP; правый столбец: Y91F H1 VLP. Столбцы погрешностей представляют среднюю стандартную ошибку (SEM), $n=10-16$. Статистическую значимость определяли с помощью однофакторного ANOVA Брауна-Форсайта и Уэлча ($*P < 0,033$). **ФИГ. 10D** иллюстрирует данные с ФИГ. 10А-10С в другом формате следующим образом: Левый столбец: частота CD4^+ Т-клеток, экспрессирующих CD44 (антиген-специфический) и по меньшей мере один из IL-2, $\text{TNF}\alpha$ или $\text{IFN}\gamma$. Фоновые значения, полученные из нестимулированных образцов, вычитали из значений, полученных после стимуляции H1-VLP. Правый столбец: индивидуальные сигнатуры цитокинов для каждой мыши, полученные булевым анализом. Фоновые значения, полученные из нестимулированных образцов, вычитали из значений, полученных после стимуляции H1-VLP. На гистограмме показана частота каждой из популяций, а на круговых диаграммах показана распространенность каждой отвечающей популяции среди всех отвечающих клеток. **ФИГ. 10Е** иллюстрирует, что частота $\text{IL-2}^+\text{TNF}\alpha^+\text{IFN}\gamma^- \text{CD4}^+$ Т-клеток в ВМ коррелирует с титром HI. У мышей, вакцинированных несвязывающим H1-VLP, наблюдалось значительное увеличение частоты $\text{IL-2}^+\text{TNF}\alpha^+\text{IFN}\gamma^- \text{CD4}^+$ Т-клеток в костном мозге (см. ФИГ. 10D), что

коррелировало с повышенными титрами HI у этих мышей. Метод ранговой корреляции был применен для оценки взаимосвязи между частотой $IL-2^+TNF\alpha^+IFN\gamma^-CD4^+$ Т-клеток в ВМ и титром HAI. Мыши, вакцинированные Y91F H1-VLP, показаны обведенными белым кругом, а H1-VLP показаны сплошными темными. **ФИГ. 10F** и **10G** иллюстрируют, что общие ответы CD4 Т-клеток селезенки сохранялись после введения несвязывающей мутации (через 1 неделю после ревакцинации). Мышей (n=8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H1-VLP (A/Idaho/07/2018) и ревакцинировали 1 мкг на 21-й день. Мышей подвергали эвтаназии через 1 неделю после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антигенспецифических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе вакцины приводили к одинаковой частоте реагирующих клеток (**10F**) с аналогичной частотой полифункциональных CD4 Т-клеток (**10G**). Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**10F**) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (**10G**). $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$. **ФИГ. 10H** и **10I** иллюстрируют, что меньше CD4 Т-клеток экспрессировали $IFN\gamma$ после вакцинации несвязывающей H1-VLP (через 3 недели после ревакцинации). Мышей (n=8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H1-VLP (A/Idaho/07/2018) и ревакцинировали 1 мкг на 21-й день. Мышей подвергали эвтаназии через 3 недели после ревакцинации, и собирали селезенки для измерения антигенспецифических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Частота общих реагирующих CD4 Т-клеток была снижена после вакцинации Y91F H1-VLP, но это различие не было значительным (**10H**). Подобно H1 California, популяция $IL-2^+TNF\alpha^+IFN\gamma^-CD4^+$ доминировала в ответе на Y91F H1-VLP (**10G**). Однако большая часть популяций $IFN\gamma^+$ была снижена у мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**10H**) или двухфакторного ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (**10I**) $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$.

[0051] **ФИГ. 11A** иллюстрирует процент выживаемости после вакцинации в течение 12-дневного периода. Самок мышей BALB/c заражали вирусом H1N1 A/California/07/09 ($1,58 \times 10^3$ TCID₅₀) через 28 дней после вакцинации 3 мкг H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1), 3 мкг Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. За мышами внимательно следили на предмет потери веса и подвергали эвтаназии, если они теряли более 20% своего первоначального веса. Столбики погрешностей представляют собой среднюю стандартную ошибку (SEM), n=12. На **ФИГ. 11B** проиллюстрирован процент

потери веса каждый день после инфицирования в течение 12-дневного периода после заражения H1N1 A/California/07/09 ($1,58 \times 10^3$ TCID₅₀) через 28 дней после вакцинации 3 мкг H1 A/California/07/2009 VLP (исходный H1), 3 мкг Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Столбики погрешностей представляют SEM, n = 12. **ФИГ. 11С** иллюстрирует, что VLP Y91F H1 A/California/07/2009 способствует усиленному клиренсу вируса после заражения H1N1 A/California/07/09 ($1,58 \times 10^3$ TCID₅₀) через 28 дней после вакцинации 3 мкг дикий тип/немодифицированный H1 A/California/ 07/2009 VLP (исходный H1), 3 мкг Y91F H1 A/California/07/2009 VLP, или эквивалентным объемом ФСБ. Через 3 и 5 дни часть мышей подвергали эвтаназии, легкие собирали и гомогенизировали для измерения вирусной нагрузки с помощью TCID₅₀. Титры вирусов рассчитывали по методу Карбера. Столбики погрешностей представляют SEM, n=9. На **ФИГ. 11D** проиллюстрированы цитокиновые профили ложно инфицированных и инфицированных легких при 3 и 5 дни (дни после инфицирования). Мышей заражали $1,6 \times 10^3$ TCID₅₀ вируса H1N1 (A/California/07/09) через 28 дней после вакцинации, и часть мышей имитировали инфицированием эквивалентным объемом среды. Подмножество мышей (n=9/группа/момент времени) подвергали эвтаназии через 3 (слева) и 5 (справа) дней после инфицирования (дни) для оценки воспаления легких. Концентрации цитокинов и хемокинов в супернатантах гомогенатов легких измеряли с помощью мультиплексного ELISA (Quansys). На 3 дни в обеих группах вакцинации было снижено количество воспалительных цитокинов по сравнению с группой плацебо, но различий между вакцинами не было. К 5 дни в легких мышей, вакцинированных несвязывающей Y91F H1-VLP, было заметно меньше воспалительных цитокинов, обычно связанных с патологией легких. IFN γ приблизился к исходному уровню у этих мышей. На **ФИГ. 11E** проиллюстрированы пятна H&E легочной ткани при 10-кратном увеличении. Мышей заражали $1,6 \times 10^3$ TCID₅₀ вируса H1N1 (A/California/07/09) через 28 дней после вакцинации, и часть мышей имитировали инфицированием эквивалентным объемом среды. Подмножество мышей подвергали эвтаназии через 4 дня после инфицирования (дни) для оценки патологии легких. У мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP, было меньше воспаление легких по сравнению с мышами, вакцинированными H1-VLP, и они больше напоминали ложно инфицированных мышей.

[0052] **ФИГ. 12А** иллюстрирует схематический вид конструктора 1190 (2X35S/CPMV 160/На основе NOS экспрессионной кассеты; левая сторона), и конструктор 3637 (2X35S/CPMV 160/на основе NOS экспрессионной кассеты; правая сторона). **ФИГ. 12В** иллюстрирует схематический вид конструктора 2530 (2X35S/CPMV 160/на основе NOS экспрессионной

кассеты, левая сторона), и конструктор 4499 (2X35S/CPMV 160/на основе NOS экспрессионной кассеты, правая сторона). **ФИГ. 12С** иллюстрирует схематический вид конструктора 1314, кодирующего HA0 H1 A-Cal-7-09, и конструктора 6100, кодирующего HA0 H1 A-Cal-7-09 с Y91F мутацией. **ФИГ. 12D** иллюстрирует схематический вид конструктора 1314, кодирующего HA0 H1 A-Idaho-07-2018, и конструктора 8177, кодирующего HA0 H1 A-Idaho-07-2018 с Y91F мутацией. **ФИГ. 12E** иллюстрирует схематический вид конструктора 6722, кодирующего HA0 H1 A-Brisbane-02-2018, и конструктора 8433, кодирующего HA0 H1 A-Brisbane-02-2018 с Y91F мутацией. **ФИГ. 12F** иллюстрирует схематический вид конструктора 7281, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017, и конструктора 8179, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией. **ФИГ. 12G** иллюстрирует схематический вид конструктора 8384, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и S136D мутацией, и конструктора 8385, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и S136N мутацией. **ФИГ. 12H** иллюстрирует схематический вид конструктора 8387, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и S137N мутацией, и конструктора 8388, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и D190G мутацией. **ФИГ. 12I** иллюстрирует схематический вид конструктора 8389, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и D190K мутацией, и конструктора 8391, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и R222W мутацией. **ФИГ. 12J** иллюстрирует схематический вид конструктора 8392, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и S228N мутацией, и конструктора 8393, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с Y98F мутацией и S228Q мутацией. **ФИГ. 12K** иллюстрирует схематический вид конструктора 8477, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с S136D мутацией, и конструктора 8478, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с S136N мутацией. **ФИГ. 12L** иллюстрирует схематический вид конструктора 8481, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с D190K мутацией, и конструктора 8482, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с R222W мутацией. **ФИГ. 12M** иллюстрирует схематический вид конструктора 8483, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с S228N мутацией, и конструктора 8484, кодирующего HA0 H3 A-Kansas-14-2017 с S228Q мутацией. **ФИГ. 12N** иллюстрирует схематический вид конструктора 2295, кодирующего HA0 H5 A-Indo-5-05, и конструктора 6101, кодирующего HA0 H5 A-Indo-5-05 с Y91F мутацией. **ФИГ. 12O** иллюстрирует схематический вид конструктора 6102, кодирующего HA0 H7 A-Shanghai-2-13, и конструктора 6103, кодирующего HA0 H7 A-Shanghai-2-13 с Y88F мутацией. **ФИГ. 12P** иллюстрирует схематический вид конструктора 2835, кодирующего HA0 HA B-Phuket-3073-13, и конструктора 8352, кодирующего HA0 HA B-Phuket-3073-13 с S140A мутацией. **ФИГ. 12Q** иллюстрирует схематический вид конструктора 8354, кодирующего HA0 HA B-Phuket-3073-13 с S142A мутацией, и конструктора 8358, кодирующего

HA0 HA B-Phuket-3073-13 с G138A мутацией. **ФИГ. 12R** иллюстрирует схематический вид конструктора 8363, кодирующего HA0 HA B-Phuket-3073-13 с L203A мутацией, и конструктора 8376, кодирующего HA0 HA B-Phuket-3073-13 с D195G мутацией. **ФИГ. 12S** иллюстрирует схематический вид конструктора 8382, кодирующего HA0 HA B-Phuket-3073-13 с L203W мутацией. **ФИГ. 12T** иллюстрирует схематический вид конструктора 2879, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16, и конструктора 8485, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16 с G138A мутацией. **ФИГ. 12U** иллюстрирует схематический вид конструктора 8486, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16 с S140A мутацией, и конструктора 8487, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16 с S142A мутацией. **ФИГ. 12V** иллюстрирует схематический вид конструктора 8488, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16 с D195G мутацией, и конструктора 8489, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16 с L203A мутацией. **ФИГ. 12W** иллюстрирует схематический вид конструктора 8490, кодирующего HA0 HA B/Sing/INFKK-16-0569/16 с L203W мутацией. **ФИГ. 12X** иллюстрирует схематический вид конструктора 6791, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016, и конструктора 8434, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016 с G138A мутацией. **ФИГ. 12Y** иллюстрирует схематический вид конструктора 8435, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016 с S140A мутацией, и конструктора 8436, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016 с S142A мутацией. **ФИГ. 12Z** иллюстрирует схематический вид конструктора 8437, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016 с D194G мутацией, и конструктора 8438, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016 с L202A мутацией. **ФИГ. 12AA** иллюстрирует схематический вид конструктора 8439, кодирующего HA0 B-Maryland-15-2016 с L202W мутацией. **ФИГ. 12AB** иллюстрирует схематический вид конструктора 7679, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019, и конструктора 8440, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019 с G138A мутацией. **ФИГ. 12AC** иллюстрирует схематический вид конструктора 8441, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019 с S140A мутацией, и конструктора 8442, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019 с S142A мутацией. **ФИГ. 12AD** иллюстрирует схематический вид конструктора 8443, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019 с D193G мутацией, и конструктора 8444, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019 с L201A мутацией. **ФИГ. 12AE** иллюстрирует схематический вид конструктора 8445, кодирующего HA0 B-Wash-02-2019 с L201W мутацией. **ФИГ. 12AF** иллюстрирует схематический вид конструктора 8333, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019, и конструктора 8458, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019 с G138A мутацией. **ФИГ. 12AG** иллюстрирует схематический вид конструктора 8459, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019 с S140A мутацией, и конструктора 8460, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019 с S142A мутацией. **ФИГ. 12AH** иллюстрирует схематический вид конструктора 8461, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019 с D193G мутацией,

и конструктора 8462, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019 с L201A мутацией. **ФИГ. 12AI** иллюстрирует схематический вид конструктора 8463, кодирующего HA0 B-Darwin-20-2019 с L201W мутацией. **ФИГ. 12AJ** иллюстрирует схематический вид конструктора 8150, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018, и конструктора 8446, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018 с G138A мутацией. **ФИГ. 12AK** иллюстрирует схематический вид конструктора 8447, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018 с S140A мутацией, и конструктора 8448, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018 с S142A мутацией. **ФИГ. 12AL** иллюстрирует схематический вид конструктора 8449, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018 с D193G мутацией, и конструктора 8450, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018 с L201A мутацией. **ФИГ. 12AM** иллюстрирует схематический вид конструктора 8451, кодирующего HA0 B-Victoria-705-2018 с L201W мутацией.

[0053] **ФИГ. 13A** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H1A/California/7/2009 (SEQ ID NO: 1); **ФИГ. 13B** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H1 A/California/7/2009 (SEQ ID NO: 2); **ФИГ. 13C** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H1 A/California/7/2009 Y91F (SEQ ID NO: 11); **ФИГ. 13D** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H1 A/California/7/2009 Y91F (SEQ ID NO: 12). **ФИГ. 13E** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H1 A/Idaho/7/18 (SEQ ID NO: 100); **ФИГ. 13F** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI- H1 A/Idaho/7/18 (SEQ ID NO: 101); **ФИГ. 13G** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H1 A/Idaho/7/18 Y91F (SEQ ID NO: 104); **ФИГ. 13H** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI- H1 A/Idaho/7/18 Y91F (SEQ ID NO: 105); **ФИГ. 13I** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H1 A/Brisbane/02/2018 (SEQ ID NO: 194); **ФИГ. 13J** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H1 A/Brisbane/02/2018 (SEQ ID NO: 195); **ФИГ. 13K** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H1 A/Brisbane/02/2018 Y98F (SEQ ID NO: 196). **ФИГ. 13L** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H1 A/Brisbane/02/2018 Y98F (SEQ ID NO: 197).

[0054] **ФИГ. 14A** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 (SEQ ID NO: 60); **ФИГ. 14B** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 (SEQ ID NO: 61); **ФИГ. 14C** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F (SEQ ID NO: 64); **ФИГ. 14D** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F

(SEQ ID NO: 65); **ФИГ. 14Е** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S136D (SEQ ID NO: 68); **ФИГ. 14F** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S136D (SEQ ID NO: 69); **ФИГ. 14G** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S136N (SEQ ID NO: 72); **ФИГ. 14H** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S136N (SEQ ID NO: 73); **ФИГ. 14I** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S137N (SEQ ID NO: 76); **ФИГ. 14J** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S137N (SEQ ID NO: 77); **ФИГ. 14K** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, D190G (SEQ ID NO: 80); **ФИГ. 14L** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, D190G (SEQ ID NO: 81); **ФИГ. 14M** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, D190K (SEQ ID NO: 84); **ФИГ. 14N** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, D190K (SEQ ID NO: 85); **ФИГ. 14O** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, R222W (SEQ ID NO: 88); **ФИГ. 14P** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, R222W (SEQ ID NO: 89); **ФИГ. 14Q** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S228N (SEQ ID NO: 92); **ФИГ. 14R** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S228N (SEQ ID NO: 93); **ФИГ. 14S** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S228Q (SEQ ID NO: 96); **ФИГ. 14T** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 Y98F, S228Q (SEQ ID NO: 97); **ФИГ. 14U** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S136D (SEQ ID NO: 111); **ФИГ. 14V** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S136D (SEQ ID NO: 112); **ФИГ. 14W** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S136N (SEQ ID NO: 113); **ФИГ. 14X** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S136N (SEQ ID NO: 114); **ФИГ. 14Y** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 D190K (SEQ ID NO: 115); **ФИГ. 14Z** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 D190K (SEQ ID NO: 116); **ФИГ. 14AA** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 R222W (SEQ ID NO: 117); **ФИГ. 14AB** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 R222W (SEQ ID NO: 118); **ФИГ. 14AC** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S228N (SEQ ID NO: 119); **ФИГ. 14AD** иллюстрирует аминокислотную

последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S228N (SEQ ID NO: 120); **ФИГ. 14AE** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S228Q (SEQ ID NO: 121); **ФИГ. 14AF** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-H3 A/Kansas/14/2017 S228Q (SEQ ID NO: 122).

[0055] **ФИГ. 15A** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI H7 A/Shanghai/2/2013 (SEQ ID NO:20); **ФИГ. 15B** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI H7 A/Shanghai/2/2013 (SEQ ID NO:21); **ФИГ. 15C** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI H7 A/Shanghai/2/2013 Y88F (SEQ ID NO:25); **ФИГ. 15D** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI H7 A/Shanghai/2/2013 Y88F (SEQ ID NO:26); **ФИГ. 15E** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI H5 A/Indonesia/5/2005 (SEQ ID NO:198); **ФИГ. 15F** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI H5 A/Indonesia/5/2005 (SEQ ID NO:199); **ФИГ. 15G** иллюстрирует нуклеотидную последовательность праймера IF-H5ITMCT.s1-4r (SEQ ID NO:200); **ФИГ. 15H** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI H5 A/Indonesia/5/2005 Y91F (SEQ ID NO:201); **ФИГ. 15I** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI H5 A/Indonesia/5/2005 Y91F (SEQ ID NO:202);

[0056] **ФИГ. 16A** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 (Prl-) (SEQ ID NO:27); **ФИГ. 16B** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 (Prl-) (SEQ ID NO:28); **ФИГ. 16C** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 S140A (Prl-) (SEQ ID NO:32); **ФИГ. 16D** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 S140A (Prl-) (SEQ ID NO:33); **ФИГ. 16E** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 S142A (Prl-) (SEQ ID NO:36); **ФИГ. 16F** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 S142A (Prl-) (SEQ ID NO:37); **ФИГ. 16G** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 G138A (Prl-) (SEQ ID NO:40); **ФИГ. 16H** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 G138A (Prl-) (SEQ ID NO:41); **ФИГ. 16I** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 L203A (Prl-) (SEQ ID NO:44); **ФИГ. 16J** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 L203A (Prl-) (SEQ ID NO:45); **ФИГ. 16K** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 D195G (Prl-) (SEQ ID NO:48); **ФИГ. 16L** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 D195G (Prl-) (SEQ ID NO:49); **ФИГ. 16M**

иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 L203W (Prl-) (SEQ ID NO:52); **ФИГ. 16N** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI B/Phuket/3073/2013 L203W (Prl-) (SEQ ID NO:53); **ФИГ. 16O** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:123); **ФИГ. 16P** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (Prl-) AA (SEQ ID NO:124); **ФИГ. 16Q** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-G138A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:125); **ФИГ. 16R** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-G138A (Prl-) AA (SEQ ID NO:126); **ФИГ. 16S** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-S140A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:127); **ФИГ. 16T** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-S140A (Prl-) AA (SEQ ID NO:128); **ФИГ. 16U** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-S142A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:129); **ФИГ. 16V** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-S142A (Prl-) AA (SEQ ID NO:130); **ФИГ. 16W** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-D195G (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:131); **ФИГ. 16X** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-D195G (Prl-) AA (SEQ ID NO:132); **ФИГ. 16Y** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-L203A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:133); **ФИГ. 16Z** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-L203A (Prl-) AA (SEQ ID NO:134); **ФИГ. 16AA** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-L203W (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:135); **ФИГ. 16AB** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Singapore/INFKK-16-0569/2016-L203W (Prl-) AA (SEQ ID NO:136); **ФИГ. 16AC** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016 (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:137); **ФИГ. 16AD** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016 (Prl-) AA (SEQ ID NO:138); **ФИГ. 16AE** иллюстрирует нуклеотидную последовательность праймера IF-B-Bris(nat).c (SEQ ID NO:139); **ФИГ. 16AF** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-G138A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:140); **ФИГ. 16AG** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-G138A (Prl-) AA (SEQ ID NO:141); **ФИГ. 16AH** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-S140A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:142); **ФИГ. 16AI** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-S140A (Prl-) AA (SEQ ID NO:143); **ФИГ. 16AJ** иллюстрирует

нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-S142A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:144); **ФИГ. 16AK** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-S142A (Prl-) AA (SEQ ID NO:145); **ФИГ. 16AL** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-D194G (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:146); **ФИГ. 16AM** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-D194G (Prl-) AA (SEQ ID NO:147); **ФИГ. 16AN** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-L202A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:148); **ФИГ. 16AO** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-L202A (Prl-) AA (SEQ ID NO:149); **ФИГ. 16AP** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-L202W (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:150); **ФИГ. 16AQ** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Maryland/15/2016-L202W (Prl-) AA (SEQ ID NO:151); **ФИГ. 16AR** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019 (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:152); **ФИГ. 16AS** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019 (Prl-) AA (SEQ ID NO:153); **ФИГ. 16AT** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-G138A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:154); **ФИГ. 16AU** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-G138A (Prl-) AA (SEQ ID NO:155); **ФИГ. 16AV** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-S140A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:156); **ФИГ. 16AW** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-S140A (Prl-) AA (SEQ ID NO:157); **ФИГ. 16AX** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-S142A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:158); **ФИГ. 16AY** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-S142A (Prl-) AA (SEQ ID NO:159); **ФИГ. 16AZ** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-D193G (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:160); **ФИГ. 16BA** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-D193G (Prl-) AA (SEQ ID NO:161); **ФИГ. 16BB** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-L201A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:162); **ФИГ. 16BC** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-L201A (Prl-) AA (SEQ ID NO:163); **ФИГ. 16BD** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-L201W (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:164); **ФИГ. 16BE** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Washington/02/2019-L201W (Prl-) AA (SEQ ID NO:165); **ФИГ. 16BF** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018 (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:180); **ФИГ. 16BG** иллюстрирует аминокислотную

последовательность PDI-B/Victoria/705/2018 (Prl-) AA (SEQ ID NO:181); **ФИГ. 16BH** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-G138A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:182); **ФИГ. 16BI** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-G138A (Prl-) AA (SEQ ID NO:183); **ФИГ. 16BJ** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-S140A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:184); **ФИГ. 16BK** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-S140A (Prl-) AA (SEQ ID NO:185); **ФИГ. 16BL** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-S142A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:186); **ФИГ. 16BM** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-S142A (Prl-) AA (SEQ ID NO:187); **ФИГ. 16BN** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-D193G (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:188); **ФИГ. 16BO** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-D193G (Prl-) AA (SEQ ID NO:189); **ФИГ. 16BP** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-L201A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:190); **ФИГ. 16BQ** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-L201A (Prl-) AA (SEQ ID NO:191); **ФИГ. 16BR** иллюстрирует нуклеотидную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-L201W (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:192); **ФИГ. 16BS** иллюстрирует аминокислотную последовательность PDI-B/Victoria/705/2018-L201W (Prl-) AA (SEQ ID NO:193); **ФИГ. 16BT** иллюстрирует аминокислотную последовательность H1 HA A/California/07/2009 (SEQ ID NO:203); **ФИГ. 16BU** иллюстрирует аминокислотную последовательность H3 HA A/Kansas/14/2017 (SEQ ID NO:204); **ФИГ. 16BV** иллюстрирует аминокислотную последовательность H5 HA A/Indonesia/05/2005 (SEQ ID NO:205); **ФИГ. 16BW** иллюстрирует аминокислотную последовательность H7 HA A/Shanghai/2/2013 (SEQ ID NO:206); **ФИГ. 16BX** иллюстрирует аминокислотную последовательность HA B B/Phuket/3073/2013 (SEQ ID NO:207); **ФИГ. 16BY** иллюстрирует аминокислотную последовательность HA B B/Maryland/15/2016 (SEQ ID NO:208); **ФИГ. 16BZ** иллюстрирует аминокислотную последовательность HA B B/Victoria/705/2018 (SEQ ID NO:209).

[0057] **ФИГ. 17A** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для вектора клонирования 1190 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 5); **ФИГ. 17B** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для конструкта 1314 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 6); **ФИГ. 17C** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для вектора клонирования 3637 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 9) **ФИГ. 17D** иллюстрирует

нуклеиновую последовательность для конструкта 6100 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 10); **ФИГ. 17Е** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для вектора клонирования 2530 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 54); **ФИГ. 17F** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для конструкта 2835 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 55); **ФИГ. 17G** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для вектора клонирования 4499 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 56); **ФИГ. 17H** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для конструкта 8352 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 57). **ФИГ. 17I** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для конструкта 7281 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 58). **ФИГ. 17J** иллюстрирует нуклеиновую последовательность для конструкта 8179 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 59).

[0058] **ФИГ. 18А и В** иллюстрируют, что общие ответы CD4 Т-клеток селезенки сохранялись при введении изменения из Y91F. Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H5-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе вакцины приводили к одинаковой частоте реагирующих клеток (**18А**) с аналогичной частотой полифункциональных CD4 Т-клеток (**18В**). Однако Y91F H5-VLP приводил к меньшему количеству одиночных положительных клеток IFN γ . (тройные положительные) CD4 Т-клетки (**18В**). Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**18А**) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки. (**18В**). * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

[0059] **ФИГ. 18С и D** иллюстрируют, что ответы CD8 Т-клеток селезенки снижались при введении несвязывающей мутации. Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H5-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD8 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе VLP приводили к значительному увеличению общего числа реагирующих клеток по сравнению с группой плацебо, но ответ был значительно сильнее у мышей, получавших WT H5-VLP (**18С**). Это увеличение было вызвано увеличением количества клеток с единичным положительным статусом IFN γ и клеток IL-2+ IFN γ + (**18D**). Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**18С**) или двустороннего ANOVA с множественными

сравнениями Тьюки (**18D**). $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$. **ФИГ. 18E** иллюстрирует, что несвязывающая H5-VLP приводит к увеличению H5-специфических плазматических клеток костного мозга (BMPC). Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H5-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали костный мозг (КМ) для измерения H5-специфического BMPC с помощью анализа ELISpot. Изображения репрезентативных лунок показаны справа. Статистическую значимость оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. **ФИГ. 18F** и **18G** иллюстрируют, что несвязывающаяся H5-VLP приводит к увеличению количества антиген-специфических CD4 T-клеток в костном мозге (КМ). Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H5-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали костный мозг для измерения антигенспецифических (CD44+) T-клеток CD4 с помощью проточной цитометрии. Только Y91F H5-VLP приводил к значительному увеличению количества реагирующих CD4 T-клеток по сравнению с группой плацебо (**18F**). Y91F H1-VLP также приводил к значительному увеличению IL-2⁺TNFα⁺IFNγ⁺ CD4 T-клеток по сравнению с WT H5-VLP (**18G**). Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**18F**) или двухфакторного ANOVA с множественными сравнениями Тьюки. (**18G**). $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$

[0060] **ФИГ. 19A** иллюстрирует, что несвязывающая H7-VLP приводит к значительно более высоким титрам ингибирования гемагглютинации (HI) во все измеренные моменты времени. Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (Y88F) H7-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Собирали сыворотку и измеряли титры HI через 4, 8 и 13 недель. Статистическую значимость определяли множественными Т-тестами с множественными сравнениями Холма-Сидака. $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$. На **ФИГ. 19B** проиллюстрировано, что связывающие и несвязывающие (Y88F) H7-VLP приводят к сходным общим титрам H7-специфических IgG. **ФИГ. 19C** иллюстрирует, что несвязывающая H7-VLP приводит к усилению созревания авидности IgG. Образцы связанной сыворотки обрабатывали 0-10 М мочевины, и индекс авидности представляет собой долю IgG, которая остается связанной после инкубации с мочевиной ([титр IgG 2-10 М мочевины]/[титр IgG 0 М мочевины]). На левой панели показаны индексы авидности на 13-й неделе. На правой панели показаны изменения авидности с течением времени (8М мочевины). Статистическую значимость определяли с

помощью множественных Т-тестов с множественными сравнениями Холма-Сидака. $*p<0,033$, $**p<0,01$. **ФИГ. 19D** иллюстрирует, что несвязывающая H7-VLP приводит к увеличению H7-специфических плазматических клеток костного мозга (BMPC). Мышей ($n=10$ /группу) вакцинировали 3 мкг связывающих или несвязывающих (Y88F) H7-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали костный мозг (КМ) для измерения H7-специфического BMPC с помощью анализа ELISpot. Изображения репрезентативных лунок показаны справа. Статистическую значимость оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. **ФИГ. 19E** и **19F** иллюстрируют, что ответы CD4 Т-клеток селезенки сохранялись при введении несвязывающей мутации. Мышей ($n=10$ /группу) вакцинировали 3 мкг связывающих или несвязывающих (Y88F) H7-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе вакцины приводили к одинаковой частоте реагирующих клеток (**19E**) с аналогичной частотой IL-2⁺TNF α ⁺IFN γ ⁺ (трижды положительные) CD4 Т-клеток (**19F**). Y88F H7-VLP приводила к увеличению количества единичных положительных клеток IL-2. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**19E**) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (**19F**). $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$. **ФИГ. 19G** и **19H** иллюстрируют, что ответы CD8 Т-клеток селезенки были сходными между вакцинированными группами. Мышей ($n=10$ /группу) вакцинировали 3 мкг связывающих или несвязывающих (Y88F) H7-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD8 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. В целом, ответы CD8 Т-клеток были слабыми. Только WT H7-VLP приводила к значительному увеличению общего количества реагирующих клеток (**19G**), обусловленному увеличением количества IFN γ единичных положительных клеток (**19H**). Сигнатуры полифункциональных Т-клеток CD8 были одинаковыми в обеих вакцинированных группах со значительным увеличением IL-2⁺IFN γ ⁺ клеток. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (**19G**) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (**19H**). $*p<0,033$, $**p<0,01$, $***p<0,001$

[0061] **ФИГ. 20A** и **20B** иллюстрируют меньше CD4 Т-клеток, экспрессирующих IFN γ , после вакцинации несвязывающей B-VLP (через 3 недели после ревакцинации).

Мышей ($n=8$ /группу) вакцинировали 1 мкг связывающей или несвязывающей (НС) B-VLP (D195G B/Phuket/3073/2013) и ревакцинировали 1 мкг на 21-й день. Мышей подвергали эвтаназии через 3 недели после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антигенспецифических (CD44⁺) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Частота общего числа реагирующих CD4 Т-клеток была одинаковой в группах вакцин (20A). Подобно другим несвязывающим VLP, популяции IL-2⁺ преобладали в ответе на NB B-VLP (20B). Однако количество клеток IFN γ ⁺ было снижено у мышей, вакцинированных NB B-VLP. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (20A) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (20B). * $p<0,033$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$.

ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0062] Следующее описание относится к предпочтительному варианту реализации.

[0063] Используемые в данном документе термины «содержащий», «имеющий», «включающий», «состоящий из» и их грамматические варианты являются включающими или открытыми и не исключают дополнительные, неуказанные элементы и/или стадии способа. Термин «состоящий в основном из» при использовании в данном документе в связи с продуктом, применением или способом означает, что могут присутствовать дополнительные элементы и/или стадии способа, но что эти добавления существенно не влияют на способ, в котором указанный способ или применение функционирует. Термин «состоящий из», используемый в данном документе в связи с продуктом, применением или способом, исключает наличие дополнительных элементов и/или стадий способа. Продукт, применение или способ, описанные в данном документе как содержащие определенные элементы и/или стадии, также могут в определенных вариантах реализации состоять по существу из этих элементов и/или стадий, а в других вариантах реализации состоять из этих элементов и/или стадий, независимо от того, являются ли они конкретно упомянутыми вариантами реализации. Кроме того, использование единственного числа включает множественное число, а «или» означает «и/или», если не указано иное. Если в данном документе не указано иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют такое же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники. Используемый в данном документе термин «около» относится к приблизительно +/-10% отклонению от заданного значения. Следует понимать, что такое изменение всегда включено в любое заданное значение, представленное в данном документе, независимо от того,

упоминается ли оно конкретно. Использование единственного числа в данном документе в комбинации с термином «содержащий» может означать «один», но оно также согласуется со значением «один или более», «по меньшей мере один» и «один или несколько».

[0064] Используемые в данном документе сокращения «КОИ» относятся к клеточно-опосредованному иммунитету; «НА» относится к гемагглютинуину; «НАI» относится к ингибированию гемагглютинации; «MN» относится к микронеutralизации; «PВМС» относится к моноклеарным клеткам периферической крови; «tRBC» относится к эритроцитам индейки; «SA» относится к сиаловой кислоте; «SPR» относится к поверхностному плазмонному резонансу; «UIV» относится к универсальной противогриппозной вакцине; «VLP» относится к вирусоподобной частице.

[0065] Используемый в данном документе термин «хозяин» может включать любого подходящего эукариотического хозяина, известного специалисту в данной области, например, но не ограничиваясь этим, эукариотическую клетку, культуру эукариотических клеток, культуру клеток млекопитающих, клетку насекомого, культуру клеток насекомых, бакуловирусную клетку, клетку птицы, яйцеклетку, растительную клетку, растение или часть растения.

[0066] Термин «часть растения», «растительная часть», «растительное вещество», «биомасса растения», «растительный материал», используемый в данном документе, относится к любой части растения, включая, но не ограничиваясь, листья, стебель, корень, цветки, плоды, растительную клетку, полученную из листьев, стебля, корня, цветков, плодов, растительный экстракт, полученный из листьев, стебля, корня, цветков, плодов, или их комбинация. Термин «растительный экстракт», используемый в данном документе, относится к продукту растительного происхождения, полученному после физической обработки растения, части растения, растительной клетки или их комбинации (например, путем замораживания с последующей экстракцией в подходящем буфере), механически (например, путем измельчения или гомогенизации растения или части растения с последующей экстракцией в подходящем буфере), ферментативно (например, с использованием ферментов, разрушающих клеточную стенку), химически (например, с использованием одного или нескольких хелаторов или буферов), или их комбинацию. Растительный экстракт может включать растительную ткань, клетки или любую их фракцию, внутриклеточные растительные компоненты, внеклеточные растительные компоненты, жидкие или твердые экстракты растений или их комбинацию.

[0067] Растительный экстракт может быть дополнительно обработан для удаления нежелательных растительных компонентов, например, остатков клеточных стенок. Экстракт растения может быть получен для содействия извлечению одного или нескольких компонентов из растения, части растения или растительной клетки, например, супраструктур, нуклеиновых кислот, липидов, углеводов или их комбинации, из растения, части растения или растительной клетки.

[0068] «Супраструктуры» (белковые супраструктуры) включают, но не ограничиваются ими, мультимерные белки, такие как, например, димерные белки, тримерные белки, полимерные белки, розетки, содержащие белки, метапротеины, белковые комплексы, белково-липидные комплексы, VLP или их комбинации.

[0069] Кроме того, супраструктуры могут представлять собой каркас, содержащий белок или мультимерные белки. Например, супраструктуры могут представлять собой наночастицы, наноструктуры, белковые наноструктуры, полимеры, такие как, например, сахарный полимер, мицеллы, везикулы, мембраны или фрагменты мембран, содержащие белок или мультимерные белки. В неограничивающем примере супраструктура может иметь размер в диапазоне от около 10 нм до около 350 нм или любую величину между ними.

[0070] Если растительный экстракт содержит белки, то он может называться белковым экстрактом. Экстракт белка (или экстракт супраструктуры) может быть неочищенным растительным экстрактом, частично очищенным растительным или белковым экстрактом или очищенным продуктом, который содержит одну или несколько супраструктур, димерных белков, тримерных белков, полимерных белков, розеток, содержащих белки, метапротеины, белковые комплексы, белково-липидные комплексы, VLP или их комбинации из растительной ткани. При желании экстракт супраструктуры, например, белковый экстракт или растительный экстракт, может быть частично очищен с использованием методик, известных специалистам в данной области, например, экстракт может быть подвергнут осаждению солью или рН, центрифугированию, центрифугированию по градиенту плотности, фильтрации, хроматографии, например, эксклюзионной хроматографии, ионообменной хроматографии, аффинной хроматографии или их комбинации. Супраструктура или белковый экстракт также могут быть очищены с использованием методик, известных специалистам в данной области.

[0071] Термин «конструкт», «вектор» или «вектор экспрессии», используемый в данном документе, относится к рекомбинантной нуклеиновой кислоте для переноса

последовательностей экзогенных нуклеиновых кислот в клетки-хозяева (например, растительные клетки) и управления экспрессией экзогенной последовательности нуклеиновой кислоты в клетках-хозяевах. «Экспрессионная кассета» относится к нуклеотидной последовательности, содержащей представляющую интерес нуклеиновую кислоту, находящуюся под контролем и функционально (или оперативно) связанную с соответствующим промотором или другими регуляторными элементами для транскрипции, представляющей интерес нуклеиновой кислоты, в клетке-хозяине. Как понятно специалисту в данной области техники, экспрессионная кассета может содержать терминирующую (терминаторную) последовательность, которая представляет собой любую последовательность, активную в растении-хозяине. Например, терминирующая последовательность может быть получена из сегмента генома РНК-2 двудольного РНК-вируса, т.е. комовируса, терминирующая последовательность может представлять собой терминатор NOS, или последовательность терминатора может быть получена из 3'UTR гена пластоцианина люцерны.

[0072] Конструкты по данному изобретению могут дополнительно содержать 3'-нетранслируемую область (UTR). 3'-нетранслируемая область содержит сигнал полиаденилирования и любые другие регуляторные сигналы, способные влиять на процессинг мРНК или экспрессию генов. Сигнал полиаденилирования обычно характеризуется добавлением дорожек полиадениловой кислоты к 3'-концу предшественника мРНК. Сигналы полиаденилирования обычно распознаются по наличию гомологии с канонической формой 5' ААТAAA-3', хотя вариации не являются редкостью. Неограничивающими примерами подходящих 3'-областей являются 3'-транскрибируемые нетранслируемые области, содержащие сигнал полиаденилирования плазмидных генов, индуцирующих опухоль (Ti) *Agrobacterium*, таких как нопалинсинтаза (ген Nos), и гены растений, такие как гены накопления белка сои, малая субъединица гена рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы (ssRUBISCO; патент США 4962028; который включен в данный документ в качестве ссылки), промотор, используемый для регуляции экспрессии пластоцианина.

[0073] Под «регуляторной областью», «регуляторным элементом» или «промотором» подразумевается часть нуклеиновой кислоты, обычно, но не всегда, перед областью, кодирующей белок гена, которая может состоять из ДНК или РНК, или как ДНК, так и РНК. Когда регуляторная область активна и находится в оперативной ассоциации или функционально связана с интересующей нуклеотидной последовательностью, это может

привести к экспрессии интересующей нуклеотидной последовательности. Регуляторный элемент может быть способен опосредовать специфичность органа или контролировать активацию гена развития или временного гена. «Регуляторная область» включает промоторные элементы, основные промоторные элементы, проявляющие базальную промоторную активность, элементы, которые индуцируются в ответ на внешний стимул, элементы, которые опосредуют промоторную активность, такие как негативные регуляторные элементы или энхансеры транскрипции. «Регуляторная область», как используется в данном документе, также включает элементы, которые являются активными после транскрипции, например, регуляторные элементы, которые модулируют экспрессию генов, такие как трансляционные и транскрипционные энхансеры, трансляционные и транскрипционные репрессоры, расположенные выше активирующие последовательности и нестабильные мРНК детерминанты. Некоторые из этих последних элементов могут быть расположены проксимальнее кодирующей области.

[0074] В контексте данного описания, термин «регуляторный элемент» или «регуляторная область» обычно относится к последовательности ДНК, обычно, но не всегда, выше (5') кодирующей последовательности структурного гена, которая контролирует экспрессию кодирующей области, обеспечивая распознавание РНК-полимеразы и/или других факторов, необходимых для начала транскрипции в конкретном сайте. Однако следует понимать, что другие нуклеотидные последовательности, расположенные в интронах или в 3'-конце последовательности, также могут способствовать регуляции экспрессии интересующей кодирующей области. Примером регуляторного элемента, который обеспечивает распознавание РНК-полимеразы или других транскрипционных факторов для обеспечения инициации в конкретном сайте, является промоторный элемент. Большинство, но не все эукариотические промоторные элементы содержат ТАТА-бокс, консервативную последовательность нуклеиновой кислоты, состоящую из пар нуклеотидных оснований аденозина и тимидина, обычно расположенную приблизительно на 25 пар оснований выше сайта начала транскрипции. Промоторный элемент может содержать базальный промоторный элемент, отвечающий за инициацию транскрипции, а также другие регуляторные элементы, модифицирующие экспрессию генов.

[0075] Существует несколько типов регуляторных областей, включая те, которые регулируются развитием, индуцируются или конститутивны. Регуляторная область, которая регулируется в процессе развития или контролирует дифференциальную экспрессию гена, находящегося под ее контролем, активируется в определенных органах или тканях органа в

определенное время в ходе развития этого органа или ткани. Однако некоторые регуляторные области, которые регулируются в процессе развития, могут предпочтительно быть активными в определенных органах или тканях на определенных стадиях развития, они также могут быть активны регулируемы в процессе развития образом или на базальном уровне в других органах или тканях растения. Примеры тканеспецифичных регуляторных областей, например, специфичных для см. регуляторных областей, включают промотор напина и промотор круциферина (Rask et al., 1998, J. Plant Physiol. 152: 595-599; Bilodeau et al., 1994, Plant Cell 14: 125-130). Пример специфического для листьев промотора включает промотор пластоцианина (см. патент США 7125978, который включен в данный документ в качестве ссылки).

[0076] Индуцибельная регуляторная область представляет собой область, которая способна прямо или косвенно активировать транскрипцию одной или нескольких последовательностей ДНК или генов в ответ на индуктор. В отсутствие индуктора последовательности ДНК или гены не будут транскрибироваться. Как правило, белковый фактор, который специфически связывается с индуцируемой регуляторной областью для активации транскрипции, может присутствовать в неактивной форме, которая затем прямо или косвенно преобразуется в активную форму индуктором. Однако белковый фактор также может отсутствовать. Индуктор может быть химическим агентом, таким как белок, метаболит, регулятор роста, гербицид или фенольное соединение, или физиологическим стрессом, вызванным непосредственно жарой, холодом, солью или токсичными элементами или косвенно через действие патогена или возбудителя болезни, такого как вирус. Растительная клетка, содержащая индуцируемую регуляторную область, может подвергаться воздействию индуктора путем нанесения индуктора на клетку или растение извне, например, путем опрыскивания, полива, нагревания или подобных способов. Индуцибельные регуляторные элементы могут происходить из растительных или нерастительных генов (например, Gatz, C. and Lenk, I.R.P., 1998, Trends Plant Sci. 3, 352-358). Примеры потенциальных индуцируемых промоторов включают, но не ограничиваются ими, индуцируемый тетрациклином промотор (Gatz, C., 1997, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48, 89-108), индуцируемый стероидами промотор (Aoyama, T. and Chua, N.H., 1997, Plant J. 2, 397-404) и индуцируемый этанолом промотор (Salter, M.G., et al., 1998, Plant Journal 16, 127-132; Caddick, M.X., et al., 1998, Nature Biotech. 16, 177-180) гены IB6 и SKI1, индуцируемые цитокинином (Brandstatter, I. and Kieber, J.J., 1998, Plant Cell 10, 1009-1019;

Kakimoto, T., 1996, *Science* 274, 982-985) и элемент, индуцируемый ауксином, DR5 (Ulmasov, T., et al., 1997, *Plant Cell* 9, 1963-1971).

[0077] Конститутивная регуляторная область направляет экспрессию гена в различных частях растения и постоянно на протяжении всего развития растения. Примеры известных конститутивных регуляторных элементов включают промоторы, связанные с транскриптом 35S CaMV. (p35S; Odell et al., 1985, *Nature*, 313: 810-812; который включен в Данное описание в качестве ссылки), актин 1 риса (Zhang et al., 1991, *Plant Cell*, 3: 1155-1165), актин 2 (An et al., 1996, *Plant J.*, 10: 107-121), или гены tms 2 (US 5428147) и триозофосфатизомеразы 1 (Xu et al., 1994, *Plant Physiol.* 106: 459-467), ген убиквитина 1 кукурузы (Cornejo et al., 1993, *Plant Mol. Biol.* 29: 637-646), гены убиквитина 1 и 6 *Arabidopsis* (Holtorf et al., 1995, *Plant Mol. Biol.* 29: 637-646), ген фактора инициации трансляции 4А табака (Mandel et al., 1995, *Plant Mol. Biol.* 29: 995-1004), промотор вируса мозаики жилок маниоки, pCAS (Verdaguer et al., 1996); промотор малой субъединицы рибулозобифосфаткарбоксилазы, pRbcS: (Outchkourov et al., 2003), pUbi (для однодольных и двудольных).

[0078] Термин «конститутивный», используемый в данном документе, не обязательно указывает на то, что нуклеотидная последовательность, находящаяся под контролем конститутивной регуляторной области, экспрессируется на одном уровне во всех типах клеток, но что эта последовательность экспрессируется в широком диапазоне типов клеток, хотя часто наблюдаются различия в численности.

[0079] Нуклеиновая кислота, кодирующая модифицированный белок НА, как описано в данном документе, может дополнительно содержать последовательности, которые усиливают экспрессию модифицированного белка НА в желаемом хозяине, например, в растении, части растения или растительной клетке.

[0080] Термин «усилитель экспрессии растительного происхождения», используемый в данном документе, относится к нуклеотидной последовательности, полученной из растения, нуклеотидной последовательности, кодирующей 5'UTR. Примеры растительного усилителя экспрессии описаны в WO2019/173924 и PCT/CA2019/050319 (обе включены в данный документ в качестве ссылки) или в Diamos A.G. et. al. (2016, *Front Plt Sci.* 7:1-15; который включен в данный документ в качестве ссылки). Усилитель экспрессии растительного происхождения также может быть выбран из nbMT78, nbATL75, nbDJ46, nbCHP79, nbEN42, atHSP69, atGRP62, atPK65, atRP46, nb30S72, nbGT61, nbPV55, nbPPI43,

nbPM64, nbH2A86, как описано в PCT/CA2019/050319 (который включен в данный документ в качестве ссылки), и nbEPI42, nbSNS46, nbCSY65, nbHEL40, nbSEP44, как описано в PCT/CA/2019/050319 (который включен в данный документ в качестве ссылки).

[0081] Усилитель экспрессии растительного происхождения можно использовать в системе экспрессии растения, содержащей регуляторную область, функционально связанную с последовательностью энхансера экспрессии растительного происхождения и интересующей нуклеотидной последовательностью.

[0082] Последовательности, которые усиливают экспрессию, могут также включать энхансерный элемент CPMV. Термин «энхансерный элемент CPMV», используемый в данном документе, относится к нуклеотидной последовательности, кодирующей 5'UTR, регулирующую полипептид РНК2 вируса мозаики коровьего гороха (CPMV), или к модифицированной последовательности CPMV, как известно в данной области. Например, энхансерный элемент CPMV или энхансер экспрессии CPMV включает нуклеотидную последовательность, как описано в WO 2015/14367; WO 2015/103704; WO 2007/135480; WO 2009/087391; Sainsbury F., и Lomonosoff G.P., (2008, Plant Physiol. 148: pp. 1212-1218), каждый из которых включен в данный документ в качестве ссылки. Последовательность энхансера CPMV может усиливать экспрессию расположенной ниже гетерологичной открытой рамки считывания (ORF), к которой они присоединены. Усилитель экспрессии CPMV может включать CPMV HT, CPMVX (где X=160, 155, 150, 114), например, CPMV 160, CPMVX+ (где X=160, 155, 150, 114), например, CPMV 160+, CPMV- HT+, CPMV HT+[WT115] или CPMV HT+ [511] (WO2015/143567; WO2015/103704, которые включены в данный документ в качестве ссылки). Усилитель экспрессии CPMV можно использовать в системе экспрессии растения, содержащей регуляторную область, функционально связанную с последовательностью энхансера экспрессии CPMV и интересующей нуклеотидной последовательностью.

[0083] Термин «5'UTR», или «5'-нетранслируемая область», или «5'-лидерная последовательность» относится к нетранслируемым областям мРНК. 5'UTR обычно начинается с сайта начала транскрипции и заканчивается непосредственно перед сайтом инициации трансляции или стартовым кодоном кодирующей области. 5'-UTR может модулировать стабильность и/или трансляцию транскрипта мРНК.

[0084] Под «оперативно связанными» подразумевается, что конкретные последовательности взаимодействуют прямо или косвенно для выполнения намеченной

функции, такой как посредничество или модулирование экспрессии последовательности нуклеиновой кислоты. Взаимодействие оперативно связанных последовательностей может, например, опосредоваться белками, которые взаимодействуют с оперативно связанными последовательностями.

[0085] Посттранскрипционный ген сайленсинга (PTGS) может быть вовлечен в ограничение экспрессии трансгенов в растениях, а коэкспрессия супрессора сайленсинга из вируса Y картофеля (HcPro) может использоваться для противодействия специфической деградации трансгенных мРНК (Brigneti et al., 1998). Альтернативные супрессоры сайленсинга хорошо известны в данной области и могут быть использованы, как описано в данном документе (Chiba et al., 2006, Virology 346:7-14; который включен в данный документ в качестве ссылки), например, но не ограничиваясь этим, TEV-p1/Hc-Pro (вирус травления табака-p1/Hc-Pro), BYV-p21, p19 вируса кустистости томата (TBSV p19), белок капсида вируса морщинистости томата (TCV-CP), 2b вируса мозаики огурца (CMV-2b), p25 вируса картофеля X (PVX-p25), p11 вируса картофеля M (PVM-p11), p11 вируса картофеля S (PVS-p11), p16 вируса ожога голубики (BScV -p16), p23 вируса Citrus tristexa (CTV-p23), p24 вируса-2, ассоциированного со скручиванием листьев виноградной лозы (GLRaV-2 p24), p10 вируса виноградной лозы A (GVA-p10), p14 вируса виноградной лозы B (GVB-p14), p10 латентного вируса Heracleum (HLV-p10) или p16 общего латентного вируса чеснока (GCLV-p16). Следовательно, супрессор сайленсинга, например, но не ограничиваясь этим, HcPro, TEV -p1/Hc-Pro, BYV-p21, TBSV p19, TCV-CP, CMV-2b, PVX-p25, PVM-p11, PVS-p11, BScV-p16, CTV-p23, GLRaV-2 p24, GBV-p14, HLV-p10, GCLV-p16 или GVA-p10, могут быть коэкспрессированы вместе с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей интересующий белок, для дополнительной гарантии высокий уровень продукции белка в растении.

[0086] Экспрессионные конструкции, как описано выше, могут присутствовать в векторе. Вектор может содержать пограничные последовательности, которые обеспечивают перенос и интеграцию кассеты экспрессии в геном организма или хозяина. Например, конструкт может представлять собой бинарный вектор растения, например, вектор бинарной трансформации на основе pPZP (Hajdukiewicz, et al., 1994). Другие примеры конструкций включают pBin19 (см. Frisch, D.A., L.W. Harris-Haller, et al. 1995, *Plant Molecular Biology* 27: 405-409).

[0087] Конструкты данного изобретения могут быть введены в растительные клетки с использованием Ti-плазмид, Ri-плазмид, растительных вирусных векторов, прямой трансформации ДНК, микроинъекции, электропорации и т. д. Обзоры таких методик см., например, в Weissbach and Weissbach, *Methods for Plant Molecular Biology*, Academy Press, New York VIII, pp. 421-463 (1988); Geier and Corey, *Plant Molecular Biology*, 2d Ed. (1988); and Miki and Iyer, Fundamentals of Gene Transfer in Plants. In *Plant Metabolism*, 2d Ed. DT. Dennis, DH Turpin, DD Lefebvre, DB Layzell (eds), Addison Wesley, Langmans Ltd. London, pp. 561-579 (1997). Другие способы включают прямое поглощение ДНК, использование липосом, электропорацию, например, с использованием протопластов, микроинъекцию, микроснаряды или висцеры и вакуумную инфльтрацию. См., например, Bilang, et al. (Gene 100: 247-250 (1991), Scheid et al. (Mol. Gen. Genet. 228: 104-112, 1991), Guerche et al. (Plant Science 52: 111-116, 1987), Neuhaus et al. (Theor. Appl Genet. 75: 30-36, 1987), Klein et al., Nature 327: 70-73 (1987); Howell et al. (Science 208: 1265, 1980), Horsch et al. (Science 227: 1229-1231, 1985), DeBlock et al., Plant Physiology 91: 694-701, 1989), Methods for Plant Molecular Biology (Weissbach and Weissbach, eds., Academic Press Inc., 1988), Methods in Plant Molecular Biology (Schuler and Zielinski, eds., Academic Press Inc., 1989), Liu and Lomonossoff (J. Virol Meth, 105:343-348, 2002,), патент США №№ 4945050; 5036006; и 5100792, заявка на патент США № 08/438666, поданная 10 мая 1995 г., и 07/951715, поданная 25 сентября 1992 г. (все из которых включены в данный документ в качестве ссылки).

[0088] Способы временной экспрессии могут быть использованы для экспрессии конструктов по данному изобретению (см. Liu and Lomonossoff, 2002, Journal of Virological Methods, 105:343-348; который включен в данный документ в качестве ссылки). Альтернативно, вакуумный способ транзientной экспрессии, описанный Kapila et al. 1997 (включенный в данный документ в качестве ссылки). Эти способы могут включать, например, но не ограничиваться ими, метод агроинокуляции или агроинфльтрации, однако, как указано выше, также могут быть использованы другие способы как указано выше. При агроинокуляции или агроинфльтрации смесь *Agrobacteria*, содержащих нужную нуклеиновую кислоту, проникает в межклеточное пространство ткани, например, листьев, надземной части растения (включая стебель, листья и цветок), другую часть растение (стебель, корень, цветок) или все растение. После пересечения эпидермиса *Agrobacterium* инфицируют и переносят в клетки копии т-ДНК. Т-ДНК транскрибируется эписомально, а мРНК транслируется, что приводит к продуцированию интересующего белка в инфицированных клетках, однако прохождение т-ДНК внутрь ядра является временным.

[0089] Термин «дикий тип», «нативный», «нативный белок» или «нативный домен», используемый в данном документе, относится к белку или домену, имеющему первичную аминокислотную последовательность, идентичную последовательности дикого типа. Нативные белки или домены могут кодироваться последовательностями нуклеотидов, имеющими 100% сходство последовательности с последовательностью дикого типа. Нативная аминокислотная последовательность может также кодироваться нуклеотидной последовательностью, оптимизированной для человеческого кодона (hCod), или нуклеотидной последовательностью, содержащей повышенное содержание GC по сравнению с нуклеотидной последовательностью дикого типа, при условии, что аминокислотная последовательность, кодируемая нуклеотидной последовательностью hCod, проявляет 100% идентичность последовательности с нативной аминокислотной последовательностью.

[0090] Под последовательностью нуклеотидов, которая является «оптимизированным кодоном человека», или последовательностью нуклеотидов «hCod» подразумевается выбор подходящих нуклеотидов ДНК для синтеза олигонуклеотидной последовательности или ее фрагмента, который приближается к использованию кодонов, обычно встречающемуся в олигонуклеотидной последовательности нуклеотидной последовательности человека. Под «повышенным содержанием GC» подразумевается выбор подходящих нуклеотидов ДНК для синтеза олигонуклеотидной последовательности или ее фрагмента, чтобы приблизиться к использованию кодонов, которое по сравнению с соответствующей нативной олигонуклеотидной последовательностью включает увеличение содержания GC, например, от около 1 до около 30% или любое количество между ними по длине кодирующей части олигонуклеотидной последовательности. Например, от около 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30% или любого количества между ними по длине участка кодирования олигонуклеотидной последовательности. Как описано ниже, нуклеотидная последовательность человека с оптимизированным кодоном или нуклеотидная последовательность, содержащая повышенный контакт с GC (по сравнению с нуклеотидной последовательностью дикого типа), проявляет повышенную экспрессию в растении, части растения или растительной клетке по сравнению с экспрессией нечеловеческой оптимизированной (или с более низким содержанием GC) нуклеотидной последовательности.

[0091] Под иммунным ответом или иммунологическим ответом подразумевается ответ, который вызывается после воздействия на субъекта чужеродным антигеном. Этот ответ обычно включает родственные и незнакомые взаимодействия между антигеном и

компонентами иммунной системы, что в конечном итоге приводит к активации иммунных компонентов и приводит к защитным реакциям, включая выработку антител против чужеродного антигена. Улучшение иммунного ответа может привести к более высоким титрам нейтрализующих антител (HAI и MN) и может включать увеличение авидности. Изменения иммунного ответа у субъекта после введения модифицированного НА со сниженным связыванием или без связывания с SA, как описано в данном документе, можно определить, например, с помощью ингибирования гемагглютинации (HAI, см. Пример 3.5), микронейтрализации (MN, см. Пример 3.5). и/или анализы авидности (см. Пример 3.5) и сравнение уровней, полученных у субъекта (первого субъекта), с уровнями, полученными у второго субъекта, которому вводили исходный НА в аналогичных условиях. Например, на улучшенный иммунный ответ может указывать увеличение титров HAI, титров MN и/или авидности у первого субъекта по сравнению с титрами HAI, титрами MN и/или авидностью у второго субъекта.

[0092] Таким образом, иммунный или иммунологический ответ может быть клеточным иммунологическим ответом, гуморальным иммунологическим ответом или как клеточным иммунологическим ответом, так и гуморальным иммунологическим ответом.

[0093] Клеточный или клеточно-опосредованный ответ представляет собой иммунный ответ, который не включает антитела, а скорее включает активацию фагоцитов, антиген-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов и высвобождение различных цитокинов в ответ на антиген. Гуморальный иммунный ответ опосредуется молекулами антител, секретируемыми плазматическими клетками.

[0094] Родственные взаимодействия, которые управляют В-клеточным или гуморальным ответом, включают распознавание конформационных или линейных эпитопов антигена наивными В-клетками через петли комплементарности В-клеточного рецептора зародышевой линии. Родственные взаимодействия, которые управляют Т-лимфоцитами или клеточным ответом, включают распознавание пептидов, представленных молекулами МНС на поверхности антигенпрезентирующих клеток. На молекулярном уровне родственные взаимодействия могут включать взаимодействия между рецепторами В- и Т-клеток и их антигенами/эпитопами. В более широком масштабе сложные взаимодействия между целыми Т- и В-клетками, которые реагируют на один и тот же антиген, также могут считаться родственными. Родственные взаимодействия можно определить с использованием любого способа, известного в данной области, например, но не ограничиваясь этим, путем анализа

титров HAI, титров MN, авидности. Взаимодействия эпитоп-антитело можно определить с использованием любого подходящего способа, известного в данной области, например, но не ограничиваясь ими, ELISA и Вестерн-блоттинг.

[0095] Неродственные взаимодействия потенциального антигена с иммунными клетками могут принимать различные формы. В используемом в данном документе значении связывание антигена, например, HA, с любым гликопротеином, экспрессируемым на поверхности иммунной клетки через остатки сиаловой кислоты (SA), можно рассматривать как неродственное взаимодействие. Таким образом, неродственное взаимодействие, используемое в данном документе, включает взаимодействие или связывание с сиаловой кислотой. Соответственно, уменьшение неродственного взаимодействия или связывания включает уменьшение взаимодействия или связывания с остатками SA. Неродственные взаимодействия можно определить, например, путем анализа гемагглютинации или с использованием поверхностного плазмонного резонанса (SPR), как описано в данном документе.

[0096] Под «мишенью» подразумевается клетка, клеточный рецептор, белок на поверхности клетки, белок клеточной поверхности, антитело или фрагмент антитела, которые способны взаимодействовать с антигеном. В одном примере мишенью может быть белок на поверхности клетки или белок клеточной поверхности.

[0097] Например, супраструктура, как описано в данном описании, может содержать модифицированный гемагглютинин гриппа (HA) с одним или более чем одним изменением, которое снижает взаимодействие модифицированного HA с сиаловой кислотой (SA) мишени, сохраняя при этом родственные взаимодействие с мишенью. Например, мишенью может быть белок на поверхности клетки. Соответственно, супраструктура может содержать модифицированный гемагглютинин гриппа (HA) с одним или более чем одним изменением, которое уменьшает взаимодействие модифицированного HA с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие с клеткой. Клетка может быть, например, В-клеткой.

[0098] В-клетки могут взаимодействовать с антигеном через сигналы рецептора посредством антигенной комплементарности, управляемой CDR (родственное взаимодействие), или посредством (неродственных) взаимодействий, обеспечиваемых, например, аффинностью антигена к SA, гликанам на HA, взаимодействующими с гликановыми рецепторами на поверхность иммунных клеток или другие неродственные

взаимодействия между НА и клеткой, например, взаимодействия с любым клеточным рецептором, содержащим SA, например, поверхностный белок В-клетки или поверхностный белок Т-клеточного рецептора. Наивные В-клетки могут распознавать конформацию антигена по петлям комплементарности рецептора В-клеток зародышевой линии и взаимодействовать с антигеном. Антитело или фрагмент антитела, содержащий комплементарный паратоп, может связываться с антигеном и рассматриваться как мишень. Рекомбинантная клетка, экспрессирующая антитело, содержащее соответствующий паратоп, также может связывать антиген и также может рассматриваться как мишень.

[0099] Под авидностью понимают меру общей стабильности комплекса антитело-антиген или силу, с которой антитело связывает антиген. Авидность определяется внутренней аффинностью антитела к эпитопу, валентностью антитела и антигена и геометрическим расположением или конформацией взаимодействующих компонентов. На созревании гуморального иммунного ответа у субъекта может указывать увеличение авидности антител с течением времени. Авидность можно определить с помощью анализов конкурентного ингибирования в диапазоне концентраций свободного антигена или путем элюирования антитела с антигена с использованием диссоциирующего агента, разрушающего гидрофобные связи, например, тиоцианата или мочевины.

[00100] В одном из аспектов данное изобретение обеспечивает супраструктуру, содержащую модифицированный гемагглютинин вируса гриппа (НА). Супраструктура может быть, например, вирусоподобной частицей (VLP). Например, VLP может представлять собой НА-VLP гриппа, где VLP содержит или состоит из модифицированного белка НА гриппа. Например, модифицированный НА вируса гриппа может представлять собой вирус гриппа типа А, такой как, например, НА из H1, H3, H5 или H7, или НА может происходить из вируса гриппа типа В, такого как, например, НА из линии В Yamagata или В Victoria. Модифицированный НА может содержать одно или более чем одно изменение. Например, НА может быть:

i) модифицированным H1 НА, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 203 (H1 A/California/7/09; «H1/California»);

ii) модифицированным H3 НА, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y98F, S136D; Y98F, S136N; Y98F, S137N; Y98F, D190G; Y98F, D190G; Y98F,

R222W; Y98F, S228N; Y98F, S228Q; S136D; S136N; D190K; S228N и S228Q; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 204 (H3 A/Kansas/14/17; «H3/Kansas»);

iii) модифицированным H5 HA, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 205 (H5 A/Indonesia/5/05; «H5/Indonesia»);

iv) модифицированным H7 HA, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y88F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 206 (H7 A/Shanghai/2/12; «H7/Shanghai»);

v) модифицированным B HA, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из S140A; S142A; G138A; L203A; D195G; и L203W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 207 (B/Phuket/3073/2013; «B/Phuket»);

vi) модифицированным B HA, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из S140A; S142A; G138A; L202A; D194G; и L202W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 208 (B/Maryland/15/16; «B Maryland»);

vii) модифицированным B HA, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из S140A; S142A; G138A; L201A; D193G; и L201W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 209 (B/Victoria/705/2018; «B/Victoria»); или

viii) их комбинацией.

[00101] Было обнаружено, что модифицированные белки HA гриппа, содержащие одно или более чем одно изменение, как раскрыто в данном документе, приводят к получению HA с улучшенными характеристиками по сравнению с белками HA дикого типа или немодифицированными белками HA. Примеры улучшенных характеристик модифицированного белка HA включают:

- уменьшение неродственного взаимодействия с сиаловой кислотой (SA) мишени при сохранении родственного взаимодействия с мишенью;

- уменьшение неродственного взаимодействия с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки при сохранении родственного взаимодействия с клеткой, такой, например, как В-клетка;

- модулирование и/или усиление иммунологического ответа у животного или субъекта в ответ на введение антигена по сравнению с иммунологическим ответом, при этом НА не содержит одно или более чем одно изменение;

- повышенный выход белка НА при экспрессии в растительных клетках по сравнению с НА дикого типа или немодифицированным НА того же штамма или подтипа гриппа, который не содержит одно или более чем одно изменение;

- сниженный титр гемагглютинации модифицированного белка НА по сравнению с белком НА дикого типа или немодифицированным.

[00102] Например, модифицированный НА может представлять собой модифицированный H1 НА, содержащий изменение Y91F, где модифицированный H1 может проявлять i) неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) мишени, например, белком на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие, с мишенью, например, клеткой, такой как В-клетка, и/или ii) где модифицированный НА демонстрирует пониженный титр гемагглютинации по сравнению с НА дикого типа или немодифицированным (исходным) НА и/или iii) где модифицированный H1 НА может модулировать и/или усиливать иммунологический ответ у животного или субъекта в ответ на введение антигена по сравнению с иммунологическим ответом, где НА не содержит одно или более чем одно изменение.

[00103] Кроме того, модифицированный НА может представлять собой модифицированный H3, содержащий изменения, выбранные из Y98F, S136D; Y98F, S136N; Y98F, S137N; Y98F, D190G; Y98F, D190K; Y98F, R222W; Y98F, S228N; и Y98F, S228Q; S136D; S136N; D190K; S228N; и S228Q, где модифицированный H3 может проявлять i) неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) мишени, например, белка на поверхности клетки, при сохранении родственного взаимодействия с мишенью, например, клеткой, такой как В-клетка, и/или ii) где модифицированный НА демонстрирует пониженный титр гемагглютинации по сравнению с НА дикого типа или немодифицированным (исходным) НА и/или iii) где модифицированный H3 НА может модулировать и/или усиливать иммунологический ответ в животное или субъект в ответ на

введение антигена по сравнению с иммунологическим ответом, где НА не содержит одно или более чем одно изменение.

[00104] Модифицированный НА может представлять собой модифицированный H7 НА, содержащий изменение Y88F, где модифицированный H7 проявляет i) неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) мишени, например, белком на поверхности клеткой, при сохранении родственного взаимодействия, с мишенью, например, клеткой, такой как В-клетка, и/или ii), где модифицированный НА демонстрирует пониженный титр гемагглютинации по сравнению с НА дикого типа или немодифицированным (исходным) НА, и/или iii) где модифицированный H7 НА может модулировать и/или усиливать иммунологический ответ у животного или субъекта в ответ на введение антигена по сравнению с иммунологическим ответом, при этом НА не содержит одно или более чем одно изменение.

[00105] В другом варианте реализации модифицированный НА может представлять собой модифицированный H5 НА, включающий изменение Y91F, где модифицированный H5 НА проявляет i) неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) мишени, например, белком на поверхности клетки при сохранении родственного взаимодействия с мишенью, например, клеткой, такой как В-клетка, и/или ii) где модифицированный НА демонстрирует пониженный титр гемагглютинации по сравнению с НА дикого типа или немодифицированным (исходным) НА и/или iii) где модифицированный H5 НА может модулировать и/или усиливать иммунологический ответ у животного или субъекта в ответ на введение антигена по сравнению с иммунологическим ответом, где НА не содержит одно или более чем одно изменение.

[00106] В дополнительном варианте реализации модифицированный НА может представлять собой модифицированный В НА, содержащий изменения, выбранные из S140A; S142A; G138A; L203A; D195G; и L203W, где модифицированный В НА может проявлять i) неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) мишени, например, белка на поверхности клетки, при сохранении родственного взаимодействия с мишенью, например, клеткой, такой как В-клетка, и/или ii) модуляцию и/или усиление иммунологического ответа у животного или субъекта в ответ на введение антигена по сравнению с иммунологическим ответом, где НА не содержит один или более чем одно изменение.

HA группа

[00107] Термин «подтип вируса гриппа», используемый в данном документе, относится к вариантам вируса гриппа А и гриппа В. Подтипы вируса гриппа и гемагглютинин (НА) из таких подтипов вируса могут обозначаться их номером Н, таким как, например, но не ограничиваясь этим, «НА подтипа Н1», «Н1 НА» или «Н1 гриппа». Термин «подтип» включает все отдельные «штаммы» внутри каждого подтипа, которые обычно возникают в результате мутаций и могут проявлять различные патогенные профили. Такие штаммы также могут называться различными «изолятами» вирусного подтипа. Соответственно, используемые в данном документе термины «штаммы» и «изоляты» могут использоваться взаимозаменяемо.

[00108] Грипп приводит к агглютинации эритроцитов (RBC или красных кровяных телец) за счет поливалентного связывания НА вируса гриппа с SA на клеточной поверхности. Многие штаммы гриппа могут быть серологически типированы с использованием эталонной антисыворотки, предотвращающей неспецифическую гемагглютинацию (т. е. с помощью анализа ингибирования гемагглютинации). Антитела, специфичные к конкретным штаммам гриппа, могут связываться с вирусом и, таким образом, предотвращать такую агглютинацию. Анализы, определяющие типы штаммов на основе такого ингибирования, обычно известны как анализы ингибирования гемагглютинина (анализы HI или анализы HAI) и являются стандартными и хорошо известными в данной области способами характеристики штаммов гриппа.

[00109] Белки гемагглютинина из разных штаммов вируса также демонстрируют значительное сходство последовательностей как на уровне нуклеиновой кислоты, так и на уровне аминокислот. Этот уровень сходства варьируется при сравнении штаммов разных подтипов, при этом некоторые штаммы демонстрируют более высокий уровень сходства, чем другие. Этой вариации достаточно, чтобы установить дискретные подтипы и эволюционное происхождение различных штаммов, но последовательности ДНК и аминокислот различных штаммов могут быть выровнены с использованием обычных методов биоинформатики (Air, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1981, 78:7643; Suzuki and Nei, Mol. Biol. Evol. 2002, 19:501).

[00110] Белок НА для применения, как описано в данном документе (т.е. для получения модифицированного белка НА гриппа, который проявляет свойство иметь сниженное, не поддающееся обнаружению или отсутствие родственного взаимодействия с SA, например, уменьшенное, не поддающееся обнаружению или не связывается с SA) может

происходить от гриппа типа А, подтипа гриппа типа А НА, выбранного из группы Н1, Н2, Н3, Н4, Н5, Н6, Н7, Н8, Н9, Н10, Н11, Н12, Н13, Н14, Н15, Н16, Н17 и Н18, гриппа типа В, подтипа гриппа типа В или гриппа типа С. НА может происходить от гриппа типа А, выбранного из группы Н1, Н2, Н3, Н5, Н6, Н7, Н9, и гриппа типа В (например, линии Yamagata или Victoria). Фрагменты НА, перечисленные выше, также могут считаться представляющим интерес белком НА для использования, как описано в данном документе, при условии, что при модификации модифицированный фрагмент НА проявляет сниженное, не поддающееся обнаружению или отсутствие неродственного взаимодействия с СА и что модифицированный фрагмент НА вызывает иммунный ответ. Кроме того, домены типа или подтипа НА, перечисленные выше, могут быть объединены для получения химерных НА (см., например, WO 2009/076778, которая включена в данный документ в качестве ссылки).

[00111] На основании сходства последовательностей подтипы вируса гриппа можно дополнительно классифицировать по их филогенетической группе. Филогенетический анализ (Fouchier et al., J Virol. 2005 Mar; 79(5):2814-22) продемонстрировал подразделение НА, который делится на две основные группы (Air, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1981, 78:7643): подтипы Н1, Н2, Н5 и Н9 в филогенетической группе 1 и подтипы Н3, Н4 и Н7 в филогенетической группе 2.

[00112] Неограничивающие примеры подтипов, содержащих белки НА, которые можно использовать, как описано в данном документе (например, для получения модифицированного белка НА гриппа, который может демонстрировать модулированный или усиленный иммунологический ответ у субъекта и/или может демонстрировать свойство снижения, не поддающееся обнаружению или не связанное с СА взаимодействие) включают A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/California/07/09-H1N1 (A/Cal09-H1), A/California/04/2009 (H1N1), A/PuertoRico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09-подобный вирус, A/Solomon Islands 3/2006 (H1N1), A/Idaho/7/18 (H1N1), H1 A/Hawaii/70/19, A/Hawaii/70/2019 (H1N1)pdm09-подобный вирус, A/chicken/New York/1995, A/Singapore/1/57 (H2N2), A/herring gull/DE/677/88 (H2N8), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/ Switzerland/9715293/2013-H3N2 (A/Swi-H3), A/Victoria/361/2011 (H3N2), A/Perth/16/2009 (H3N2), A/Kansas/14/17 (H3N2), A/Kansas/14/2017 (H3N2)-подобный вирус, A/Minnesota/41/19 (H3N2), A/Hong Kong/45/2019 (H3N2)-подобный вирус, A/shoveler/Iran/G54/03, A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Indonesia/5/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Egypt/NO4915/14 (H5N1), A/Teal/HongKong/W312/97 (H6N1), A/Equine/Prague/56 (H7N7), H7 A/Hangzhou/1/13 (H7N9),

A/Anhui/1/2013 (H7N9), A/Shanghai/2/2013 (H7N9), A/HongKong/1073/99 (H9N2), A/Texas/32/2003, A/mallard/MN/33/00, A/duck/Shanghai/1/2000, A/northern pintail/TX/828189/02, A/Turkey/Ontario/6118/68(H8N4), A/chicken/Germany/N/1949(H10N7), A/duck/England/56(H11N6), A/duck/Alberta/60/76(H12N5), A/Gull/Maryland/704/77(H13N6), A/Mallard/Gurjev/263/82, A/duck/Australia/341/83 (H15N8), A/black-headed gull/Sweden/5/99(H16N3), B/Brisbane/60/2008, B/Malaysia/2506/2004, B/Florida/4/2006, B/Phuket/3073/2013 (линия В/; Yamagata), B/Phuket/3073/2013-подобный вирус (линия В/Yamagata/16/88), B/Phuket/3073/2013 (линия В/Yamagata)-подобный вирус, B/Massachusetts/2/12, B/Wisconsin/1/2010, B/Lee/40, C/Johannesburg/66, B/Singapore/INFKK-16-0569/16 (линия Yamagata), B/Maryland/15/16 (линия Victoria), B/Victoria/705/18 (линия Victoria), B/Washington/12/19 (линия Victoria), B/Washington/02/2019 (линия В/Victoria)-подобный вирус, B/Darwin/8/19 (линия Victoria), B/Darwin/20/19 (линия Victoria), B/Colorado/06/2017-подобный вирус (линия В/Victoria/2/87).

[00113] Белок НА для применения, как описано в данном документе (например, для получения модифицированного белка НА гриппа, который может демонстрировать модулированный или повышенный иммунологический ответ у субъекта и/или может демонстрировать свойство снижения, неопределяемости или отсутствия неродственного взаимодействия с SA) может быть подтипом гриппа А Н1, Н2, Н3, Н5, Н6, Н7, Н8, Н9, Н10, Н11, Н12, Н15 или Н16, или грипп может быть гриппом В. Например, белок Н1 может быть получен из A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/PuertoRico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09-подобный вирус, A/Solomon Islands 3/2006 (H1N1), A/Idaho/7/18 (H1N1), H1 A/Hawaii/70/19, /Hawaii/70/2019 (H1N1)pdm09-подобный вирус, A/California/04/2009 (H1N1) или A/California/07/2009 (H1N1) штамма. В дополнительном аспекте изобретения, Н2 белок может быть из штамма A/Singapore/1/57 (H2N2). Н3 белок может быть из A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Switzerland/9715293/2013-H3N2 (A/Swi-H3), A/Victoria/361/2011 (H3N2), A/Texas/50/2012 (H3N2), A/Kansas/14/17 (H3N2), A/Kansas/14/2017 (H3N2)-подобного вируса, A/Hawaii/22/2012 (H3N2), A/New York/39/2012 (H3N2), A/Perth/16/2009 (H3N2) штамма, A/Hong Kong/45/2019 (H3N2) подобного вируса или A/Minnesota/41/19 (H3N2). Н5 белок может быть из штамма A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Egypt/NO4915/14 (H5N1) или A/Indonesia/5/2005. В аспекте изобретения, Н6 белок может быть из штамма A/Teal/HongKong/W312/97 (H6N1). Н7 может быть из штамма A/Equine/Prague/56 (H7N7), или Н7 A/Hangzhou/1/2013, A/Anhui/1/2013

(H7N9), или штамма A/Shanghai/2/2013 (H7N9). H8, H9, H10, H11, H12, H15 или H16 белок может быть из штамма A/Turkey/Ontario/6118/68(H8N4), A/HongKong/1073/99 (H9N2), A/chicken/Germany/N/1949(H10N7), A/duck/England/56(H11N6), A/duck/Alberta/60/76(H12N5), A/duck/Australia/341/83 (H15N8), A/black-headed gull/Sweden/5/99(H16N3). HA белок для применения, как описано в данном документе, могут происходить из вируса гриппа типа B, включая B/Malaysia/2506/2004, B/Florida/4/2006, B/Brisbane/60/08, B/Massachusetts/2/2012 – подобный вирус (линия Yamagata), или B/Wisconsin/1/2010 (линия Yamagata), B/Phuket/3073/2013-подобный вирус (линия B/Yamagata/16/88), B/Phuket/3073/2013 (линия B/Yamagata)-подобный вирус, B/Lee/40, B/Singapore/INFKK-16-0569/16 (линия Yamagata), B/Maryland/15/16 (линия Victoria), B/Victoria/705/18 (линия Victoria), B/Washington/12/19 (линия Victoria), B/Washington/02/2019 (линия B/Victoria)-подобный вирус, B/Darwin/8/19 (линия Victoria), B/Darwin/20/19 (линия Victoria), B/Colorado/06/2017-подобный вирус (линия B/Victoria/2/87). Неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей HA белков из подтипов H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 или B включают последовательности описанные в WO 2009/009876, WO 2009/076778, WO 2010/003225, PCT/CA2019/050891, PCT/CA2019/050892, PCT/CA2019/050893 (которые включены в данный документ посредством ссылки).

[00114] Белки HA (исходные HA), которые могут быть модифицированы, как описано в данном документе, для уменьшения или устранения неродственного взаимодействия с SA, например, с уменьшенным или не связывают SA, могут включать белки HA дикого типа, включая новые белки HA, которые появляются со временем из-за естественных модификаций аминокислотной последовательности HA или ненативных белков HA, которые могут быть получены в результате изменения белков HA (например, химерных белков HA или белков HA, которые были изменены для достижения желаемого свойства), например, увеличение экспрессии внутри хоста). Аналогичным образом, модифицированные белки HA, как описано в данном документе, для уменьшения или устранения связывания SA, могут быть получены из белков HA дикого типа, новых белков HA, которые появляются с течением времени благодаря естественным модификациям аминокислотной последовательности HA, немодифицированных белков HA, ненативные белки HA, например, химерные белки HA или белки HA, которые были изменены для достижения желаемого свойства, например увеличения экспрессии HA или VLP в организме хозяина.

[00115] Под «исходным HA» подразумевается белок HA, из которого может быть получен модифицированный белок HA. Исходный HA не содержит модификаций, которые

уменьшают или устраняют неродственные взаимодействия с SA, например, уменьшают или не связывают SA. Предпочтительно исходный белок HA проявляет антигенные свойства, сходные со свойствами соответствующего нативного штамма или штамма гриппа дикого типа, включая связывание с SA на клетках-хозяевах. Исходный HA может содержать HA дикого типа или нативную, однако исходный HA может содержать измененную аминокислотную последовательность при условии, что изменение в последовательности функционально отделено от модификации, которая уменьшает или устраняет неродственные взаимодействия с SA, или уменьшает или устраняет связывание SA. Предпочтительно исходный HA проявляет сходные родственные взаимодействия, наблюдаемые с соответствующим HA нативного или дикого типа, и имеет конформацию, которая вызывает аналогичный иммунный ответ, наблюдаемый с соответствующим HA нативного или дикого типа, когда немодифицированный HA вводится в субъект. Исходный HA также может называться немодифицированным HA.

[00116] HA для применения, как описано в данном документе (т.е. модифицированный белок HA гриппа, проявляющий свойство сниженного, не поддающегося обнаружению или отсутствия неродственного взаимодействия с SA), также может быть получен из исходного HA, который не является нативным и включает одно или более чем одно изменение аминокислотной последовательности, которые приводят к повышенной экспрессии в организме хозяина, например, делецию протеолитической петли в молекуле HA, как описано в WO 2014/153674 (которая включена в данный документ в качестве ссылки), или включающую другие замены или изменения, как описано в WO2020/00099, WO2020/000100, WO2020/000101 (каждая из которых включена в данный документ в качестве ссылки). HA для применения, как описано в данном документе, также может быть получен из ненативной (исходной) HA, содержащей одно или более чем одно изменение аминокислотной последовательности, которые приводят к измененному характеру гликозилирования экспрессируемого белка HA, например, как описано в WO2010/ 006452, WO2014/071039 и WO2018/058256 (каждая из которых включена в данный документ в качестве ссылки).

[00117] Модифицированный HA, проявляющий свойство сниженного, не поддающегося обнаружению или отсутствия неродственного взаимодействия с SA, например, сниженного или отсутствующего связывания SA, также может быть получен из исходной HA, которая представляет собой химерную HA, где нативный трансмембранный домен HA заменен гетерологичным трансмембранным доменом. Трансмембранный домен

белков НА является высококонсервативным (см., например, Фиг. 1С в WO 2010/148511, которая включена в данный документ в качестве ссылки). Гетерологичный трансмембранный домен может быть получен из любого трансмембранного домена НА, например, но не ограничиваясь этим, трансмембранный домен из H1 California, B/Florida/4/2006 (Номер доступа GenBank № ACA33493.1), B/Malaysia/2506/2004 (Номер доступа GenBank № ABU99194.1), H1/Bri (Номер доступа GenBank № ADE28750.1), H1 A/Solomon Islands/3/2006 (Номер доступа GenBank № ABU99109.1), H1/NC (Номер доступа GenBank № AAP34324.1), H2 A/Singapore/1/1957 (Номер доступа GenBank № AAA64366.1), H3 A/Brisbane/10/2007 (Номер доступа GenBank № ACI26318.1), H3 A/Wisconsin/67/2005 (Номер доступа GenBank № ABO37599.1), H5 A/Anhui/1/2005 (Номер доступа GenBank № ABD28180.1), H5 A/Vietnam/1194/2004 (Номер доступа GenBank № ACR48874.1) или H5-Indo (Номер доступа GenBank № ABW06108.1). Трансмембранный домен также может быть определен следующей согласованной аминокислотной последовательностью:

iLXiYystvAiSslXlXXmlagXsXwmcs (SEQ ID NO: 110)

[00118] Другие химерные, исходные НА также могут быть использованы, как описано в данном документе, например, химерный НА, содержащий последовательно эктодомен из тримерного поверхностного белка вируса или его фрагмент, слитый с трансмембранным доменом вируса гриппа и цитоплазматическим хвостом, как описано в WO 2012/083445 (которая включена в данное описание в качестве ссылки).

[00119] Таким образом, исходный белок НА, который может быть модифицирован, как описано в данном документе, для получения модифицированного НА, демонстрирующего снижение или устранение неродственного взаимодействия с SA, например, сниженное связывание SA или его отсутствие, может иметь от около 80 до около 100%, или любую величину между ними, идентичности аминокислотной последовательности, около 90-100% или любую величину между ними, идентичности аминокислотной последовательности или около 95-100% или любую величину между ними, идентичности аминокислотной последовательности, дикому типу или немодифицированному белку НА, полученному из штамма гриппа, включая штаммы гриппа, перечисленные в данном документе, при условии, что исходный белок НА индуцирует иммунитет к гриппу у субъекта, когда исходный белок НА вводят субъекту. Например, исходный белок НА, который можно модифицировать, как описано в данном документе, для уменьшения или устранения связывания SA, может иметь 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100% или любую

величину между ними, идентичности аминокислотной последовательности (сходство последовательности; процент идентичности; процент сходства) с белком НА дикого типа или немодифицированным белком НА, полученным из любого штамма гриппа, включая штаммы гриппа, перечисленные в данном документе, при условии, что исходный белок НА индуцирует иммунитет к гриппу у субъекта, когда субъекту вводят белок НА.

[00120] Например, предлагается модифицированный белок гемагглютинина гриппа (НА), содержащий аминокислотную последовательность, имеющую от около 70% до около 100% или любую величину между ними, например, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или любую величину между ними, идентичности последовательности или сходство последовательности с последовательностью последовательностей SEQ ID NO: 203 (пример последовательности H1), SEQ ID NO: 204 (пример последовательности H3), SEQ ID NO: 205 (пример последовательности H5), SEQ ID NO: 206 (пример последовательности H7), SEQ ID NO: 207 (пример последовательности B), SEQ ID NO: 208 (пример последовательности B) и SEQ ID NO: 209 (пример последовательности B), при условии, что белок НА вируса гриппа содержит по меньшей мере одну замену или изменение, как описано в данном документе, и способен образовывать VLP, снижать неродственное взаимодействие с белком на поверхности клетки, индуцирует иммунный ответ при введении субъекту или их комбинацию.

[00121] Кроме того, предусмотрено, что модифицированный белок гемагглютинина гриппа (НА) может содержать аминокислотную последовательность, имеющую от около 70% до около 100% или любую величину между ними, идентичности последовательности или сходство последовательности или любую величину между ними, например, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или любую величину между ними идентичности последовательностей или сходства последовательностей, с аминокислотами от 25 до 573 [H1] из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:195 или SEQ ID NO:197; с аминокислотами с 25 по 574 [H3] SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:112, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:120 или SEQ ID NO:122; с аминокислотами с 25 по 576 [H5] SEQ ID NO:199 или SEQ ID NO:202; с аминокислотами с 1 по 551 [H5 A/Egypt/NO4915/14] SEQ ID NO:108; с аминокислотами с 25 по 566 [H7] SEQ ID NO:21 или SEQ ID NO:26; с аминокислотами с 1 по 542 [H7 A/Hangzhou/1/13] SEQ ID NO:109; с аминокислотами с 25 по 576 [B] SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO: 53,

SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:130, SEQ ID NO:132, SEQ ID NO:134 или SEQ ID NO:136; с аминокислотами с 25 по 575 [B] SEQ ID NO:138, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:143, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:147, SEQ ID NO:149 или SEQ ID NO:151; с аминокислотами с 25 по 574 [B] SEQ ID NO:153, SEQ ID NO:155, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:191 или SEQ ID NO:193; с аминокислотами с 1 по 569 [B] SEQ ID NO:14; с аминокислотами с 1 по 568 [B] SEQ ID NO:15; или с аминокислотами с 1 по 567 [B] SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:19, при условии, что модифицированный белок НА вируса гриппа содержит по меньшей мере одну замену или изменение как описано в данном документе, и способен образовывать VLP, уменьшать неродственное взаимодействие с белком на поверхности клетки, индуцировать иммунный ответ при введении субъекту или их комбинацию.

[00122] Кроме того, предусмотрено, что модифицированный белок гемагглютинаина гриппа (НА) может содержать аминокислотную последовательность, имеющую от около 70% до около 100% или любую величину между ними, идентичность последовательности или сходство последовательностей или любую величину между ними, например, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или любую величину между ними, идентичность последовательности или сходство последовательности с аминокислотами SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:197; SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO: NO:93, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:112, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:122, SEQ ID NO: 199 или SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:108, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:26; SEQ ID NO:109; SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO: NO:126, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:130, SEQ ID NO:132, SEQ ID NO:134 или SEQ ID NO:136; SEQ ID NO:138, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:143, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:147, SEQ ID NO:149 или SEQ ID NO:151, SEQ ID NO:153, SEQ ID NO: NO:155, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:193; SEQ ID NO:14; SEQ ID NO:15; SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:19, при условии, что модифицированный белок НА вируса гриппа содержит по меньшей мере одну замену или изменение, как описано в данном документе, и

способен образовывать VLP, снижать неродственное взаимодействие с белком на поверхности клетки, индуцировать иммунный ответ при введении субъекту или их комбинацию.

[00123] Известно, что белки гемагглютинаина агрегируют с образованием димеров, тримеров, мультимерных комплексов или более крупных структур, например, розеток НА, белковых комплексов, содержащих множество белков НА, мультимерных комплексов НА, содержащих множество белков НА, метапротеиновых комплексов НА, содержащих множество белков НА, наночастиц, содержащие множество белков НА, или VLP, содержащих НА. Такие агрегаты белков НА в совокупности называются «супраструктурами». Если не указано иное, термины «мультимерный комплекс», «VLP», «наночастицы» и «метапротеины» могут использоваться взаимозаменяемо, и они являются примерами супраструктур, содержащих НА. Любая форма и количество белков НА из димеров, тримеров, розеток, мультимерных комплексов, комплексов метапротеинов, наночастиц, VLP или других супраструктур, содержащих НА, можно использовать для получения иммуногенных композиций и применять, как описано в данном документе.

[00124] Термины «процентное сходство», «сходство последовательностей», «процентная идентичность» или «идентичность последовательностей» применительно к конкретной последовательности используются, например, как изложено в программе GCG Университета Висконсина, или путем ручного выравнивания и визуального осмотра (см., например, Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds. 1995, дополнение). Способы выравнивания последовательностей для сравнения хорошо известны в данной области. Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения может быть проведено с использованием, например, алгоритма Смиита и Уотермана (1981, Adv. Appl. Math. 2:482), алгоритма выравнивания Нидлмана и Вунша (1970, J. Mol. Biol. 48:443), методом поиска сходства Пирсона и Липмана (1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444), компьютерными реализациями этих алгоритмов (например: GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в программном пакете Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, Wis.).

[00125] Примером алгоритма, подходящего для определения процентной идентичности последовательностей и сходства последовательностей, являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в Altschul et al., (1977, Nuc. Acids Res. 25:3389-3402) и Altschul et al., (1990, J. Mol. Biol. 215:403-410), соответственно. BLAST и BLAST 2.0

используются с описанными в данном документе параметрами для определения процентной идентичности последовательностей нуклеиновых кислот и аминокислот изобретения. Например, программа BLASTN (для нуклеотидных последовательностей) может использовать по умолчанию длину слова (W), равную 11, ожидание (E), равное 10, M=5, N=-4 и сравнение обеих цепочек. Для аминокислотных последовательностей программа BLASTP может использовать по умолчанию длину слова 3, ожидание (E) 10 и оценочную матрицу BLOSUM62 (см. Henikoff & Henikoff, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915) выравнивание (B) из 50, ожидание (E) из 10, M=5, N=-4 и сравнение обеих цепочек. Программное обеспечение для проведения анализов BLAST общедоступно через Национальный центр биотехнологической информации (см. URL: ncbi.nlm.nih.gov/).

Модифицированный белок HA

[00126] Нуклеотидная последовательность (или нуклеиновая кислота), представляющая интерес, кодирует модифицированный белок HA гриппа (также называемый модифицированным белком HA, модифицированным HA, модифицированным HA гриппа), как описано в данном документе, если модифицированный белок HA проявляет свойство сниженного, не поддающегося обнаружению или отсутствия неродственного взаимодействия с SA, например, имеющий свойство сниженного, не поддающегося обнаружению или отсутствия неродственного взаимодействия с SA. Аналогичным образом, интересующий белок, как описано в данном документе, представляет собой модифицированный белок HA гриппа, если интересующий белок проявляет свойство сниженного, не поддающегося обнаружению или отсутствия родственного взаимодействия с SA, например, имеет уменьшенное, не поддающееся обнаружению или отсутствия неродственного взаимодействия с SA. Предпочтительно, модифицированный HA содержит конформацию, которая вызывает улучшенный иммунный ответ по сравнению с иммунным ответом, наблюдаемым при использовании соответствующего исходного HA, и модификация, которая приводит к уменьшению или неопределяемому неродственному взаимодействию с SA, не изменяет родственные взаимодействия модифицированного белка HA с мишенью (например, с мишенями, опосредованными В-клеточным рецептором), по сравнению с исходным белком HA и той же мишенью(ями). Модификация, которая приводит к уменьшению или неопределяемому неродственному взаимодействию с SA, не изменяет распознавание модифицированного HA антителами или антиген-специфическими иммунными клетками

(т.е. В-клетками и Т-клетками), например, мононуклеарными клетками периферической крови (РВМС) или В-клетками, экспрессирующие антитело против НА после вакцинации НА, или другие клетки, например, трансфицированная клетка, экспрессирующая связанный с мембраной IgM-НА. Модификация, уменьшающая неродственные взаимодействия между НА и SA, может включать замену, удаление или добавление одного или нескольких аминокислотных остатков в сайте связывания рецептора НА или изменение паттерна гликозилирования в месте связывания рецептора НА или рядом с ним, тем самым стерически препятствуя неродственным взаимодействиям между НА и SA.

[00127] Аминокислоты, которые могут быть заменены в представляющей интерес НА для снижения или устранения связывания SA, могут быть определены путем выравнивания последовательности аминокислотной последовательности эталонной НА с представляющей интерес НА и определения положения соответствующей(их) аминокислот(ы). (см. Фиг. 1А для выравнивания аминокислот Н1, Н3, Н5, Н7 НА и Фиг. 1В для выравнивания В НА). Как будет понятно специалисту в данной области, НА, полученные из разных штаммов, могут содержать неодинаковое количество аминокислот, и относительное положение расположения аминокислот в эталонной последовательности НА может не совпадать с положением интересующей НА. Неограничивающие примеры аминокислотных остатков НА, которые могут быть заменены для получения НА с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или отсутствием родственного взаимодействия с SA, представлены в Таблице 1.

Таблица 1: аминокислотные остатки, которые могут быть заменены для получения модифицированного гемагглютиниона гриппа (НА)

Штамм НА	№ Аминокислоты исходного штамма (исходный штамм)	Относительно № эталонной аминокислоты (эталонный штамм)
A/H1	91 (H1)	98 (H3); 88 (H7)
A/H3	98 (H3)	91 (H1); 88 (H7)
A/H5	91 (H5)	98 (H3); 88 (H7)
A/H7	88 (H7)	91 (H1); 98 (H3)
B	138 (B/Phuket, B/Maryland, B/Victoria)	138 (B/Phuket, B/Maryland, B/Victoria)
B	140 (B/Phuket, B/Maryland, B/Victoria)	140 (B/Phuket, B/Maryland, B/Victoria)
B	142 (B/Phuket, B/Maryland,	142 (B/Phuket, B/Maryland,

	B/Victoria)	B/Victoria)
B	195 (B/Phuket)	194 (B/Maryland) 193 (B/Victoria)
B	194 (B/Maryland)	193 (B/Victoria) 195 (B/Phuket)
B	193 (B/Victoria)	194 (B/Maryland) 195 (B/Phuket)
B	203 (B/Phuket)	202 (B/Maryland) 201 (B/Victoria)
	202 (B/Maryland)	203 (B/Phuket) 201 (B/Victoria)
	201 (B/Victoria)	202 (B/Maryland) 203 (B/Phuket)

Номера аминокислотных остатков соответствуют репрезентативным

последовательностям НА для каждого штамма со следующими последовательностями:

H1 (SEQ ID NO: 203), H3 (SEQ ID NO: 204), H5 (SEQ ID NO: 205), H7 (SEQ ID NO: 206)
B/Phuket (SEQ ID NO: 207), B/Maryland (SEQ ID NO: 208), B/Victoria (SEQ ID NO: 209).

[00128] Как показано выше, остатки 194 и 202 в эталонном штамме с SEQ ID NO: 208 (B/Maryland) и остатки 193 и 201 в эталонном штамме с SEQ ID NO 209 (B/Victoria) соответствуют остаткам 195 и 203 в эталонном штамме SEQ ID NO: 207 (B/Phuket).

[00129] Свойство неродственного взаимодействия с SA, связывание SA (или аффинность связывания SA), между НА дикого типа (или немодифицированным) НА и модифицированным НА, с клеткой крови, трансфицированной клеткой, экспрессирующей мембраносвязанный IgM НА, антитело, пептид, содержащий SA, или связывание с мишенью, содержащей концевой α -2,3-связанный (птичий) или α -2,6-связанный (человеческий) SA, и родственные взаимодействия между диким типом (или не- модифицированным НА и модифицированным НА и клетки крови или антителом могут быть определены с использованием одного или нескольких анализов, известных в данной области. Неограничивающие примеры анализов или комбинаций анализов, которые можно использовать, описаны в Hendin H., et. al. (Hendin H., et. al., 2017, Vaccine 35:2592-2599; которая включена в данный документ в качестве ссылки), Whittle J., et. al. (Whittle J., et. al., 2014, J. Virol. 88:4047-4057; которая включена в данный документ в качестве ссылки), Lingwood, D., et. al., (Lingwood, D., et. al., 2012 Nature 489:566-570 (которая включена в

данный документ в качестве ссылки), Villar, R., et. al., (Villar, R., et. al., 2016, Scientific Reports (Nature) 6:36298), и может включать использование проточной цитометрии (см. Пример 3.7), использование НА дикого типа (или немодифицированного) и модифицированного НА с уменьшенным, необнаруживаемым или отсутствующим неродственным взаимодействием с SA, для контроля проб и трансфицированных клеток, экспрессирующих связанную с мембраной НА. Анализ поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (см. Пример 3.3) и/или анализы гемагглютинации (пример 3.1), микроскопия или визуализация (для определения НА-SA связывание) в сочетании с вестерн-блот-анализом (для определения выхода НА) и/или ELISA, также можно использовать для определения степени взаимодействия НА-SA и распознавания НА-эпитопов (пример родственного взаимодействия), которые проявляет белковый кандидат НА.

[00130] Под модифицированным НА, имеющим «уменьшенное, не поддающееся обнаружению или отсутствие неродственного взаимодействия с SA» или «уменьшенное, не поддающееся обнаружению или отсутствие связывания с SA», подразумевается, что неродственное взаимодействие, например связывание модифицированного НА с SA снижено, снижено до неопределяемого уровня или устранено по сравнению с неродственным взаимодействием, например, связыванием соответствующей исходной НА, которое не включает модификацию, приводящую к уменьшению, не поддающееся обнаружению или отсутствие неродственного взаимодействия с SA. Исходный НА может включать, например, НА гриппа дикого типа, НА, содержащий измененную последовательность, но изменение не связано с неродственным взаимодействием с SA, например, связыванием с НА (т.е. немодифицированный НА) супраструктурой, содержащей исходный НА, например, VLP. Модифицированный НА, имеющий сниженное, неопределяемое или неродственное взаимодействие с SA, может демонстрировать от около 60 до около 100% или любую величину между ними связывания с SA по сравнению со связыванием соответствующего исходного НА, который не содержит модификацию, которая изменяет связывание SA, с SA. Это также может быть переформулировано как модифицированный НА, имеющая от около 0 до около 40% или любую величину между ними аффинности связывания с SA по сравнению со аффинностью связывания соответствующего исходного НА, которая не включает модификацию, с SA.

[00131] Например, изменение, которое снижает связывание модифицированного НА с SA, может снижать связывание модифицированного НА от около 70 до около 100% или на любую величину между ними, от около 80 до около 100%, или на любую величину между

ними, или от около 90 до около 100%, или любую величину между ними, по сравнению со связыванием соответствующей исходной НА с SA. Например, изменение может уменьшить связывание модифицированного НА с SA примерно на 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98 или 100% или любую величину между ними по сравнению со связыванием соответствующей исходной НА с SA. Альтернативно, изменение, которое снижает связывание модифицированного НА с SA, может проявлять от около 0 до около 30% или любую величину между ними аффинности связывания соответствующего исходного НА с SA, или от около 0 до около 20%, или любую величину между ними, аффинности связывания соответствующего НА дикого типа (или немодифицированного) с SA, или от 0 до 10%, или любую величину между ними аффинности связывания соответствующего исходного НА. Например, около от 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 или около 30% или любая величина между ними аффинности связывания соответствующего исходного НА с SA.

[00132] Модифицированный НА когнитивно взаимодействует с мишенью, когда около от 80 до 100% или любое количество модифицированного НА связывается с мишенью, такой как, например, клетка крови, В-клетка или другая мишень, при этом также проявляя свойство сниженного или необнаруживаемого связывания с SA. Кроме того, модифицированный НА проявляет родственное взаимодействие с мишенью, если от около 85 до около 100 % или любое количество модифицированного НА связывается с мишенью, около от 90 до 100 %, или любое количество модифицированного НА связывается с мишенью, от около 95 до 100% или любое количество модифицированного НА, связывается с мишенью, или около 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98 или 100%, или любая величина между ними модифицированного НА связывается с мишенью, а также демонстрирует сниженное или неподдающееся обнаружению связывание SA. Родственное взаимодействие между модифицированным НА или исходным НА и мишенью можно определить, например, путем определения авидности между модифицированным НА или исходным НА и мишенью.

[00133] Модифицированная последовательность НА, нуклеиновая кислота или белок гриппа может быть получена из соответствующей последовательности НА дикого типа, немодифицированного или измененного НА, нуклеиновой кислоты или белка любого штамма гриппа, например, штамма гриппа, полученного из группы H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17 и H18 или вируса гриппа типа В.

[00134] Модифицированные белки НА гриппа, которые приводят к уменьшенному, не поддающемуся обнаружению или отсутствию неродственного взаимодействия с SA, и способы получения модифицированных белков НА гриппа в подходящем хозяине, например, но не ограничиваясь этим, в растении, описаны в данном документе.

[00135] Было обнаружено, что модифицированные белки НА гриппа, описанные в данном документе, которые приводят к уменьшению или полному отсутствию неродственного взаимодействия с SA, приводят к улучшению характеристик НА, например, использование модифицированного белка НА, супраструктуры или VLP, содержащих модифицированный белок НА в качестве противогриппозной вакцины, которая проявляет повышенную иммуногенность и эффективность по сравнению с иммуногенностью и эффективностью противогриппозной вакцины, содержащей соответствующий исходный (немодифицированный или дикий тип) противогриппозный НА, супраструктуру или VLP, содержащие исходный белок НА. Изменение в модифицированного НА снижает связывание модифицированного НА с SA, может быть результатом замены, делеции или вставки одной или нескольких аминокислот в последовательность НА, или может быть результатом химической модификации НА. Белок НА, например, путем изменения характера гликозилирования НА или путем удаления одного или более чем одного сайта гликозилирования НА.

[00136] Модифицированные белки НА гриппа, супраструктуры, содержащие модифицированные НА, наночастицы, содержащие НА, супраструктуры или VLP, содержащие модифицированные белки, и способы получения модифицированных белков НА, супраструктур или VLP, в подходящем хозяине, например, но не ограничиваясь ими, в растениях, также описаны в данном документе.

[00137] Супраструктуры, содержащие модифицированные НА, наночастицы, содержащие модифицированные НА, или VLP, содержащие модифицированные НА со сниженным, не поддающимся обнаружению или с отсутствующим неродственным взаимодействием с SA, например, с уменьшенным или отсутствующим связыванием с SA, демонстрируют улучшенные характеристики по сравнению с соответствующими супраструктурами, наночастицами или VLP, содержащими белок НА дикого типа (или немодифицированный белок НА, который проявляет связывание SA дикого типа). Например, использование модифицированного белка НА, супраструктуры, содержащей модифицированный НА, наночастиц, содержащих модифицированный НА, или VLP,

содержащих модифицированный белок НА, в качестве противогриппозной вакцины показало повышенную иммуногенность и эффективность по сравнению с иммуногенностью и эффективностью противогриппозной вакцины, содержащей соответствующие исходный НА гриппа или VLP, содержащие исходный белок НА. Например, сравнение связывающей исходной (дикого типа/немодифицированной) H1-VLP с модифицированной (несвязывающей) H1-VLP (Y91F-H1 НА) у мышей показало, что VLP, содержащая модифицированный H1 НА, вызывает более высокие титры нейтрализующего антитела (HAI и MN; см. Фиг. 7А, Пример 4.2), более высокие титры и авидность IgG (Фиг. 7С и 7Е; Пример 4.2) и увеличение количества долгоживущих клеток, секретирующих антитела (АСК) в костном мозге (Фиг. 8А-8С, Пример 4.2). После вакцинации с использованием VLP, содержащей модифицированный НА (Y91F-НА), наблюдалось улучшение активации лимфатических зародышевых центров, а удаление вируса из легких после заражения значительно усиливалось у животных, получавших модифицированный H1-VLP (2-кратное логарифмическое снижение вирусной нагрузки в легких; Фиг. 11С, Пример 4.2). У мышей, которым вводили модифицированный H1-VLP, наблюдалось снижение уровней воспалительных цитокинов в легких, включая IFN-α (Фиг. 11D). Кроме того, после вакцинации с использованием модифицированного H1 НА в течение семимесячного периода наблюдалось увеличение авидности по сравнению с соответствующим НА дикого типа (Фиг. 7F), а увеличение титров HAI наблюдалось при ежемесячном сборе сыворотки для измерения титров HI (Фиг. 7G) и титров MN (Фиг. 7H).

[00138] Сообщается, что мутация Y98F предотвращает связывание H3 A/Aichi с SA (Bradley et al., 2011, J. Virol 85:12387-12398). Однако мутация Y98F не препятствует связыванию H3 A/Kansas с SA, поскольку наблюдалась значительная гемагглютинация (Фиг. 3В) и связывание H3-SA (определено с помощью SPR, Фиг. 5D). Как показано на Фиг. 3В, дополнительные модификации H3 НА приводят к значительному снижению или неопределяемым уровням гемагглютинации. Примеры модификаций H3 НА, которые уменьшают связывание H3 НА с SA, включают Y98F в комбинации с любым из S136D, S136N, S137N, D190G, D190K, R222W, S228N, S228Q.

[00139] Вакцинация Y88F H7-VLP приводила к увеличению IgG по сравнению с исходными мышами, вакцинированными H7-VLP, вплоть до 8 недель после вакцинации (Фиг. 7D). Кроме того, через 2 месяца после вакцинации наблюдалось увеличение авидности НА Y88F H7 по сравнению с исходной H7-VLP (Фиг. 7Е, Пример 4.2).

[00140] Кроме того, было обнаружено, что модифицированный В НА, содержащий замену, выбранную из группы: S140A, S142A, G138A, D195G, L203W и L203A, снижает связывание между В НА и SA, поскольку эти модифицированные В НА приводили к значительному снижению титра НА (Фиг. 4B, 4D, 4F, 4H, 4J, 4L) по сравнению с титром НА исходного В НА. Кроме того, модифицированный В НА, содержащий замену, выбранную из группы: S140A, S142A, G138A, D195G, L202A и L203W, приводил к почти равному или большему выходу VLP (Фиг. 4C, 4E, 4G, 4I, 4K). Модифицированный В НА, содержащий замену, выбранную из группы: S140A, S142A, G138A, D195G, L203W и L203A, также приводил к снижению активности гемагглютинации (Фиг. 4D).

[00141] Модифицированный белок НА, как описано в данном документе, содержит одно или более чем одно изменение, мутацию, модификацию или замену в его аминокислотной последовательности в любой одной или более аминокислотах, которые соответствуют аминокислотам исходного НА, из которого модифицированный НА является производным. Под «соответствует аминокислоте» или «соответствует аминокислоте» подразумевается, что аминокислота соответствует аминокислоте при выравнивании последовательности с эталонным штаммом гриппа или эталонной аминокислотной последовательности, как описано ниже (см., например, Таблицу 1). Две или более нуклеотидных последовательностей или соответствующие полипептидные последовательности НА могут быть выровнены для определения «консенсуса» или «консенсусной последовательности» последовательности НА подтипа, как это известно в данной области.

[00142] Номер аминокислотного остатка или положение остатка НА соответствует нумерации НА эталонного штамма гриппа. Например, можно использовать НА из следующих эталонных штаммов:

- H1 A/California/07/2009 (SEQ ID NO: 203, см. Фиг. 16BT),
- H3 A/Kansas/14/2017 (SEQ ID NO: 204, см. Фиг. 16BU);
- H5 A/Indonesia/05/2005 (SEQ ID NO: 205, см. Фиг. 16BV);
- H7 A/Shanghai/2/2013 (SEQ ID NO: 206, см. Фиг. 16BW);
- B B/Phuket/3073/2013 (SEQ ID NO: 207, см. Фиг. 16BX);

- В В/Maryland/15/2016 (SEQ ID NO: 208, см. Фиг. 16BY);
- В В/Victoria/705/2018 (SEQ ID NO: 209, см. Фиг. 16BZ).

[00143] Соответствующие положения аминокислот могут быть определены путем выравнивания последовательностей НА (например, Н1, Н3, Н5, Н7 или В НА) с последовательностью НА их соответствующего эталонного штамма.

[00144] Номер аминокислотного остатка или положение остатка НА соответствует нумерации НА эталонного штамма гриппа или эталонной последовательности. Эталонная последовательность может быть НА дикого типа, из которой получен модифицированный НА, или эталонная последовательность может быть другой определенной эталонной последовательностью. Например, эталонная последовательность НА может представлять собой последовательность Н1 НА дикого типа или немодифицированную (исходную) последовательность Н1 НА (например, SEQ ID NO: 203), последовательность Н3 НА (например, SEQ ID NO: 204), последовательность Н5 НА (например, SEQ ID NO: 205), последовательность Н7 НА (например, SEQ ID NO: 206) или последовательность В НА (например, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 208 или SEQ ID NO: 209; см. также Фиг. 1А, 1В и Таблицу 1). Соответствующие положения аминокислот могут быть определены путем сопоставления последовательностей интересующего НА с эталонной последовательностью (или последовательностью, из которой получена модифицированная последовательность НА; исходная последовательность НА), как показано, например, на Фиг. 1А и в Таблице 1. Способы выравнивания последовательностей для сравнения хорошо известны в данной области. Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения можно провести, например, с помощью алгоритма локальной гомологии Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), с помощью алгоритма гомологического выравнивания Needleman & Wunsch, J. Mol. биол. 48:443 (1970), способом поиска подобия Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), с помощью компьютеризированной реализации этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI) или путем ручного выравнивания и визуальной инспекции (см., например, Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds. 1995, дополнение)).

[00145] Термин «остаток» относится к аминокислоте, и этот термин может использоваться взаимозаменяемо с терминами «аминокислота» и «аминокислотный остаток».

[00146] Используемый в данном документе термин «консервативная замена» или «консервативное замещение» относится к наличию аминокислотного остатка в последовательности белка НА, который отличается от аминокислотного остатка, но относится к тому же классу аминокислот, что и описанная замена. Например, неполярная аминокислота может использоваться для замены неполярной аминокислоты, ароматическая аминокислота для замены ароматической аминокислоты, полярная незаряженная аминокислота для замены полярной незаряженной аминокислоты и/или заряженная аминокислота для замены заряженной аминокислоты). Кроме того, консервативные замены могут охватывать аминокислоту, имеющую значение межфазной гидропатии того же знака и, как правило, аналогичной величины, что и аминокислота, которая заменяет соответствующую аминокислоту дикого типа. Используемый в данном документе термин:

- «неполярная аминокислота» относится к глицину (G, Gly), аланину (A, Ala), валину (V, Val), лейцину (L, Leu), изолейцину (I, Ile) и пролину (P, Pro);

- «ароматический остаток» (или ароматическая аминокислота) относится к фенилаланину (F, Phe), тирозину (Y, Tyr) и триптофану (W, Trp);

- «полярная незаряженная аминокислота» относится к серину (S, Ser), треонину (T, Thr), цистеину (C, Cys), метионину (M, Met), аспарагину (N, Asn) и глутамину (Q, Gln);

- «заряженная аминокислота» относится к отрицательно заряженным аминокислотам аспарагиновой кислоте (D, Asp) и глутаминовой кислоте (E, Glu), а также к положительно заряженным аминокислотам лизину (K, Lys), аргинину (R, Arg) и гистидину (H, His).

- аминокислоты с гидрофобной боковой цепью (алифатические) относятся к аланину (A, Ala), изолейцину (I, Ile), лейцину (L, Leu), метионину (M, Met) и валину (V, Val);

- аминокислоты с гидрофобной боковой цепью (ароматические) относятся к фенилаланину (F, Phe), триптофану (W, Trp), тирозину (Y, Tyr);

- аминокислоты с полярной нейтральной боковой цепью относятся к аспарагину (N, Asn), цистеину (C, Cys), глутамину (Q, Gln), серину (S, Ser) и треонину (T, Thr);

- аминокислоты с электрически заряженными боковыми цепями (кислые) относятся к аспарагиновой кислоте (D, Asp), глутаминовой кислоте (E, Glu);

- аминокислоты с электрически заряженными боковыми цепями (основные) относятся к аргинину (R, Arg); гистидин (H, His); лизин (K, Lys), глицин G, Gly) и пролин (P, Pro).

[00147] Консервативные аминокислотные замены, вероятно, оказывают такое же влияние на активность полученного модифицированного белка НА, как и исходная замена или модификация. Дополнительную информацию о консервативных заменах можно найти, например, у Ben Bassat et al. (J.Bacteriol, 169:751-757, 1987), O'Regan et al. (Gene, 77:237-251, 1989), Sahin-Toth et al. (Protein ScL, 3:240-247, 1994), Hochuli et al. (Bio/Technology, 6:1321-1325, 1988).

[00148] Матрицы Блосум обычно используют для определения родства полипептидных последовательностей (Henikoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915-10919, 1992). Порог идентичности 90% использовался для высококонсервативных целевых частот матрицы БЛОСУМ90. Для матрицы БЛОСУМ65 использовали порог идентичности 65%. Баллы от нуля и выше в матрицах Блосум считаются «консервативными заменами» при процентной идентичности. В следующей таблице приведены примеры консервативных аминокислотных замен: Таблица 2.

Таблица 2. Примеры консервативных аминокислотных замен.

Оригинальный остаток	Очень высоко-консервативные замены	Высококонсервативные замены (из матрицы Блосум65)	Консервативные замены (из матрицы Блосум65)
Ala	Ser	Gly, Ser, Thr	Cys, Gly, Ser, Thr, Val
Arg	Lys	Gln, His, Lys	Asn, Gln, Glu, His, Lys
Asn	Gln; His	Asp, Gln, His, Lys, Ser, Thr	Arg, Asp, Gln, Glu, His, Lys, Ser, Thr
Asp	Glu	Asn, Glu	Asn, Gln, Glu, Ser
Cys	Ser	None	Ala
Gln	Asn	Arg, Asn, Glu, His, Lys, Met	Arg, Asn, Asp, Glu, His, Lys, Met, Ser
Glu	Asp	Asp, Gln, Lys	Arg, Asn, Asp, Gln, His, Lys, Ser
Gly	Pro	Ala	Ala, Ser
His	Asn; Gln	Arg, Asn, Gln, Tyr	Arg, Asn, Gln, Glu, Tyr
Ile	Leu; Val	Leu, Met, Val	Leu, Met, Phe, Val
Leu	Ile; Val	Ile, Met, Phe, Val	Ile, Met, Phe, Val
Lys	Arg; Gln; Glu	Arg, Asn, Gln, Glu	Arg, Asn, Gln, Glu, Ser,
Met	Leu; Ile	Gln, Ile, Leu, Val	Gln, Ile, Leu, Phe, Val
Phe	Met; Leu; Tyr	Leu, Trp, Tyr	Ile, Leu, Met, Trp, Tyr
Ser	Thr	Ala, Asn, Thr	Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Lys, Thr
Thr	Ser	Ala, Asn, Ser	Ala, Asn, Ser, Val
Trp	Tyr	Phe, Tyr	Phe, Tyr
Tyr	Trp; Phe	His, Phe, Trp	His, Phe, Trp
Val	Ile; Leu	Ile, Leu, Met	Ala, Ile, Leu, Met, Thr

[00149] Когда речь идет о модификациях, мутантах или вариантах, по аминокислотному остатку дикого типа (также называемым просто «аминокислота») следует номер остатка и новая или замененная аминокислота. Например, замена тирозина (Y, Tyr) на фенилаланин (F, Phe) в остатке или аминокислоте в положении 98, которую не следует считать ограничивающей, обозначается как Y98F.

[00150] Примеры модификаций, которые могут быть использованы, как описано в данном документе, для получения модифицированного НА, которая проявляет свойство сниженного, не поддающегося обнаружению или отсутствия родственного взаимодействия с SA, например, уменьшенного, не поддающегося обнаружению или отсутствия родственного связывания с SA, сохраняя родственное взаимодействие модифицированного белка НА с мишенью, и/или модифицированный НА, который модулирует и/или усиливает иммунологический ответ у животного или субъекта в ответ на антигенную провокацию, например, мишени, опосредованный В-клеточным рецептором включает:

- H1-НА, содержащий замену Y91F. Аминокислотную замену в положении 91 можно определить путем выравнивания последовательности с эталонной последовательностью H1 A/California/7/09 (SEQ ID NO:203). Альтернативная аминокислотная замена в положении 91 ароматической боковой цепи может включать триптофан (W, Trp; Y91W);

- H3-НА, содержащий замену Y98F в комбинации с заменой, выбранной из группы S136D, S136N, S137N, D190G, D190K, R222W, S228N, S228Q, определенной путем выравнивания последовательности с эталонной последовательностью H3 A/Kansas/14/17 (SEQ ID NO:204). Альтернативные аминокислотные замены в положении 98 могут включать ароматическую боковую цепь, триптофан (W, Trp; Y98W); альтернативные замены в положениях 136, 137 и 228 могут включать полярные незаряженные аминокислоты, например: аспарагин (N, Asn; S136N; S137N), цистеин (C, Cys; S136C; S137C; S228C), глутамин (Q, Gln; S136Q; S137Q) и треонин (T, Thr; S136T; S137T; S228T); альтернативные замены в положении 190 могут включать электрически заряженные боковые цепи, например, глутаминовая кислота (E; Glu; D190E); (R, Arg; D190R); гистидин (H, His; D190H); и пролин (P, Pro; D190P); альтернативные замены в положении 222 могут включать гистидин (H, His; R222H); лизин (K, Lys; R222K), глицин G, Gly; R222G) и пролин (P, Pro; R222P);

- H3-НА, содержащий замену, выбранную из группы S136D, S136N, D190K, R222W, S228N или S228Q, определенную путем выравнивания последовательности с эталонной последовательностью H3 A/Kansas/14/17 (SEQ ID NO:204). Альтернативные замены в положениях 136 и 228 могут включать полярные незаряженные аминокислоты, например: аспарагин (N, Asn; S136N), цистеин (C, Cys; S136C; S228C), глутамин (Q, Gln; S136Q) и треонин (T, Thr; S136T; S228T); альтернативные замены в положении 190 могут включать электрически заряженные боковые цепи, например, глутаминовая кислота (E; Glu; D190E); (R, Arg; D190R); гистидин (H, His; D190H); и пролин (P, Pro; D190P); альтернативные замены в положении 222 могут включать гистидин (H, His; R222H); лизин (K, Lys; R222K), глицин G, Gly; R222G) и пролин (P, Pro; R222P);

- H5-НА, содержащий замену Y91F. Аминокислотную замену в положении 91 можно определить путем выравнивания последовательности с эталонной последовательностью H5 A/Indonesia/5/05 (SEQ ID NO:205). Альтернативная аминокислотная замена в положении 91 ароматической боковой цепью может включать триптофан (W, Trp; Y91W);

- H7-НА, содержащий замену Y88F. Аминокислотную замену в положении 88 можно определить путем выравнивания последовательности с эталонной последовательностью H7 A/Shanghai/2/12 (SEQ ID NO:206). Альтернативная

аминокислотная замена в положении 88 ароматической боковой цепью может включать триптофан (W, Trp; Y88W);

- В-НА, содержащий замену, выбранную из группы: S140A, S142A, G138A, D195G, L203W и L203A, определенную со ссылкой на B/Phuket/3073/2013 (SEQ ID NO:207). Альтернативная аминокислотная замена в положениях 140 и 142 может включать полярные незаряженные аминокислоты, например: аспарагин (N, Asn; S140N; S142N), цистеин (C, Cys; S140C; S142C), глутамин (Q, Gln; S140Q; S142Q) и треонин (T, Thr; S140T; S142T); альтернативная аминокислотная замена в положении 138 может включать другие неполярные аминокислоты, например, валин (V, Val; G138V), лейцин (L, Leu; G138L), изолейцин (I, Ile; G138I) и пролин (P, Pro; G138P); альтернативная аминокислотная замена в положении 195 может включать заряженную аминокислоту глутаминовой кислоты (E, Glu; D195E); альтернативная аминокислотная замена в положении 203 может включать неполярные аминокислоты, например, глицин (G, Gly; L203G), валин (V, Val; L203V), изолейцин (I, Ile; L203I) и пролин (P, Pro; L203P).

- В-НА, содержащий замену, выбранную из группы: S140A, S142A, G138A, D194G, L202W и L202A, определенную со ссылкой на B/Maryland/15/2016 (SEQ ID NO:208). Альтернативная аминокислотная замена в положениях 140 и 142 может включать полярные незаряженные аминокислоты, например: аспарагин (N, Asn; S140N; S142N), цистеин (C, Cys; S140C; S142C), глутамин (Q, Gln; S140Q; S142Q) и треонин (T, Trp; S140T; S142T); альтернативная аминокислотная замена в положении 138 может включать другие неполярные аминокислоты, например, валин (V, Val; G138V), лейцин (L, Leu; G138L), изолейцин (I, Ile; G138I) и пролин (P, Pro; G138P); альтернативная аминокислотная замена в положении 194 может включать заряженную аминокислоту глутаминовой кислоты (E, Glu; D194E); альтернативная аминокислотная замена в положении 202 может включать неполярные аминокислоты, например, глицин (G, Gly; L202G), валин (V, Val; L202V), изолейцин (I, Ile; L202I) и пролин (P, Pro; L202P).

- В-НА, содержащий замену, выбранную из группы: S140A, S142A, G138A, D193G, L201W и L201A, определенную со ссылкой на B/Victoria/705/2018 (SEQ ID NO:209). Альтернативная аминокислотная замена в положениях 140 и 142 может включать полярные незаряженные аминокислоты, например: аспарагин (N, Asn; S140N; S142N),

цистеин (C, Cys; S140C; S142C), глутамин (Q, Gln; S140Q; S142Q) и треонин (T, Thr; S140T; S142T); альтернативная аминокислотная замена в положении 138 может включать другие неполярные аминокислоты, например, валин (V, Val; G138V), лейцин (L, Leu; G138L), изолейцин (I, Ile; G138I) и пролин (P, Pro; G138P); альтернативная аминокислотная замена в положении 193 может включать заряженную аминокислоту глутаминовой кислоты (E, Glu; D194E); альтернативная аминокислотная замена в положении 201 может включать неполярные аминокислоты, например, глицин (G, Gly; L201G), валин (V, Val; L201V), изолейцин (I, Ile; L201I) и пролин (P, Pro; L201P).

[00151] Также обеспечивается нуклеиновая кислота, кодирующая модифицированный НА с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без неродственного взаимодействия с SA, как описано в данном документе. Кроме того, также описаны хозяева, содержащие нуклеиновую кислоту. Подходящие хозяева описаны ниже и могут включать, помимо прочего, эукариотического хозяина, культивируемые эукариотические клетки, птицу хозяина, насекомого хозяина или растение хозяина. Например, растение, часть растения, растительный материал, растительный экстракт, растительная клетка могут содержать нуклеиновую кислоту, кодирующую модифицированный НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без родственного взаимодействия с SA.

[00152] Также обеспечивается способ получения модифицированного НА с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без родственного взаимодействия с SA, супраструктуры, содержащей модифицированный НА, наночастицы, содержащей модифицированный НА, или VLP (или супраструктуры) содержащие модифицированный НА, путем экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей модифицированный НА, с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без родственного взаимодействия с SA в подходящем хозяине, например, но не ограничиваясь этим, в эукариотическом хозяине, культивируемых эукариотических клетках, птице хозяине, насекомом хозяине или растении хозяине. Способ может включать введение в растение нуклеиновой кислоты, кодирующей модифицированный НА с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без родственного взаимодействия с SA, и выращивание растения в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продукции модифицированного НА, супраструктуры, содержащей модифицированный НА, наночастицу, содержащую модифицированный НА, или VLP, содержащей модифицированный НА, или их комбинацию, и сбор растения. В качестве альтернативы, способ может включать выращивание растения, которое уже

содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую модифицированный НА с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без родственного взаимодействия с SA в условиях, который приводит к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию модифицированного НА, супраструктуры, содержащей модифицированный НА, наночастицы, содержащей модифицированный НА, или VLP, содержащей модифицированный НА, или их комбинацию, и сбор растения. Модифицированный НА, супраструктура, содержащая модифицированный НА, наночастица, содержащая модифицированный НА, или VLP, содержащая модифицированный НА, могут быть очищены, как описано в данном документе, или с использованием протоколов очистки, известных специалистам в данной области.

VLP

[00153] В данном документе описаны VLP, содержащие модифицированный НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или без родственного взаимодействия с SA. Также описано применение этих VLP в качестве противогриппозной вакцины, которая проявляет повышенную иммуногенность и эффективность по сравнению с иммуногенностью и эффективностью противогриппозной вакцины, содержащей VLP, содержащие соответствующий НА гриппа дикого типа (или немодифицированный). Как описано выше, VLP можно рассматривать как пример наночастицы или супраструктуры, содержащей НА или модифицированный НА, и, если не указано иное, эти термины могут использоваться взаимозаменяемо.

[00154] Термин «вирусоподобная частица» (VLP) или «вирусоподобные частицы» или «VLP» относится к структурам, которые самособираются и содержат структурные белки, такие как белок НА гриппа. VLP, как правило, морфологически и антигенно сходны с вирионами, образующимися при инфекции, но не имеют генетической информации, достаточной для репликации, и, таким образом, неинфекционны. VLP может содержать пептид НА0, НА1 или НА2. В некоторых примерах VLP могут содержать один вид белка или более одного вида белка. Для VLP, содержащих более одного вида белка, вид белка может быть из одного и того же вида вируса или может содержать белок из другого вида, рода, подсемейства или семейства вирусов (как указано в номенклатуре ICTV). Как описано в данном документе, один или несколько белковых видов, содержащих VLP, могут быть модифицированы из встречающейся в природе последовательности. VLP могут быть получены в подходящих клетках-хозяевах, включая клетки-хозяева растений и насекомых.

После экстракции из клетки-хозяина и после выделения и дальнейшей очистки в подходящих условиях VLP могут быть очищены как интактные структуры.

[00155] В растениях вирусы гриппа отпочковываются от плазматической мембраны, следовательно, липидный состав VLP отражает их происхождение. Липиды растительного происхождения могут быть в форме двойного липидного слоя и могут дополнительно содержать оболочку, окружающую VLP. Липиды растительного происхождения могут включать липидные компоненты плазматической мембраны растения, в которой продуцируется VLP, включая, но не ограничиваясь ими, фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), гликосфинголипиды, фитостеролы или их комбинацию. Липид растительного происхождения может также называться «растительным липидом». Примеры фитостеролов известны в данной области и включают, например, стигмастерол, ситостерол, 24-метилхолестерол и холестерин. Таким образом, VLP, описанные в данном документе, могут образовывать комплексы с двойным липидным слоем растительного происхождения. Фитостеролы, присутствующие в VLP вируса гриппа в комплексе с двойным липидным слоем, таким как оболочка, полученная из плазматической мембраны, могут обеспечить выгодную композицию вакцины. Не желая быть связанными какой-либо теорией, VLP растительного происхождения в комплексе с двойным липидным слоем, таким как оболочка, полученная из плазматической мембраны, могут вызывать более сильную иммунную реакцию, чем VLP, полученные в других системах экспрессии, и реакция может быть сходна с иммунной реакцией, индуцированной живыми или ослабленными цельновирусными вакцинами. Кроме того, конформация VLP может быть предпочтительной для презентации антигена и усиливать адъювантный эффект VLP при комплексировании с липидным слоем растительного происхождения.

[00156] ФХ и ФЭ, а также гликосфинголипиды могут связываться с молекулами CD1, экспрессируемыми иммунными клетками млекопитающих, такими как антигенпрезентирующие клетки (АРС), такие как дендритные клетки и макрофаги, и другими клетками, включая В- и Т-лимфоциты в тимусе и печени (Tsuji M., 2006). Молекулы CD1 структурно аналогичны молекулам главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I, и их роль заключается в представлении гликолипидных антигенов НКТ-клеткам (природные киллеры Т-клетки). При активации НКТ-клетки активируют врожденные иммунные клетки, такие как НК-клетки и дендритные клетки, а также активируют адаптивные иммунные клетки, такие как В-клетки и Т-клетки, продуцирующие антитела.

[00157] VLP, продуцируемые в растении, могут содержать НА, который содержит специфичные для растений N-гликаны. Таким образом, также описана VLP, включающая НА, имеющий N-гликаны, специфичные для растений.

[00158] Модификация N-гликанов в растениях известна (см., например, WO2008/151440; WO2010/006452; WO2014/071039; WO/2018058256, каждая из которых включена в данный документ в качестве ссылки), и может быть получен НА, содержащий модифицированные N-гликаны. Может быть получен НА, имеющий модифицированный характер гликозилирования, например, со сниженными или неопределяемыми уровнями фукозилированных, ксилозилированных или обоих, фукозилированных и ксилозилированных, N-гликанов, или может быть получен НА, имеющий модифицированный характер гликозилирования, где в белке отсутствует фукозилирование, ксилозилирование или и то, и другое по сравнению с растением дикого типа, экспрессирующим НА. Не желая быть связанными теорией, присутствие растительных N-гликанов на НА может стимулировать иммунный ответ, способствуя связыванию НА антигенпрезентирующими клетками. Таким образом, данное изобретение также включает VLP, содержащие НА с модифицированными N-гликанами.

[00159] VLP можно оценивать по структуре и размеру, например, с помощью анализа гемагглютинации, электронной микроскопии, центрифугирования в градиенте плотности, эксклюзионной хроматографии, ионообменной хроматографии, аффинной хроматографии или другого анализа определения размера, известного среднему специалисту в данной области техники. Например, что не следует считать ограничивающим, общие растворимые белки можно экстрагировать из растительной ткани путем ферментативного расщепления, например, как описано в WO 2011/035422, WO 2011/035423, WO 2012/126123 (каждая из которых включена в данное описание в качестве ссылки), гомогенизации (Polytron) образцов свежего или замороженно-измельченного растительного материала в экстракционном буфере, а нерастворимый материал удаляется центрифугированием или глубинной фильтрацией. Также можно использовать осаждение с помощью ПЭГ, соли или pH. Растворимый белок может быть пропущен через гель-фильтрационную колонку, ионообменную колонку или аффинную колонку. После хроматографии фракции могут быть дополнительно проанализированы с помощью электрофореза в PAGE, вестерн-блоттинга или иммуноблота для определения белкового компонента фракции. Относительное содержание модифицированного НА можно также определить с помощью анализа гемагглютинации.

[00160] Модифицированный НА гриппа, как описано в данном документе, VLP, содержащий модифицированный НА, или как модифицированный НА, так и VLP, содержащий модифицированный НА, как описано в данном документе, могут быть получены в любом подходящем хозяине, например, но не ограничиваясь этим, в эукариотическом хозяине, эукариотической клетке, млекопитающем хозяине, клетке млекопитающего, птице хозяине, клетке птицы, насекомом хозяине, клетке насекомого, бакуловирусной клетке или растении хозяине, растении или части растения, растительной клетке. Например, хозяин может быть животным или хозяином, не являющимся человеком. Например, растение можно использовать для получения модифицированного НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенного родственного взаимодействия с SA, VLP, содержащей модифицированный НА, или обоих модифицированных НА гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенного неродственного взаимодействия с SA и VLP, содержащей модифицированный НА. Таким образом, также описаны растения, которые содержат VLP, включающие модифицированный НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенного родственного взаимодействия с SA. Кроме того, также описаны растения, которые содержат модифицированный НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенного неродственного взаимодействия с SA.

[00161] Растения могут включать, но не ограничиваться ими, травянистые растения. Кроме того, растения могут включать, но не ограничиваться ими, сельскохозяйственные культуры, включая, например, рапс, виды *Brassica*, кукурузу, виды *Nicotiana* (табак), например, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Arabidopsis thaliana*, люцерна (виды *Medicago*, например, *Medicago trunculata*), картофель, сладкий картофель (*Ipomoea batatas*), женьшень, горох, овес, рис, соя, пшеница, ячмень, подсолнечник, хлопок, кукуруза, рожь (*Secale cereale*), сорго (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*), сафлор (*Carthamus tinctorius*), салат и капуста.

[00162] Также в данном документе описана композиция, содержащая один или более чем один модифицированный НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенным неродственного взаимодействия с SA, или один или более чем один VLP, содержащий один или более чем один модифицированный НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенным неродственного взаимодействия с SA, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, наполнитель или вспомогательное вещество. Композиция, содержащая модифицированный НА вируса гриппа, или VLP, содержащую модифицированный белок НА, можно использовать в качестве вакцины для введения субъекту с целью индукции иммунного ответа. Таким образом, данное изобретение относится к вакцине, содержащей композицию, содержащую один или более чем один модифицированный НА гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенным неродственного взаимодействия с SA, или одну или более чем одну VLP, содержащую один или более чем один модифицированный НА гриппа со сниженным, не поддающимся обнаружению или лишенным неродственного взаимодействия с SA.

[00163] Композиция может содержать смесь VLP при условии, что по меньшей мере одна из VLP в композиции содержит модифицированный белок НА, как описано в данном документе. Например, каждый НА, включающий один или более чем один модифицированный НА, из каждого из одного или более чем одного подтипа гриппа, может быть экспрессирован, а соответствующие VLP очищены. Вирусоподобные частицы, полученные из двух или более чем двух штаммов гриппа (например, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, 10 или более штаммов или подтипов), могут быть объединены по желанию для получения смеси VLP, при условии, что одна или более чем одна VLP в смеси VLP содержит модифицированный НА, как описано в данном документе. VLP можно комбинировать или продуцировать в желаемом соотношении, например, примерно в эквивалентных соотношениях, или можно комбинировать таким образом, чтобы один подтип или штамм составлял большинство VLP в композиции.

[00164] Выбор комбинации НА может определяться предполагаемым применением вакцины, полученной из VLP. Например, вакцина для инокуляции птиц может содержать любую комбинацию подтипов НА, в то время как VLP, применимые для инокуляции людей, могут включать один или более подтипов из подтипов H1, H2, H3, H5, H7, H9, H10, N1, N2, N3 и N7. Однако в зависимости от использования инокулята могут быть получены другие комбинации подтипов НА. Например, выбор комбинации штаммов и подтипов может также зависеть от географического района, в котором субъекты могут подвергаться риску

заражения гриппом, близости видов животных к популяции людей, подлежащих иммунизации (например, виды водоплавающих птиц, сельскохозяйственных животных, таких как свиньи, и т. д.) и штаммы, которые они несут, подвергаются или могут подвергаться воздействию, прогнозы антигенного дрейфа внутри подтипов или штаммов или комбинации этих факторов. Имеются примеры комбинаций, использовавшихся в прошлые годы (см. URL: who.int/csr/disease/influenza/vaccine_recommendations1/en).

[00165] Таким образом, обеспечивается композиция, содержащая VLP, включающая модифицированный НА, как описано в данном документе, или содержащая смесь VLP, где каждая VLP включает другой подтип или штамм НА, при условии, что один из НА представляет собой модифицированный НА, как описано в данном документе.

[00166] Композицию, содержащую VLP, содержащую модифицированный НА, или композицию, содержащую смесь VLP, как описано выше, можно применять для индуцирования иммунитета к инфицированию вирусом гриппа у животного или субъекта. Например, эффективная доза вакцины, содержащей композицию, может быть введена животному или субъекту. Вакцину можно вводить перорально, внутривенно, интраназально, внутримышечно, внутривенно, внутривенно или подкожно. Например, что не следует считать ограничивающим, субъект может быть выбран из группы, включающей людей, приматов, лошадей, свиней, птиц, водоплавающих птиц, перелетных птиц, перепелов, уток, гусей, домашних птиц, кур, свиней, овец, лошадиных, лошадей, верблюдов, псовых, собак, кошачьих, кошек, тигров, леопардов, циветтов, норок, каменных куниц, хорьков, домашних животных, домашнего скота, кроликов, морских свинок или других грызунов, мышей, крыс, тюленей, рыб, китов и подобных.

[00167] Таким образом, в данном изобретении также предлагается способ индуцирования иммунитета к инфицированию вирусом гриппа у животного или субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение VLP, содержащей модифицированный НА вируса гриппа, с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенный неродственного взаимодействия с СА, животному или субъекту. Как описано ниже, применение модифицированного НА вируса гриппа с уменьшенным, не поддающимся обнаружению или лишенного неродственного взаимодействия с SA вызывает улучшенный иммунный ответ по сравнению с иммунным ответом, полученным после вакцинации субъекта с использованием соответствующего дикого типа или немодифицированного НА, который не содержит модификацию, снижающую связывание SA.

SEQ ID NO:	Название	ФИГ./Таблиц а
SEQ ID NO: 1	PDI-H1 Cal/7/09 ДНК	Фиг. 13А
SEQ ID NO: 2	PDI-H1 Cal/7/09 АА	Фиг. 13В
SEQ ID NO: 3	IF-CPMV(fl5'UTR)_SpPDI.c	Таб. 4
SEQ ID NO: 4	IF-H1cTMCT.S1-4r	Таб. 4
SEQ ID NO: 5	Вектор клонирования 1190 слева направо Т-ДНК	Фиг. 17А
SEQ ID NO: 6	Конструкт 1314 с 2X35S промотора до терминатора NOS	Фиг. 17В
SEQ ID NO: 7	H1_Cal(Y91F).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 8	H1_Cal(Y91F).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 9	Вектор клонирования 3637 слева направо Т-ДНК	Фиг. 17С
SEQ ID NO: 10	Конструкт 6100 с 2X35S промотора до терминатора NOS	Фиг. 17D
SEQ ID NO: 11	PDI-H1 Cal-Y91F ДНК	1 Фиг. 8С
SEQ ID NO: 12	PDI-H1 Cal-Y91F АА	Фиг. 13D
SEQ ID NO: 13	A/Minnesota/41/19 (H3N2)	Фиг. 1А
SEQ ID NO: 14	B/Singapore/INFKK-16-0569/16 (Yamagata)	Фиг. 1В
SEQ ID NO: 15	B/Maryland/15/16 (Victoria)	Фиг. 1В
SEQ ID NO: 16	B/Victoria/705/18 (Victoria)	Фиг. 1В
SEQ ID NO: 17	B/Washington/12/19 (Victoria)	Фиг. 1В
SEQ ID NO: 18	B/Darwin/8/19 (Victoria)	Фиг. 1В
SEQ ID NO: 19	B/Darwin/20/19 (Victoria)	Фиг. 1В
SEQ ID NO: 20	PDI-H7 Shan ДНК	Фиг. 15А
SEQ ID NO: 21	PDI-H7 Shan АА	Фиг. 15В
SEQ ID NO: 22	IF-H7Shang.r	Таб. 4
SEQ ID NO: 23	H7Shang(Y88F).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 24	H7Shang(Y88F).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 25	PDI-H7 Shan-Y88F ДНК	Фиг. 15С
SEQ ID NO: 26	PDI-H7 Shan-Y88F АА	Фиг. 15D

SEQ ID NO: 27	PDI-B Phu/3073/2013 ДНК	Фиг. 16А
SEQ ID NO: 28	PDI-B Phu/3073/2013 АА	Фиг. 16В
SEQ ID NO: 29	IF.HBPhu3073.c	Таб. 4
SEQ ID NO: 30	B_Phuket(S140A).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 31	B_Phuket(S140A).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 32	PDI-B Phu-S140A/3073/2013 (S140A) ДНК	Фиг. 16С
SEQ ID NO: 33	PDI-B Phu-S140A/3073/2013 (S140A) АА	Фиг. 16D
SEQ ID NO: 34	B_Phuket(S142A).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 35	B_Phuket(S142A).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 36	PDI-B Phu-S142A ДНК	Фиг. 16Е
SEQ ID NO: 37	PDI-B Phu-S142A АА	Фиг. 16F
SEQ ID NO: 38	B_Phuket(G138A).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 39	B_Phuket(G138A).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 40	PDI-B Phu-G138A ДНК	Фиг. 16G
SEQ ID NO: 41	PDI-B Phu-G138A АА	Фиг. 16H
SEQ ID NO: 42	B_Phuket(L203A).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 43	B_Phuket(L203A).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 44	PDI-B Phu-L203A ДНК	Фиг. 16I
SEQ ID NO: 45	PDI-B Phu-L203A АА	Фиг. 16J
SEQ ID NO: 46	B_Phuket(D195G).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 47	B_Phuket(D195G).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 48	PDI-B Phu-D195G ДНК	Фиг. 16К
SEQ ID NO: 49	PDI-B Phu-D195G АА	Фиг. 16L
SEQ ID NO: 50	B_Phuket(L203W).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 51	B_Phuket(L203W).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 52	PDI-B Phu-L203W ДНК	Фиг. 16М
SEQ ID NO: 53	PDI-B Phu-L203W АА	Фиг. 16N
SEQ ID NO: 54	Вектор клонирования 2530 слева направо Т-ДНК	Фиг. 17Е
SEQ ID NO: 55	Конструкт 2835 с 2X35S промотора до терминатора NOS	Фиг. 17F
SEQ ID NO: 56	Вектор клонирования 4499 слева направо Т-ДНК	Фиг. 17G

SEQ ID NO: 57	Конструкт 8352 с 2X35S промотора до терминатора NOS	Фиг. 17H
SEQ ID NO: 58	Конструкт 7281 с 2X35S промотора до терминатора NOS	Фиг. 17I
SEQ ID NO: 59	Конструкт 8179 с 2X35S промотора до терминатора NOS	Фиг. 17J
SEQ ID NO: 60	PDI-H3 Kan ДНК	Фиг. 14A
SEQ ID NO: 61	PDI-H3 Kan AA	Фиг. 14B
SEQ ID NO: 62	IF-H3NewJer.c	Таб. 4
SEQ ID NO: 63	IF-H3_Swi_13.r	Таб. 4
SEQ ID NO: 64	PDI-H3 Kan-Y98F ДНК	Фиг. 14C
SEQ ID NO: 65	PDI-H3 Kan-Y98F AA	Фиг. 14D
SEQ ID NO: 66	H3_Kansas(Y98F).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 67	H3_Kansas(Y98F).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 68	PDI-H3 Kan-Y98F+S136D ДНК	Фиг. 14E
SEQ ID NO: 69	PDI-H3 Kan-Y98F+S136D AA	Фиг. 14F
SEQ ID NO: 70	H3Kansas(S136D).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 71	H3Kansas(S136D).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 72	PDI-H3 Kan-Y98F+S136N ДНК	Фиг. 14G
SEQ ID NO: 73	PDI-H3 Kan-Y98F+S136N AA	Фиг. 14H
SEQ ID NO: 74	H3Kansas(S136N).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 75	H3Kansas(S136N).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 76	PDI-H3 Kan-Y98F+S137N ДНК	Фиг. 14I
SEQ ID NO: 77	PDI-H3 Kan-Y98F+S137N AA	Фиг. 14J
SEQ ID NO: 78	H3Kansas(S137N).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 79	H3Kansas(S137N).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 80	PDI-H3 Kan-Y98F+D190G ДНК	Фиг. 14K
SEQ ID NO: 81	PDI-H3 Kan-Y98F+D190G AA	Фиг. 14L
SEQ ID NO: 82	H3Kansas(D190G).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 83	H3Kansas(D190G).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 84	PDI-H3 Kan-Y98F+D190K ДНК	Фиг. 14M
SEQ ID NO: 85	PDI-H3 Kan-Y98F+D190K AA	Фиг. 14N
SEQ ID NO: 86	H3Kansas(D190K).c	Таб. 4

SEQ ID NO: 87	H3Kansas(D190K).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 88	PDI-H3 Kan-Y98F+R222W ДНК	Фиг. 14O
SEQ ID NO: 89	PDI-H3 Kan-Y98F+R222W AA	Фиг. 14P
SEQ ID NO: 90	H3Kansas(R222W).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 91	H3Kansas(R222W).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 92	PDI-H3 Kan-Y98F+S228N ДНК	Фиг. 14Q
SEQ ID NO: 93	PDI-H3 Kan-Y98F+S228N AA	Фиг. 14R
SEQ ID NO: 94	H3Kansas(S228N).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 95	H3Kansas(S228N).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 96	PDI-H3 Kan-S228Q ДНК	Фиг. 14S
SEQ ID NO: 97	PDI-H3 Kan-S228Q AA	Фиг. 14T
SEQ ID NO: 98	H3Kansas(S228Q).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 99	H3Kansas(S228Q).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 100	PDI-H1 Idaho ДНК	Фиг. 13E
SEQ ID NO: 101	PDI-H1 Idaho AA	Фиг. 13F
SEQ ID NO: 102	IF-H1_Cal-7-09.c	Таб. 4
SEQ ID NO: 103	IF-H1cTMCT.s1-4r	Таб. 4
SEQ ID NO: 104	PDI-H1 Idaho-Y91F ДНК	Фиг. 13G
SEQ ID NO: 105	PDI-H1 Idaho-Y91F AA	Фиг. 13H
SEQ ID NO: 106	H1_Idaho(Y91F).c	Таб. 4
SEQ ID NO: 107	H1_Idaho(Y91F).r	Таб. 4
SEQ ID NO: 108	A/Egypt/NO4915/14 (H5N1)	Фиг. 1A
SEQ ID NO: 109	A/Hangzhou/1/13 (H7N9)	Фиг. 1A
SEQ ID NO: 110	консенсусная последовательность трансмембранного домена	--
SEQ ID NO: 111	PDI-H3 Kan-S136D ДНК	Фиг. 14U
SEQ ID NO: 112	PDI-H3 Kan-S136D AA	Фиг. 14V
SEQ ID NO: 113	PDI-H3 Kan-S136N ДНК	Фиг. 14W
SEQ ID NO: 114	PDI-H3 Kan-S136N AA	Фиг. 14X
SEQ ID NO: 115	PDI-H3 Kan-D190K ДНК	Фиг. 14Y
SEQ ID NO: 116	PDI-H3 Kan-D190K AA	Фиг. 14Z
SEQ ID NO: 117	PDI-H3 Kan-R222W ДНК	Фиг. 14AA

SEQ ID NO: 118	PDI-H3 Kan-R222W AA	Фиг. 14AB
SEQ ID NO: 119	PDI-H3 Kan-S228N ДНК	Фиг. 14AC
SEQ ID NO: 120	PDI-H3 Kan-S228N AA	Фиг. 14AD
SEQ ID NO: 121	PDI-H3 Kan-S228Q ДНК	Фиг. 14AE
SEQ ID NO: 122	PDI-H3 Kan-S228Q AA	Фиг. 14AF
SEQ ID NO: 123	PDI-B Sing ДНК	Фиг. 16O
SEQ ID NO: 124	PDI-B Sing AA	Фиг. 16P
SEQ ID NO: 125	PDI-B Sing-G138A ДНК	Фиг. 16Q
SEQ ID NO: 126	PDI-B Sing-G138A AA	Фиг. 16R
SEQ ID NO: 127	PDI-B Sing-S140A ДНК	Фиг. 16S
SEQ ID NO: 128	PDI-B Sing-S140A AA	Фиг. 16T
SEQ ID NO: 129	PDI-B Sing-S142A ДНК	Фиг. 16U
SEQ ID NO: 130	PDI-B Sing-S142A AA	Фиг. 16V
SEQ ID NO: 131	PDI-B Sing-D195G ДНК	Фиг. 16W
SEQ ID NO: 132	PDI-B Sing-D195G AA	Фиг. 16X
SEQ ID NO: 133	PDI-B Sing-L203A ДНК	Фиг. 16Y
SEQ ID NO: 134	PDI-B Sing-L203A AA	Фиг. 16Z
SEQ ID NO: 135	PDI-B Sing-L203W ДНК	Фиг. 16AA
SEQ ID NO: 136	PDI-B Sing-L203W AA	Фиг. 16AB
SEQ ID NO: 137	PDI-B Mary ДНК	Фиг. 16AC
SEQ ID NO: 138	PDI-B Mary AA	Фиг. 16AD
SEQ ID NO: 139	IF-B-Bris(nat).c	Фиг. 16AE
SEQ ID NO: 140	PDI-B Mary-G138A ДНК	Фиг. 16AF
SEQ ID NO: 141	PDI-B Mary-G138A AA	Фиг. 16AG
SEQ ID NO: 142	PDI-B Mary-S140A ДНК	Фиг. 16AH
SEQ ID NO: 143	PDI-B Mary-S140A AA	Фиг. 16AI
SEQ ID NO: 144	PDI-B Mary-S142A ДНК	Фиг. 16AJ
SEQ ID NO: 145	PDI-B Mary-S142A AA	Фиг. 16AK
SEQ ID NO: 146	PDI-B Mary-D194G ДНК	Фиг. 16AL
SEQ ID NO: 147	PDI-B Mary-D194G AA	Фиг. 16AM
SEQ ID NO: 148	PDI-B Mary-L202A ДНК	Фиг. 16AN
SEQ ID NO: 149	PDI-B Mary-L202A AA	Фиг. 16AO

SEQ ID NO: 150	PDI-B Mary-L202W ДНК	Фиг. 16AP
SEQ ID NO: 151	PDI-B Mary-L202W АА	Фиг. 16AQ
SEQ ID NO: 152	PDI-B Wash ДНК	Фиг. 16AR
SEQ ID NO: 153	PDI-B Wash АА	Фиг. 16AS
SEQ ID NO: 154	PDI-B Wash-G138A ДНК	Фиг. 16AT
SEQ ID NO: 155	PDI-B Wash-G138A АА	Фиг. 16AU
SEQ ID NO: 156	PDI-B Wash-S140A ДНК	Фиг. 16AV
SEQ ID NO: 157	PDI-B Wash-S140A АА	Фиг. 16AW
SEQ ID NO: 158	PDI-B Wash-S142A ДНК	Фиг. 16AX
SEQ ID NO: 159	PDI-B Wash-S142A АА	Фиг. 16AY
SEQ ID NO: 160	PDI-B Wash-D193G ДНК	Фиг. 16AZ
SEQ ID NO: 161	PDI-B Wash-D193G АА	Фиг. 16BA
SEQ ID NO: 162	PDI-B Wash-L201A ДНК	Фиг. 16BB
SEQ ID NO: 163	PDI-B Wash-L201A АА	Фиг. 16BC
SEQ ID NO: 164	PDI-B Wash-L201W ДНК	Фиг. 16BD
SEQ ID NO: 165	PDI-B Wash-L201W АА	Фиг. 16BE
SEQ ID NO: 180	PDI-B Vic ДНК	Фиг. 16BF
SEQ ID NO: 181	PDI-B Vic АА	Фиг. 16BG
SEQ ID NO: 182	PDI-B Vic-G138A ДНК	Фиг. 16BH
SEQ ID NO: 183	PDI-B Vic-G138A АА	Фиг. 16BI
SEQ ID NO: 184	PDI-B Vic-S140A ДНК	Фиг. 16BJ
SEQ ID NO: 185	PDI-B Vic-S140A АА	Фиг. 16BK
SEQ ID NO: 186	PDI-B Vic-S142A ДНК	Фиг. 16BL
SEQ ID NO: 187	PDI-B Vic-S142A АА	Фиг. 16BM
SEQ ID NO: 188	PDI-B Vic-D193G ДНК	Фиг. 16BN
SEQ ID NO: 189	PDI-B Vic-D193G АА	Фиг. 16BO
SEQ ID NO: 190	PDI-B Vic-L201A ДНК	Фиг. 16BP
SEQ ID NO: 191	PDI-B Vic-L201A АА	Фиг. 16BQ
SEQ ID NO: 192	PDI-B Vic-L201W ДНК	Фиг. 16BR
SEQ ID NO: 193	PDI-B Vic-L201W АА	Фиг. 16BS
SEQ ID NO: 194	PDI-H1 Bris ДНК	Фиг. 13I
SEQ ID NO: 195	PDI-H1 Bris АА	Фиг. 13J

SEQ ID NO: 196	PDI-H1 Bris-Y98F ДНК	Фиг. 13K
SEQ ID NO: 197	PDI-H1 Bris-Y98F AA	Фиг. 13L
SEQ ID NO: 198	PDI-H5 Indo ДНК	Фиг. 15E
SEQ ID NO: 199	PDI-H5 Indo AA	Фиг. 15F
SEQ ID NO: 200	IF-H5ITMCT.s1-4r	Фиг. 15G
SEQ ID NO: 201	PDI-H5 Indo-Y91F ДНК	Фиг. 15H
SEQ ID NO: 202	PDI-H5 Indo-Y91F AA	Фиг. 15I
SEQ ID NO: 203	Эталонная последовательность H1 (H1 A/California/07/2009)	Фиг. 16BT
SEQ ID NO: 204	Эталонная последовательность H3 (H3 A/Kansas/14/2017)	Фиг. 16BU
SEQ ID NO: 205	Эталонная последовательность H5 (A/Indonesia/05/2005)	Фиг. 16BV
SEQ ID NO: 206	Эталонная последовательность H7 (H7 A/Shanghai/2/2013)	Фиг. 16BW
SEQ ID NO: 207	Эталонная последовательность B (B/Phuket/3073/2013)	Фиг. 16BX
SEQ ID NO: 208	Эталонная последовательность B (B/Maryland/15/2016)	Фиг. 16BY
SEQ ID NO: 209	Эталонная последовательность B (B/Victoria/705/2018)	Фиг. 16BZ

[00169] Данное изобретение будет дополнительно проиллюстрировано следующими примерами.

Пример 1: Конструкты

[00170] Конструкты НА гриппа получали с использованием методов, хорошо известных в данной области. Например, H1 A-California-07-09 НА, H1 A-California-7-09 (Y91F) НА, H3 A-Kansas-14-2017 НА, B-Phuket-3073-2013 НА и B-Phuket-3073-2013(S140A) НА клонировали, как описано ниже. Другие модифицированные НА были получены с использованием аналогичных методик, а праймеры, матрицы и продукты последовательностей НА описаны ниже. Сводная информация о белках НА дикого типа и мутантных НА, праймерах, матрицах, акцептирующих векторах и продуктах представлена в Таблицах 4 и 5 ниже.

Пример 1.1: 2X35S/CPMV 160/ PDISP-HA0 H1 A-California-7-09/ NOS (Конструкт номер 1314)

[00171] Последовательность, кодирующую зрелый HA0 из HA гриппа из A/California/7/09, слитого с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием следующего метода на основе ПЦР. Фрагмент, содержащий кодирующую последовательность PDISP-A/California/7/09, амплифицировали с использованием праймеров IF-CPMV(fl5'UTR)_SpPDI.c (SEQ ID NO:3) и IF-H1cTMCT.S1-4r (SEQ ID NO: 4), используя нуклеотидную последовательность PDISP-H1 A/California/7/09 (SEQ ID NO:1) в качестве матрицы. Продукт ПЦР клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием системы клонирования In-Fusion (Clontech, Mountain View, CA). Конструкт номер 1190 (Фиг. 17A, 23A) расщепляли ферментами рестрикции SacII и StuI и линейаризованную плазмиду использовали для реакции сборки In-Fusion. Конструкт номер 1190 представляет собой акцепторную плазмиду, предназначенную для клонирования «In Fusion» представляющих интерес генов в каскаде экспрессии на основе 2X35S/CPMV 160/NOS. Он также включает генный конструкт для совместной экспрессии супрессора сайленсинга TBSV P19 под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны. Основа представляет собой бинарную плазмиду pCAMBIA, а последовательность слева направо от границ т-ДНК представлена в SEQ ID NO:5. Полученному конструкту был присвоен номер 1314 (SEQ ID NO:6). Аминокислотная последовательность зрелого HA0 из HA0 гриппа из A/California/7/09, слитого с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), представлена в SEQ ID NO:2. Пример плазмиды 1314 представлен на Фиг. 12A, 23B.

Пример 1.2: 2X35S/CPMV 160/ PDISP-HA0 H1 A-California-7-09 (Y91F)/ NOS (Конструкт номер 6100)

[00172] Последовательность, кодирующую зрелый HA0 из HA0 вируса гриппа A/California/7/09 (Y91F), слитого с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием следующего метода на основе ПЦР. В первом цикле ПЦР фрагмент, содержащий PDISP-H1 A/California/7/09 с мутированной аминокислотой Y91F, амплифицировали с использованием праймеров IF-CPMV(fl5'UTR)_SpPDI.c (SEQ ID NO:3) и H1_Cal(Y91F).r (SEQ ID NO:7) с использованием последовательности гена PDISP-H1 A/California/7/09 (SEQ ID NO: 1) в качестве матрицы. Второй фрагмент, содержащий мутацию Y91F с оставшейся частью H1

A/California/7/09, амплифицировали с использованием H1_Cal(Y91F).c (SEQ ID NO:8) и IF-H1cTMCT.S1-4r (SEQ ID NO:4), используя нуклеотидную последовательность PDISP-H1 A/California/07/09 (SEQ ID NO:1) в качестве матрицы. Затем продукты ПЦР обеих амплификаций смешивали и использовали в качестве матрицы для второго раунда амплификации с использованием IF-CPMV(f15'UTR)_SpPDI.c (SEQ ID NO:3) и IF-H1cTMCT.S1-4r (SEQ ID NO:4) в качестве праймера. Конечный продукт ПЦР клонировали в системе экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием системы клонирования In-Fusion (Clontech, Mountain View, CA). Конструкт номер 3637 (Фиг. 17А, 23С) расщепляли ферментами рестрикции SacII и StuI и линейаризованную плазмиду использовали для реакции сборки In-Fusion. Конструкт номер 3637 представляет собой акцепторную плазмиду, предназначенную для клонирования In-Fusion представляющих интерес генов в каскаде экспрессии на основе 2X35S/CPMV 160/NOS. Он также включает генную конструкцию для совместной экспрессии супрессора сайленсинга TBSV P19 под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны. Скелет представляет собой бинарную плазмиду pCambia, а последовательность слева направо от границ т-ДНК представлена в SEQ ID NO:9. Полученному конструкту был присвоен номер 6100 (SEQ ID NO:10). Аминокислотная последовательность мутантного PDISP-HA из A/California/07/09 (Y91F) представлена в SEQ ID NO:12. Пример плазмиды 6100 представлен на Фиг. 12А, 23D.

Пример 1.3: 2X35S/CPMV 160/ PDISP-HA0 H3 A-Kansas-14-2017/ NOS (Конструкт номер 7281)

[00173] Последовательность, кодирующую зрелый HA0 из HA0 гриппа из H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V, CysTM), слитого с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), клонировали в экспрессионную систему 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием следующий метод на основе ПЦР. Фрагмент, содержащий H3 A-Kansas-14-2017 с мутированными аминокислотами N382A и L384V, амплифицировали с использованием праймеров IF-H3NewJer.c (SEQ ID NO: 62) и IF-H3_Swi_13.r (SEQ ID NO: 63), с использованием последовательности гена PDISP-H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V, CysTM) (SEQ ID NO: 60) в качестве матрицы. Конечный продукт ПЦР клонировали в системе экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием системы клонирования In-Fusion (Clontech, Mountain View, CA). Конструкт номер 4499 (Фиг. 17В, 23G) расщепляли рестриктазами AatII и StuI и линейаризованную плазмиду использовали для реакции сборки In-Fusion. Конструкт номер 4499 представляет собой акцепторную плазмиду, предназначенную для клонирования «In-Fusion» представляющих интерес генов в каскаде

экспрессии на основе 2X35S/CPMV 160/NOS. Он включает сигнальный пептид секреции PDI люцерны (PDISP) и включает генный конструкт для совместной экспрессии супрессора сайленсинга P19 TBSV под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны и гена ионного канала M2 гриппа под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны. Скелет представляет собой бинарную плазмиду pCAMBIA, а последовательность слева направо от границ т-ДНК представлена в SEQ ID NO: 56. Полученному конструкту был присвоен номер 7281 (SEQ ID NO: 58). Аминокислотная последовательность PDISP-НА из H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V, CysTM) представлена в SEQ ID NO: 61. Пример плазмиды 7281 представлен на Фиг. 13А, 23I.

Пример 1.4: 2X35S/CPMV 160/ PDISP-НА0 H3 A-Kansas-14-2017/ NOS (Конструкт номер 8179)

[00174] Последовательность, кодирующую зрелый НА0 из НА0 вируса гриппа из H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+N382A+L384V, CysTM), связанную с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS используя следующий метод на основе ПЦР. В первом цикле ПЦР фрагмент, содержащий H3 A-Kansas-14-2017 с мутированной аминокислотой Y98F, амплифицировали с использованием праймеров IF-H3NewJer.c (SEQ ID NO: 62) и H3_Kansas(Y98F).r (SEQ ID NO: 67), используя последовательность гена PDISP-H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V, CysTM) (SEQ ID NO: 60) в качестве матрицы. Второй фрагмент, содержащий остаток H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V, CysTM), амплифицировали с использованием H3_Kansas(Y98F).c (SEQ ID NO: 66) и IF-H3_Swi_13.r (SEQ ID NO: 63), используя последовательность гена PDISP-H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V, CysTM) (SEQ ID NO: 60) в качестве матрицы. Затем продукты ПЦР обеих амплификаций смешивали и использовали в качестве матрицы для второго раунда амплификации с использованием IF-H3NewJer.c (SEQ ID NO: 62) и IF-H3_Swi_13.r (SEQ ID NO: 63) в качестве праймеров. Конечный продукт ПЦР клонировали в системе экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием системы клонирования In-Fusion (Clontech, Mountain View, CA). Конструкт номер 4499 (Фиг. 17B, 23G) расщепляли рестриктазами AatII и StuI и линейаризованную плазмиду использовали для реакции сборки In-Fusion. Конструкт номер 4499 представляет собой акцепторную плазмиду, предназначенную для клонирования In-Fusion представляющих интерес генов в cassette экспрессии на основе 2X35S/CPMV 160/NOS. Он включает сигнальный пептид секреции PDI люцерны (PDISP) и включает генный конструкт для совместной экспрессии супрессора сайленсинга TBSV P19 под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина

люцерны и гена ионного канала M2 гриппа под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны. Основа представляет собой бинарную плазмиду pCAMBIA, а последовательность слева направо от границ т-ДНК представлена в SEQ ID NO: 56. Полученному конструкту был присвоен номер 8179 (SEQ ID NO: 59). Аминокислотная последовательность PDISP-HA из H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+N382A+L384V, CysTM) представлена в SEQ ID NO: 65. Пример плазмиды 8179 представлен на Фиг. 13А, 23J.

Пример 1.5: 2X35S/CPMV 160/ PDISP-HA0 B-Phuket-3073-2013 NOS (Конструкт номер 2835)

[00175] Последовательность, кодирующую зрелый HA0 из HA вируса гриппа из B/Phuket/3073/2013 с удаленной протеолитической петлей, связывали с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP) и клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием следующей метод на основе ПЦР. Фрагмент, содержащий кодирующую последовательность B/Phuket/3073/2013(PrL-), амплифицировали с использованием праймеров IF.HBPhu3073.c (SEQ ID NO:29) и IF-H1cTMCT.S1-4r (SEQ ID NO:4), используя нуклеотидную последовательность PDISP-B/Phuket/3073/2013(PrL-) (SEQ ID NO:27) в качестве матрицы. Продукт ПЦР клонировали в системе экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием системы клонирования In-Fusion (Clontech, Mountain View, CA). Конструкт номер 2530 (Фиг. 17B, 23E) расщепляли ферментом рестрикции AatII и линейаризованную плазмиду использовали для реакции сборки In-Fusion. Конструкт номер 2530 представляет собой акцепторную плазмиду, предназначенную для клонирования «In-Fusion» представляющих интерес генов в кассете экспрессии на основе 2X35S/CPMV 160/NOS. Он включает сигнальный пептид секреции PDI люцерны (PDISP) и включает генный конструкт для совместной экспрессии супрессора сайленсинга TBSV P19 под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны и гена ионного канала M2 гриппа под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны. Основа представляет собой бинарную плазмиду pCAMBIA, а последовательность слева направо от границ т-ДНК представлена в SEQ ID NO:54. Полученному конструкту был присвоен номер 2835 (SEQ ID NO:55). Аминокислотная последовательность зрелого HA0 из HA гриппа из B/Phuket/3073/2013(PrL-), слитого с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), представлена в SEQ ID NO:28. Пример плазмиды 2835 представлен на Фиг. 16А, 23F.

Пример 1.6: 2X35S/CPMV 160/ PDISP-HA0 B-Phuket-3073-2013(S140A)/ NOS (Конструкт номер 8352)

[00176] Последовательность, кодирующую зрелый HA0 из HA гриппа из B/Phuket/3073/2013 (PrL-, S140A), связанную с сигнальным пептидом секреции PDI люцерны (PDISP), клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием следующего метода на основе ПЦР. В первом цикле ПЦР фрагмент, содержащий PDISP-B/Phuket/3073/2013(PrL-) с мутированной аминокислотой S140A, амплифицировали с использованием праймеров IF.HBPhu3073.c (SEQ ID NO:29) и B_Phuket(S140A).r (SEQ ID NO:31) с использованием последовательности гена PDISP-B/Phuket/3073/2013(PrL-) (SEQ ID NO:27) в качестве матрицы. Второй фрагмент, содержащий мутацию S140A с остатком B/Phuket/3073/2013(PrL-), амплифицировали с использованием B_Phuket(S140A).c (SEQ ID NO:30) и IF-H1cTMCT.S1-4r (SEQ ID NO:4), используя последовательность гена PDISP-B/Phuket/3073/2013(PrL-) (SEQ ID NO:27) в качестве матрицы. Затем продукты ПЦР обеих амплификаций смешивали и использовали в качестве матрицы для второго раунда амплификации с использованием IF.HBPhu3073.c (SEQ ID NO:29) и IF-H1cTMCT.S1-4r (SEQ ID NO:4) в качестве праймеров. Конечный продукт ПЦР клонировали в систему экспрессии 2X35S/CPMV 160/NOS с использованием системы клонирования In-Fusion (Clontech, Mountain View, CA). Конструкт номер 4499 (Фиг. 17B, 23G) расщепляли рестриктазами AatII и StuI и линейаризованную плазмиду использовали для реакции сборки In-Fusion. Конструкт номер 4499 представляет собой акцепторную плазмиду, предназначенную для клонирования «In-Fusion» представляющих интерес генов в кассете экспрессии на основе 2X35S/CPMV 160/NOS. Он также включает генный конструкт для коэкспрессии супрессора сайленсинга TBSV P19 под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны и гена ионного канала M2 гриппа под контролем промотора и терминатора гена пластоцианина люцерны. Основа представляет собой бинарную плазмиду pCAMBIA, а последовательность слева направо от границ т-ДНК представлена в SEQ ID NO:56. Полученному конструкту был присвоен номер 8352 (SEQ ID NO:57). Аминокислотная последовательность мутантного PDISP-HA из B/Phuket/3073/2013 (PrL-, S140A) представлена в SEQ ID NO:33. Пример плазмиды 8352 представлен на Фиг. 16A, 23H.

[00177] Перечень белков HA дикого типа и мутированных, праймеров, матриц, акцептирующих векторов и продуктов представлен в Таблицах 4 и 5 ниже.

Таблица 4: Праймеры, использованные для получения конструкторов, как описано в данном документе

SEQ ID NO:	Идентификатор	Последовательность
3	IF-CPMV(f15'UTR)_SpPDI.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGGCGAAA AACGTTGCGATTTTCGGCT
4	IF-H1cTMCT.S1-4r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTAAATACATATT CTACACTGTAGAGAC
7	H1_Cal(Y91F).r	AAATCTCCTGGGAAACACGTTCCATTGTCTG AACTAGGTGTTTCCACAA
8	H1_Cal(Y91F).c	AGACAATGGAACGTGTTTCCCAGGAGATTTC ATCGATTATGAGGAGCTA
15	IF-H5ITMCT.s1-4r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTAAATGCAAATT CTGCATTGTAACGATCCAT
16	H5Indo(Y91F).c	AACCAATGACCTCTGTTTCCCAGGGAGTTTC AACGACTATGAAGAACTGAA
17	H5Indo(Y91F).r	GAAACTCCCTGGGAAACAGAGGTCATTGGT TGGATTGGCCTTCTCCACTATGTAAGA
22	IF-H7Shang.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTATATACAAATA GTGCACCGCATGTTTCCAT
23	H7Shang(Y88F).c	AGGAAGTGATGTCTGTTTCCCTGGGAAATTC GTGAATGAAGAAGCTCTGA
24	H7Shang(Y88F).r	ACGAATTTCCCAGGGAAACAGACATCACTTC CTTCTCGCCTCTCAATAAT
29	IF.HBPhu3073.c	TCTCAGATCTTCGCGGATCGAATCTGCACTG GGATAACATCTTCAAACCTCAC
30	B_Phuket(S140A).c	GACCCTACAGACTTGGAACCGCCGGATCTTG CCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTT
31	B_Phuket(S140A).r	CGTTAGGGCAAGATCCGGCGGTTCCAAGTCT GTAGGGTCCTCCTGGTGCTTTTCTG
34	B_Phuket(S142A).c	TGGAACCTCAGGAGCCTGCCCTAACGCTACC AGTAAAATCGGATTTTTTGCAACAATG
35	B_Phuket(S142A).r	TGGTAGCGTTAGGGCAGGCTCCTGAGGTTC AAGTCTGTAGGGTCCTC
38	B_Phuket(G138A).c	GACCCTACAGACTTGCCACCTCAGGATCTTG CCCTAACGCTACCAGTAA
39	B_Phuket(G138A).r	GGCAAGATCCTGAGGTGGCAAGTCTGTAGG

SEQ ID NO:	Идентификатор	Последовательность
		GTCCTCCTGGTGCTTTTTCTG
42	B_Phuket(L203A).c	CCCAAATGAAGAGCGCCTATGGAGACTCAA ATCCTCAAAAAGTTCACCTC
43	B_Phuket(L203A).r	GATTTGAGTCTCCATAGGCGCTCTTCATTTG GGTTTTGTTATCCGAAT
46	B_Phuket(D195G).c	GGGGGTTCATTTCGGGCAACAAAACCCAAA TGAAGAGCCTCTATGGAGA
47	B_Phuket(D195G).r	TCATTTGGGTTTTGTGTTGCCCGAATGGAACCC CCAAACAGTAATTTGGT
50	B_Phuket(L203W).c	CCCAAATGAAGAGCTGGTATGGAGACTCAA ATCCTCAAAAAGTTCACCTC
51	B_Phuket(L203W).r	GATTTGAGTCTCCATACCAGCTCTTCATTTG GGTTTTGTTATCCGAAT
62	IF-H3NewJer.c	TCTCAGATCTTCGCGCAAAAAATCCCTGGAA ATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGC
63	IF-H3_Swi_13.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCAAATGCAAAT GTTGCACCTAATGTTGCCCTT
66	H3_Kansas(Y98F).c	CCTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCC GGATTATGCCTCCCTTA
67	H3_Kansas(Y98F).r	CCGGCACATCATAAGGGAAACAGTTGCTGT AGGCTTTGTTTCGTTCAACA
70	H3Kansas(S136D).c	AAACGGAACAGACTCTTCTTGCATAAGGGG ATCTAAGAGTAGTTTCTT
71	H3Kansas(S136D).r	CAAGAAGAGTCTGTTCCGTTTTGAGTGACTC CAGCCCAATTGAAGCTTTC
74	H3Kansas(S136N).c	AAACGGAACAAACTCTTCTTGCATAAGGGG ATCTAAGAGTAGTTTCTT
75	H3Kansas(S136N).r	CAAGAAGAGTTTGTTCCGTTTTGAGTGACTC CAGCCCAATTGAAGCTTTC
78	H3Kansas(S137N).c	CGGAACAAGTAACTCTTGCATAAGGGGATC TAAGAGTAGTTTCTTTAGTAG
79	H3Kansas(S137N).r	ATGCAAGAGTTACTTGTTCCGTTTTGAGTGA CTCCAGCCCAATTGAAGCTTTCAT
82	H3Kansas(D190G).c	TACGGACAAGGGCCAAATCAGCCTGTATGC ACAATCATCAGGAAGAATC

SEQ ID NO:	Идентификатор	Последовательность
83	H3Kansas(D190G).r	CTGATTTGGCCCTTGTCCGTACCCGGGTGGT GAACCCCCCAAATGTAC
86	H3Kansas(D190K).c	TACGGACAAGAAGCAAATCAGCCTGTATGC ACAATCATCAGGAAGAATC
87	H3Kansas(D190K).r	CTGATTTGCTTCTTGTCCGTACCCGGGTGGT GAACCCCCCAAATGTAC
90	H3Kansas(R222W).c	ATCTAGACCCTGGATAAGGGATATCCCTAGC AGAATAAGCATCTATTGGA
91	H3Kansas(R222W).r	TCCCTTATCCAGGGTCTAGATCCGATATTCTG GGATTACAGCTTGTTGGC
94	H3Kansas(S228N).c	GGATATCCCTAACAGAATAAGCATCTATTGG ACAATAGTAAAACCGGGAGA
95	H3Kansas(S228N).r	CTTATTCTGTTAGGGATATCCCTTATTCTGG GTCTAGATCCGATATTCGGG
98	H3Kansas(S228Q).c	GGATATCCCTCAGAGAATAAGCATCTATTGG ACAATAGTAAAACCGGGAGACATA
99	H3Kansas(S228Q).r	CTTATTCTCTGAGGGATATCCCTTATTCTGG GTCTAGATCCGATATTCGGG
102	IF-H1_Cal-7-09.c	TCTCAGATCTTCGCGGACACATTATGTATAG GTTATCATGCGAACAAT
103	IF-H1cTMCT.s1-4r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTAAATACATATT CTACACTGTAGAGAC
106	H1_Idaho(Y91F).c	ACAATGGAACGTGTTTCCCAGGAGATTTCAT CAATTATGAGGAGCTAA
107	H1_Idaho(Y91F).r	TGATGAAATCTCCTGGGAAACACGTTCCATT GTCTGAATTAGATGTTT
139	IF-B-Bris(nat).c	tctcagatcttcgcgatcgaatctgcactgggataacatcgtaaactc
200	IF-H5ITMCT.s1-4r	actaaagaaaataggcctttaaatgcaaattctgcattgtaacgatccat

Таблица 5: Праймеры, матрицы, акцепторные плазмиды, используемые для получения описанных в данном документе конструкторов

Интересующая нуклеиновая кислота	Конст. №	P1*	P2**	P3***	P4****	PCR1#	NA##	Белок~	Акцепторная плазмида
		SEQ ID NO:							
H1 A/California/7/2009	1314	3	4	-	-	1	1	2	1190 (SacII-StuI)
H1 A/California/7/2009 (Y91F)	6100	3	7	8	4	1	11	12	3637 (SacII-StuI)
H5 A/Indonesia/5/2005	2295	3	15	-	-	13	13	14	1190 (SacII-StuI)
H1 A/Idaho/07/2018	4795	3	103	-	-	100	100	101	3637 (SacII-StuI)
H1 A/Idaho/07/2018 (Y91F)	8177	3	107	106	103	100	104	105	3637 (SacII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (N382A+L384V)	7281	62	63	-	-	60	60	61	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+N382A+L384V)	8179	62	67	66	63	60	64	65	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+S136D+N382A+L384V)	8384	62	70	71	63	64	68	69	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+S136N+N382A+L384V)	8385	62	75	74	63	64	72	73	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+S137N+N382A+L384V)	8387	62	79	78	63	64	76	77	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+D190G+N382A+L384V)	8388	62	83	82	63	64	80	81	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+D190K+N382A+L384V)	8389	62	87	86	63	64	84	85	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017	8391	62	91	90	63	64	88	89	4499 (AatII-StuI)

(Y98F+R222W+N382A+L384V)									
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+S228N+N382A+L384V)	8392	62	95	94	63	64	92	93	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (Y98F+S228Q+N382A+L384V)	8393	62	99	98	63	64	96	97	4499 (AatII-StuI)
H5 A/Indonesia/5/2005 (Y91F)	6101	3	17	16	15	13	18	19	3637 (SacII-StuI)
H7 A/Shanghai/2/2013	6102	3	22	-	-	20	20	21	3637 (SacII-StuI)
H7 A/Shanghai/2/2013 (Y88F)	6103	3	24	23	22	20	25	26	3637 (SacII-StuI)
B/Phuket/3073/2013	2835	29	4	-	-	27	27	28	2530 (AatII)
B/Phuket/3073/2013 (S140A, PrL-)	8352	29	31	30	4	27	32	33	4499 (AatII-StuI)
B/Phuket/3073/2013 (S142A, PrL-)	8354	29	35	34	4	27	36	37	4499 (AatII-StuI)
B/Phuket/3073/2013 (G138A, PrL-)	8358	29	39	38	4	27	40	41	4499 (AatII-StuI)
Интересующая нуклеиновая кислота	Конст. №	P1*	P2**	P3***	P4****	PCR1#	NA##	Белок~	Акцепторная плазмида
		SEQ ID NO:							
B/Phuket/3073/2013 (L203A, PrL-)	8363	29	43	42	4	27	44	45	4499 (AatII-StuI)
B/Phuket/3073/2013 (D195G, PrL-)	8376	29	47	46	4	27	48	49	4499 (AatII-StuI)
B/Phuket/3073/2013 (L203W, PrL-)	8382	29	51	50	4	27	52	53	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (S136D)	8477	62	71	70	63	60	111	112	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (S136N)	8478	62	75	74	63	60	113	114	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (D190K)	8481	62	87	86	63	60	115	116	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (R222W)	8482	62	91	90	63	60	117	118	4499 (AatII-StuI)
H3 A/Kansas/14/2017 (S228N)	8483	62	95	94	63	60	119	120	4499 (AatII-StuI)

H3 A/Kansas/14/2017 (S228Q)	8484	62	99	98	63	60	121	122	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016	2879	29	103	-	-	123	123	124	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (G138A)	8485	29	103	-	-	125	125	126	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (S140A)	8486	29	103	-	-	127	127	128	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (S142A)	8487	29	103	-	-	129	129	130	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (D195G)	8488	29	103	-	-	131	131	132	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (L203A)	8489	29	103	-	-	133	133	134	4499 (AatII-StuI)
B/Singapore/INFKK-16-0569/2016 (L203W)	8490	29	103	-	-	135	135	136	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016	6791	139	103	-	-	137	137	138	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016 (G138A)	8434	139	103	-	-	140	140	141	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016 (S140A)	8435	139	103	-	-	142	142	143	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016 (S142A)	8436	139	103	-	-	144	144	145	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016 (D194G)	8437	139	103	-	-	146	146	147	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016 (L202A)	8438	139	103	-	-	148	148	149	4499 (AatII-StuI)
B/Maryland/15/2016 (L202W)	8439	139	103	-	-	150	150	151	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019	7679	139	103	-	-	152	152	153	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019 (G138A)	8440	139	103	-	-	154	154	155	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019 (S140A)	8441	139	103	-	-	156	156	157	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019 (S142A)	8442	139	103	-	-	158	158	159	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019 (D193G)	8443	139	103	-	-	160	160	161	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019 (L201A)	8444	139	103	-	-	162	162	163	4499 (AatII-StuI)
B/Washington/02/2019 (L201W)	8445	139	103	-	-	164	164	165	4499 (AatII-StuI)
B/Darwin/20/2019	8333	139	103	-	-	166	166	167	4499 (AatII-StuI)

B/Darwin/20/2019 (G138A)	8458	139	103	-	-	168	168	169	4499 (AatII-StuI)
B/Darwin/20/2019 (S140A)	8459	139	103	-	-	170	170	171	4499 (AatII-StuI)
B/Darwin/20/2019 (S142A)	8460	139	103	-	-	172	172	173	4499 (AatII-StuI)
B/Darwin/20/2019 (D193G)	8461	139	103	-	-	174	174	175	4499 (AatII-StuI)
B/Darwin/20/2019 (L201A)	8462	139	103	-	-	176	176	177	4499 (AatII-StuI)
B/Darwin/20/2019 (L201W)	8463	139	103	-	-	178	178	179	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018	8150	139	103	-	-	180	180	181	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018 (G138A)	8446	139	103	-	-	182	182	183	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018 (S140A)	8447	139	103	-	-	184	184	185	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018 (S142A)	8448	139	103	-	-	186	186	187	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018 (D193G)	8449	139	103	-	-	188	188	189	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018 (L201A)	8450	139	103	-	-	190	190	191	4499 (AatII-StuI)
B/Victoria/705/2018 (L201W)	8451	139	103	-	-	192	192	193	4499 (AatII-StuI)
H1 A/Brisbane/02/2018	6722	3	103	-	-	194	194	195	3637 (SacII-StuI)
H1 A/Brisbane/02/2018 (Y91F)	8433	3	103	-	-	196	196	197	3637 (SacII-StuI)
H5 A/Indonesia/5/05	2295	3	200	-	-	198	198	199	1190 (SacII-StuI)
H5 A/Indonesia/5/05 (Y91F)	6101	3	200	-	-	201	201	202	3637 (SacII-StuI)

* Праймер 1 (прямой праймер фрагмента 1), ** Праймер 2 (обратный праймер фрагмента 1), *** Праймер 3 (прямой праймер фрагмента 2, если необходимо), ****

Праймер 4 (обратный праймер фрагмента 2, если необходимо)

Матрица для первого ПЦР

Полученная нуклеиновая кислота

~ Полученный белок

Пример 2: VLP, полученные из растений, содержащие исходный НА и модифицированный НА

[00178] Вирусоподобные частицы, несущие исходный или модифицированный НА, получали и очищали, как описано ранее (WO 2020/000099, который включен в данный документ в качестве ссылки). Вкратце, растения *N. benthamiana* (возраст 41–44 дня) подвергали вакуумной инфльтрации партиями с инокулятом *Agrobacterium*, несущим экспрессионные кассеты либо исходного НА, либо модифицированного НА. Через шесть дней после инфльтрации надземные части растений собирали и хранили при -80°C до очистки. Замороженные листья растений гомогенизировали в одном объеме буфера [50 mM Трис, 150 mM NaCl, 0,04% (м/об) Na₂S₂O₅, pH 8,0]/кг биомассы. Гомогенат продавливали через нейлоновый фильтр с размером пор 400 мкм и жидкость удерживали. Фильтраты очищали центрифугированием при 5000 g и фильтрованием (стекловолокно 1,2 мкм, 3M Zeta Plus, фильтр 0,45-0,2 мкм), а затем концентрировали центрифугированием (75000 g, 20 мин). VLP дополнительно концентрировали и очищали ультрацентрифугированием в градиенте плотности йодиксанола (120000×g, 2 часа). Фракции, богатые VLP, объединяли и подвергали диализу против 50 mM NaPO₄, 65 mM NaCl, 0,01% Tween 80 (pH 6,0). Этот осветленный экстракт собирали на колонке Poros HS (Thermo Scientific), уравновешенной 50 mM NaPO₄, 1 M NaCl, 0,005% Tween 80. После промывки 25 mM Tris, 0,005% Tween 80 (pH 8,0) VLP элюировали 50 mM NaPO₄, 700 mM NaCl, 0,005% Tween 80 (pH 6,0). Очищенные VLP подвергали диализу против композиции буфера (100 mM NaKPO₄, 150 mM NaCl, 0,01% Tween 80 (pH 7,4)) и пропускали через фильтр 0,22 мкм для стерилизации.

[00179] Состав композиций VLP определяли с помощью гель-электрофореза с последующим окрашиванием Кумасси и вестерн-блоттингом. Обе композиции VLP в основном состоят из нерасщепленной формы НА (НА0). Чистоту определяли денситометрическим анализом окрашенных гелей и использовали для расчета общего содержания НА [общий белок (BCA) x % чистоты]. Чистота композиций была около 95%.

[00180] VLP, содержащие немодифицированный или модифицированный НА, визуализировали на образование частиц и морфологию с помощью электронной микроскопии. Примеры электронных микрофотографий для VLP, содержащих либо немодифицированный, либо модифицированный НА из H1/Brisbane, H3/Kansas, B/Phuket

[00181] и B/Maryland показаны на Фиг. 1С. Различий между VLP, содержащими немодифицированный или модифицированный НА, не наблюдалось. Продуцирование VLP

также была подтверждено для H1/California, H1/Idaho, B/Singapore and B/Washington (данные не показаны).

H1 HA

[00182] Выход VLP, содержащих модифицированный HA, продуцированный в растении, был аналогичен или превышал выход соответствующего исходного или немодифицированного HA для VLP, содержащих модифицированный H1 A/Idaho/07/2018 (H1 Idaho Y91F; Фиг. 2A). Однако модифицированный H1-HA продемонстрировал значительное снижение активности гемагглютинации (выраженное в виде титра HA), как показано на Фиг. 2B.

[00183] Выход и активность гемагглютинации дополнительно оценивали в VLP, содержащих H1 A/Brisbane/02/2018 или H1 A/Brisbane/02/2018 Y91F (Фиг. 2C и 2D). Мутация Y91F в VLP штамма H1/Brisbane вируса гриппа А приводит к потере связывания (потеря титра HA в анализе гемагглютинации) без влияния на выход (отображено с точки зрения кратности изменения, измеренного с помощью анализа WES на экстрактах неочищенной биомассы).

H3 HA

[00184] Выход VLP, содержащих модифицированный HA, продуцированный в растении, был аналогичен или превышал выход соответствующих исходных или немодифицированных HA для VLP, содержащих модифицированные серии модифицированных H3 Kansas/14/2017 HAs (H3 Kansas Y98F; H3 Kansas Y98F, S136D; H3 Kansas Y98F, S136N; H3 Kansas Y98F, S137N; H3 Kansas Y98F, D190G; H3 Kansas Y98F, D190K; H3 Kansas Y98F, R222W; H3 Kansas Y98F, S228N; H3 Kansas Y98F, S228Q; Фиг. 3A). Однако серия модифицированных H3 HA (за исключением H3 Kansas Y98F) продемонстрировала значительное снижение активности гемагглютинации (выраженное в виде титра HA), как показано на Фиг. 3B.

[00185] Выход и активность гемагглютинации дополнительно оценивали в серии VLP, содержащих модифицированный H3 Kansas/14/2017 с одиночными несвязывающими мутациями-кандидатами S136D, S136N, D190K, R222W, S228N и S228Q (Фиг. 3C и 3D). Несвязывающие кандидаты штамма H3/Kansas гриппа-А приводят к потере связывания (потеря титра HA в анализе гемагглютинации), за исключением R222W, без потери выхода

(изображено в виде кратного изменения, измеренного с помощью анализа WES на неочищенных экстрактах биомассы). Мутация R222W в отсутствие Y98F приводит к восстановлению связывания, что согласуется с данными, представленными для штамма H3/Aichi в Bradley et al. (2011, J. Virol 85:12387-12398), где триптофан (W) в остатке 222 присутствует в НА дикого типа, и связывание было утрачено при введении мутации Y98F.

В НА

[00186] Выход VLP, содержащих модифицированный НА, продуцируемых в растении, был аналогичен или превышал выход соответствующего исходного или немодифицированного НА для VLP, содержащих модифицированные НА В Phuket/3073/2013 (В Phu S140A; В Phu S142A; В Phu G138A; В Phu L203A; В Phu D195G; В Phu L203W; Фиг. 4A). Однако серия модифицированных В НА продемонстрировала значительное снижение активности гемагглютинации (выраженное как титр НА), как показано на Фиг. 4B.

[00187] Выход и активность гемагглютинации дополнительно оценивали в серии VLP, содержащих немодифицированную или модифицированную одиночную мутацию НА В Singapore-INFKK-16-0569-2016 (G138A, S140A, S142A, D195G, L203A или L203W; Фиг. 4C и 4D, n=6), немодифицированная или модифицированная одиночная мутация НА В Maryland-15-2016 (G138A, S140A, S142A, D194G, L202A или L202W; Фиг. 4E и 4F, n=6), немодифицированная или модифицированная одиночная мутация НА В Washington-02-2019 (G138A, S140A, S142A, D193G, L201A или L201W; Фиг. 4G и 4H, n=6), немодифицированная или модифицированная одиночная мутация НА В Darwin-20-2019 (G138A, S140A, S142A, D193G, L201A или L201W; Фиг. 4I и 4J, n=6), или немодифицированная или модифицированная одиночная мутация НА В Victoria-705-2018 (G138A, S140A, S142A, D193G, L201A или L201W; Фиг. 4K и 4L, n=6). Несвязывающие кандидаты НА В Singapore-INFKK-16-0569-2016, НА В Maryland-15-2016, НА В Washington-02-2019, НА В Darwin-20-2019 и НА В Victoria-705-2018 каждый приводит к потере связывания (потеря титра НА в анализе гемагглютинации) без потери выхода (изображено в виде кратного изменения, измеренного с помощью анализа WES на экстрактах неочищенной биомассы).

H5 НА

[00188] Активность гемагглютинации оценивали для VLP, содержащих либо H5 A/Indonesia/5/05, либо модифицированный Y91F H5 A/Indonesia/5/05. VLP, содержащие модифицированный Y91F H5 A/Indonesia/5/05, продемонстрировали значительное снижение активности гемагглютинации (выраженное в виде титра HA), как показано на Фиг. 4M. Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг VLP, включающих H5 A/Indonesia/5/05 или модифицированный Y91F H5 A/Indonesia/5/05, и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Собирали сыворотку и измеряли титры HI на 4, 8 и 13 неделе. Обе VLP, содержащие H5 A/Indonesia/5/05, или модифицированный Y91F H5 A/Indonesia/5/05, приводят к одинаковым общим H5-специфическим титрам IgG, и не наблюдались различия в avidности IgG.

H7 HA

[00189] Активность гемагглютинации оценивали для VLP, содержащих либо H7 A/Shanghai/2/2013, либо модифицированный Y88F H7 A/Shanghai/2/2013. VLP, содержащая модифицированный Y88F H7 A/Shanghai/2/2013, продемонстрировала значительное снижение активности гемагглютинации (выраженное в виде титра HA), как показано на Фиг. 4N. Несвязывающиеся H7-VLP (Y88F) приводят к значительно более высоким титрам ингибирования гемагглютинации (HI) во все измеренные моменты времени, как показано на Фиг. 19A. В то время как связывающая и несвязывающая (Y88F) H7-VLP приводят к сходным общим титрам H7-специфических IgG (Фиг. 19B), несвязывающие H7-VLP приводят к усиленному созреванию avidности IgG (Фиг. 19C).

Пример 3: Материалы и методы

Пример 3.1: Субъекты-люди и изоляция PBMC

[00190] Здоровые взрослые в возрасте от 18 до 64 лет были отобраны Центром изучения вакцин Макгилла, и участники дали письменное согласие до забора крови. Этот протокол был одобрен Советом по этике исследований Медицинского центра Университета Макгилла.

[00191] PBMC человека выделяли из периферической крови центрифугированием в градиенте дифференциальной плотности в течение одного часа после взятия крови. Вкратце, кровь разбавляли 1:1 в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (Wisent) при комнатной температуре перед нанесением слоев на среду для разделения лимфоцитов (Ficoll) (Wisent). PBMC собирали с поверхности раздела Ficoll-ФСБ после центрифугирования (650×g, 45 мин, 22 °C)

и промывали 3 раза в ФСБ (320×g, 10 мин, 22 °C). Клетки ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 (Wisent) с добавлением 10% инаktivированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки (Wisent), 10 mM HEPES (Wisent) и 1 mM пенициллина/стрептомицина (Wisent).

Пример 3.2. Исследование гемагглютинации

[00192] Исследование гемагглютинации было основано на методе, описанном Nayak and Reichl (2004, J. Virol. Methods 122:9-15). Вкратце, серийные двукратные разведения испытуемых образцов (100 мкл) готовили в 96-луночных микротитровальных планшетах с V-образным дном, содержащих 100 мкл ФСБ, оставляя по 100 мкл разведенного образца на лунку. В каждую лунку добавляли сто микролитров 0,25% суспензии эритроцитов индейки (для H1) (Bio Link Inc., Syracuse, NY или Lampire Biological Laboratories) и планшеты инкубировали в течение 2-20 часов при комнатной температуре. Обратное значение максимального разведения, показывающего полную гемагглютинацию, регистрировали как активность НА. Параллельно стандарт рекомбинантной НА разводили в ФСБ и запускали в качестве контроля на каждом планшете. О гемагглютинации свидетельствовало отсутствие клеточного дебриса после этого периода.

[00193] Там, где указано, 1×10^6 РВМС человека инкубировали в течение 30 минут с 1-5 мкг VLP исходного НА (например, H1 НА) или модифицированного НА VLP (например, Y91F H1 НА), и кластеризацию клеток оценивали с помощью световой микроскопии.

Пример 3.3: Анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR)

[00194] SPR представляет собой безметочную технологию, используемую для обнаружения биомолекулярных взаимодействий на основе коллективных колебаний электронов, происходящих на границе раздела металл/диэлектрик. Изменения показателя преломления измеряются на поверхности сенсорного чипа (изменение массы), который может предоставлять данные о кинетике, равновесии и концентрации. Анализ активности на основе SPR представляет собой независимый от антител анализ связывания рецептора на основе SPR. В анализе используются приборы BiacoreTM T200 и 8K SPR от GE Healthcare Life Sciences и количественно определяется общее количество функционально активного тримерного или олигомерного белка НА в образцах вакцины путем связывания с биотинилированным синтетическим α -2,3 (птичьим) и α -2,6 (человеческим) гликаном

сиаловой кислоты, иммобилизованный на сенсорном чипе стрептавидина, как описано в Khurana et. al. (Khurana S., et. al., 2014, Vaccine 32:2188-2197).

Пример 3.4: Мыши и вакцинация

[00195] Самок мышей Balb/c иммунизировали путем инъекции в икроножную мышцу 0,5-3 мкг исходной HA-VLP или модифицированной HA VLP (всего 50 мкл в ФСБ). Мышей вакцинировали на 0-й день и ревакцинировали на 21-й день (по показаниям). Кровь отбирали из левой боковой подкожной вены до вакцинации и на 21 день после вакцинации. Сыворотки получали центрифугированием крови в пробирках для отделения сыворотки микротейнеров (Beckton Dickinson) (8000xg, 10 мин) и хранили при -20 °C до дальнейшего анализа.

[00196] Для оценки гуморального и клеточно-опосредованного иммунного ответа мышей подвергали эвтаназии на 28-й день (одна доза) или на 49-й день (28-й день после ревакцинации) путем удушения CO₂. Кровь отбирали путем пункции сердца и получали очищенные образцы сыворотки, как описано выше. Отбирали селезенку и двусторонние бедренные кости и выделяли спленоциты и иммунные клетки костного мозга (Yam, K.K., et al., Front Immunol, 2015. 6: p. 207; Yam, K.K., et al., Hum Vaccin Immunother, 2017. 13 (3): p. 561-571).

[00197] Для оценки эффективности вакцины мышей заражали $1,58 \times 10^3$ -кратной средней инфекционной дозой культуры тканей (TCID₅₀) H1N1 A/California/07/09 (Национальная микробиологическая лаборатория, Агентство общественного здравоохранения Канады). Мышей анестезировали изофлураном и заражали интраназально (25 мкл/на нос). У мышей наблюдали потерю веса в течение 12 дней после заражения и подвергали эвтаназии, если они теряли $\geq 20\%$ своего веса до заражения. На 3-й и 5-й дни после заражения часть мышей умерщвляли и собирали легкие для оценки вирусной нагрузки и воспаления. Гомогенаты легких готовили, как описано ранее (Hodgins, B., et al., Clin Vaccine Immunol, 2017. 24(12)) и хранили при -80 °C до дальнейшего анализа.

Пример 3.5: Измерение титра антител

[00198] Нейтрализующие антитела оценивали с помощью анализа ингибирования гемагглютинации (HAI) (Zacour, M., et al., Clin Vaccine Immunol, 2016. 23(3): p. 236-42; WHO Global Influenza Surveillance Network. 2011. World Health Organization. ISBN 978

9241548090:43-62) и анализ микронеутрализации (MN) (Yam, K.K., et al., Clin Vaccine Immunol, 2013. 20(4): p. 459-67). О титрах сообщают как об обратной величине самого высокого разведения для ингибирования гемагглютинации (HAI) или цитопатических эффектов (MN). Образцам ниже предела обнаружения (<10) присваивали значение 5 для статистического анализа.

[00199] HA-специфический IgG количественно определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), как описано ранее (Hodgins, B., et al., Clin Vaccine Immunol, 2017. 24(12)) со следующими модификациями: планшеты покрывали с 2 мкг/мл рекомбинантной HA (Immune Technologies) или HA-VLP (Medicago Inc.), а специфичные к HA IgG выявляли с использованием антимышиных IgG, конъюгированных с пероксидазой хрена (HRP) (Southern Biotech), разведенных 1:20000 в блокирующем буфере. Для оценки авидности HA-специфического IgG лунки, содержащие связанные антитела, инкубировали с мочевиной (0М-8М) в течение 15 минут и повторно блокировали в течение 1 часа перед обнаружением. Индекс авидности (AI) = [титр IgG 2-8М мочевины/титр IgG 0М мочевины].

Пример 3.6: Антитело-секретирующие клетки (АСК)

[00200] HA-специфические IgG АСК количественно определяли с помощью ELISpot (Mouse IgG ELISpot^{BASIC}, Mabtech). Планшеты со стерильной мембраной PVDF (Millipore) покрывали захватывающим антителом против IgG и блокировали в соответствии с рекомендациями производителя. Для количественного определения ИСК, активированных *in vivo*, в лунки засеивали 250000 (костный мозг) или 500000 (спленоцит) свежевыделенных клеток и инкубировали при 37 °C, 5% CO₂ в течение 16–24 часов. HA-специфические АСК были обнаружены в соответствии с рекомендациями производителя с использованием 1 мкг/мл биотинилированной HA (иммунная технология, биотинилированная с использованием Sulfo-NHS-LC-Biotin). Для оценки АСК памяти свежевыделенные клетки поликлонально активировали 0,5 мкг/мл R848 и 2,5 нг/мл рекомбинантного мышиного IL-2 (1,5x10⁶ клеток/мл в 24-луночных планшетах) в течение 72 ч (37 °C, 5% CO₂). Активированные клетки повторно подсчитывали и анализ проводили, как описано выше.

Пример 3.7: Пролиферация спленоцитов

[00201] Пролиферацию спленоцитов измеряли с помощью ELISA с включением хемилюминесцентного бромдезоксисуридина (BrdU) (Sigma). Свежевыделенные спленоциты

высевали в 96-луночные плоскодонные черные планшеты ($2,5 \times 10^5$ клеток/лунку). Клетки стимулировали в течение 72 часов (37 °C, 5% CO₂) исходными H1-VLP или пулами пептидов (BEI Resources), состоящими из 15-мерных пептидов, перекрывающихся 11 аминокислотами, охватывающих полные последовательности НА исходного H1/California/07/2009 (2,5 мкг/мл). Реагент для мечения BrdU (10 мкМ) добавляли в течение последних 20 часов инкубации. BrdU выявляли, как описано производителями. Пролиферация представлена как индекс стимуляции по сравнению с нестимулированными образцами.

Пример 3.8: Окрашивание внутриклеточных цитокинов и проточная цитометрия

[00202] Свежевыделенные спленоциты или иммунные клетки костного мозга ($1 \times 10^6/200$ мкл в 96-луночном планшете с U-образным дном) стимулировали исходными H1-VLP (2,5 мкг/мл) или оставляли нестимулированными на 18 ч (37 °C, 5% CO₂). Через 12 часов добавляли Golgi Stop и Golgi Plug (BD Biosciences) в соответствии с инструкциями производителя. Клетки дважды промывали ФСБ (320хг, 8 мин, 4 °C) и метили красителем Fixable Viability Dye eFluor 780 (eBioscience) (20 мин, 4 °C). Клетки промывали 3 раза, а затем инкубировали с блоком Fc (BD Biosciences) в течение 15 минут при 4 °C. Образцы инкубировали еще 30 мин после добавления поверхностного коктейля, содержащего следующие антитела: анти-CD3 FITC (145-2C11, eBioscience), анти-CD4 V500 (RM4-5, BD Biosciences), анти-CD8 PerCP-Cy5.5 (53-6.7, BD Biosciences), анти-CD44 BUV395 (IM7, BD Biosciences) и анти-CD62L BUV373 (MEL-14, BD Biosciences). Клетки промывали 3 раза и фиксировали (раствор Fix/Perm, BD Biosciences) в течение ночи. Для обнаружения внутриклеточных цитокинов фиксированные клетки промывали 3 раза в перманентном/промывочном буфере (BD Biosciences) с последующим внутриклеточным окрашиванием следующими антителами (30 мин, 4 °C): анти-IL-2 APC (JES6-5H4, Biolegend), анти-IFN γ PE (XMG1.2, BD Biosciences) и анти-TNF α eFluor450 (MP6-XT22, Invitrogen). Клетки промывали 3 раза в перманентном/промывочном буфере, а затем ресуспендировали в ФСБ для сбора данных с использованием анализатора клеток BD LSRFortessa или BD LSRFortessa X20. Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo (Treestar, Ashland).

Пример 3.9: Вирусная нагрузка на легкое и воспаление

[00203] Вирусную нагрузку измеряли с помощью TCID₅₀ в гомогенатах легких, полученных через 3 и 5 дней после инфицирования (дпи). Был проведен анализ, и TCID₅₀

рассчитывали точно так, как описано ранее (Hodgins, B., et al., Clin Vaccine Immunol, 2017, 24(12)). Гомогенаты легких также оценивали в двух повторах с помощью мультиплексного ELISA (Quansys) в соответствии с инструкциями производителя.

Пример 4: Характеристика модифицированного несвязывающего НА

[00204] VLP, содержащие исходный H1-НА или модифицированный H1-НА

[00205] Вирусоподобные частицы, содержащие НА, взаимодействуют с иммунными клетками человека посредством связывания с SA клеточной поверхности (Hendin, H.E. et al., 2017, Vaccine 35:2592-2599). Также наблюдали активацию В-клеток человека после совместной инкубации с H1-VLP и VLP, несущими другие белки НА млекопитающих. Однако VLP, нацеленные на штаммы птичьего гриппа, такие как H5N1, не связываются с В-клетками человека и не активируют их. Не желая быть связанными какой-либо теорией, это отсутствие активации В-клеток с помощью H5N1 может быть связано с тем, что В-клетки не экспрессируют концевой $\alpha(2,3)$ -связанной SA.

[00206] Y98F НА, который не связывается с $\alpha(2,6)$ -связанной SA (Whittle et al. (2014, J Virol, 88(8): p. 4047-57), тестировали с ожиданием, что VLP содержащие Y98F НА, будут демонстрировать сниженный гуморальный иммунный ответ, поскольку VLP, содержащие Y98F НА, не смогут связываться с В-клетками или активировать их посредством взаимодействий НА-SA. Однако, как описано ниже, модифицированная H1 VLP (Y91F H1-VLP) вызывает превосходные гуморальные реакции и улучшенный клиренс вируса по сравнению с нативной H1-VL.

[00207] *Отсутствие скопления клеток:* инкубация PBMC человека с исходной H1-VLP приводит к быстрому скоплению клеток в результате взаимодействия НА-SA (Hendin, H.E., et al., Vaccine, 2017. **35**(19): p. 2592-2599). Однако PBMC, инкубированные с Y91F H1-VLP, не образуют кластеров, даже когда концентрация VLP увеличивается в 5 раз. Как показано на Фиг. 5А, кластеризация клеток наблюдалась после инкубации PBMC человека с VLP, содержащими H1 A/Calf дикого типа (центральная панель). Однако при инкубации PBMC человека в полной среде RPMI (сRPMI, контроль; левая панель) или с VLP, содержащей Y98F-H1 A/Calf (правая панель), кластеризации клеток не наблюдалось.

[00208] *Неопределяемая гемагглютинация:* Анализ гемагглютинации представляет собой экспресс-метод для оценки количества VLP или вируса гриппа в любом заданном

образце. Исходная H1-VLP легко гемагглютинирует с tRBC и приводит к титру HA 48000. Однако, когда этот анализ проводился с эквивалентной концентрацией белка Y91F H1-VLP, титр HA был <10 (Фиг. 5B).

[00209] *Результаты SPR:* результаты, показанные на Фиг. 5C (полученные с использованием SPR), демонстрируют, что относительное связывание Y91F H1 A/Cal было ниже предела количественного определения (BLQ) и значительно снижено по сравнению со связыванием, наблюдаемым с использованием исходного (дикого типа) H1 A/Calf (контроль; установлен на 100%).

[00210] VLP, содержащие исходный H3-HA или модифицированный H3-HA

[00211] В отличие от результатов, отмеченных выше для Y91F H1 HA, было обнаружено, что VLP, содержащие Y98F H3 A/Kansas HA, гемагглютинируют tRBC (Фиг. 3B), что свидетельствует о том, что Y98F H3 A/Kansas способен связывать SA. Связывание сиаловой кислоты с VLP, содержащими исходный H3 A/Kansas или Y98F H3 A/Kansas HA, подтверждали с помощью SPR. VLP, содержащие Y98F H3 A/Kansas, демонстрировали приблизительно 80 % количества связывания по сравнению с VLP, содержащими исходный H3 HA ((Фиг. 5D; Контроль; установлено значение 100 %). Эти результаты следует сравнивать с данными, полученными для Y98F H3 A/Aichi, который, как было показано, не связывает SA (Bradley et al., 2011, J. Virol 85:12387-12398).

[00212] Дополнительные модификации H3 HA привели к значительному снижению титра HA (Фиг. 3B). Примеры модификаций H3 HA, снижающих титр гемагглютинации H3 HA, включают Y98F в комбинации с любым из S136D, S136N, S137N, D190G, D190K, R222W, S228N, S228Q.

[00213] Также оценивали свойства связывания или не связывания SA для модифицированного H3 HA, содержащего следующие одиночные мутации S136D, S136N, D190K, R222W, S228N и S228Q (Фиг. 3D). Мутации S136D, S136N, D190K, S228N и S228Q в H3 HA приводят к потере связывания, на что указывает сниженный титр HA. Мутация R222W в отсутствие Y98F приводит к восстановлению связывания, что согласуется с данными, представленными для штамма H3/Aichi в Bradley et al. (2011, J. Virol 85:12387-12398), где триптофан (W) в остатке 222 присутствует в HA дикого типа, и связывание было утрачено при введении мутации Y98F.

Пример 4.1: Активация иммунных клеток человека *in vitro*

[00214] PBMC человека стимулировали 1 мкг исходной H1-VLP или Y91F H1-VLP в течение 6 ч *in vitro*, и активацию клеток оценивали на основе экспрессии CD69.

[00215] *Снижение активации В-клеток:* VLP, содержащие H1 дикого типа, приводили к активации $15,6 \pm 2,9\%$ В-клеток по сравнению только с $3,6 \pm 1,8\%$ с VLP, содержащими модифицированный HA (Y91F H1-VLP; Фиг. 6, «В-клетки»). Активация антигенспецифических В-клеток необходима для успешного гуморального иммунного ответа на вакцинацию. Однако эти клетки обычно составляют $<1\%$ от общего числа В-клеток (Kodituwakku, A.P., et al., Cell Biol, 2003. 81(3): p. 163-70). Не желая ограничиваться теорией, можно сказать, что взаимодействия HA-SA между H1-VLP дикого типа (исходными) и В-клетками, вероятно, способствуют активации В-клеток, которые не могут продуцировать HA-специфические антитела.

[00216] *Повышенная активация Т-клеток:* VLP, содержащие модифицированный HA (Y91F H1-VLP), приводили к повышенной активации $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток по сравнению с VLP, содержащими исходный (дикий тип) HA (H1-VLP). Y91F H1-VLP вызывала активацию $0,2 \pm 0,06\%$ Т-клеток $CD4^+$ (Фиг. 6, «Т-клетки $CD4^+$ ») и $0,19 \pm 0,02\%$ Т-клеток $CD8^+$ (Фиг. 6, «Т-клетки $CD8^+$ ») по сравнению с $0,5 \pm 0,03\%$ $CD4^+$ Т-клеток и $0,3 \pm 0,02\%$ $CD8^+$ Т-клеток с исходной H1-VLP.

Пример 4.2: Результаты исследования на животных

[00217] *Улучшение гуморального иммунного ответа:* чтобы установить, влияют ли взаимодействия HA-SA на гуморальный иммунный ответ на вакцинацию у мышей, измеряли нейтрализующие антитела против H1N1 (A/California/07/2009) в сыворотке через 21 день после вакцинации 3 мкг исходной H1-VLP или Y91F H1-VLP. Нейтрализующие антитела измеряли с помощью анализа ингибирования гемагглютинации (HAI) для измерения антител, которые блокируют связывание живого вируса с эритроцитами индейки (Cooper, C., et al., HIV Clin Trials, 2012. 13(1): p. 23-32) и анализ микронеutralизации (MN) для измерения антител, которые предотвращают инфицирование клеток Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) (Zacour, M., et al., Clin Vaccine Immunol, 2016. 23(3): p. 236-42; Yam, K.K., et al., Clin Vaccine Immunol, 2013. 20(4): p. 459-67).

[00218] Вакцинация Y91F H1-VLP приводила к статистически значимому увеличению титров HAI и MN по сравнению с мышами, вакцинированными исходными H1-VLP (Фиг. 7A). Аналогичные тенденции наблюдались при оценке сыворотки с 2-недельными интервалами в течение 8 недель после вакцинации. Мыши, получившие Y91F H1-VLP, имели несколько более высокие титры H1-специфических IgG во все моменты времени, при этом наибольшее разделение наблюдалось через 8 недель после вакцинации (Фиг. 7B). Через 8 недель после вакцинации авидность H1-специфических IgG у мышей Y91F, вакцинированных H1-VLP, была значительно выше, чем у мышей, вакцинированных исходными H1-VLP ($P < 0,033$; Фиг. 7C), и увеличение авидности сохранялось в течение 7-месячного периода (Фиг. 7F). Несвязывающая Y91F H1-VLP приводила к более высоким титрам HI и MN через 7 месяцев после вакцинации и повышала устойчивость титров HI (Фиг. 7G и 7H). Мышей ($n=7-8$ /группу) вакцинировали (в/м) H1-VLP или Y91F H1-VLP (3 мкг/доза). Ежемесячно отбирали сыворотку для измерения титров HI (Фиг. 7G) и титров MN (Фиг. 7H). Статистическую значимость определяли с помощью множественных t-тестов, скорректированных на множественные сравнения, с использованием метода Холма-Сидака ($*p < 0,033$, $**p < 0,01$).

[00219] Аналогичные титры были достигнуты к 12 неделе, однако лечение Y91F H1-VLP приводило к более быстрому увеличению в течение 2-4 недель по сравнению с вакцинацией с использованием соответствующих H1-VLP дикого типа (исходных). Высокие титры HAI в ранние сроки могут быть связаны с сохранением титров через 28 недель после вакцинации. На 28 неделе только 3 из 8 мышей, вакцинированных исходными H1-VLP, имели титр HAI ≥ 40 по сравнению с 6 из 7 вакцинированных мышей в группе Y91F H1-VLP.

[00220] Титры ингибирования гемагглютинации (HI) также повышались после вакцинации VLP, содержащими Y91F H1-A/Idaho/07/2018, но едва ли достигали статистической значимости (Фиг. 7I). Мышей ($n=8$ /группу) вакцинировали 1 мкг связывающей или несвязывающей (Y91F) H1-VLP (A/Idaho/07/2018) и ревакцинировали 1 мкг на 21 день. Собирали сыворотку и измеряли титры HI через 21 день после вакцинации. Статистическую значимость оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Несвязывающие H1-VLP, полученные из A/Idaho/07/2018, приводят к небольшому увеличению H1-специфических IgG после однократной дозы вакцины (Фиг. 7J, левая панель), но разница теряется после усиления (Фиг. 7J, правая панель).

[00221] Вакцинация VLP, содержащей несвязывающий H1 A/Brisbane/02/2018, приводила к более высоким титрам H1-специфических IgG на 21-й и 21-й день после ревакцинации (42-й день) и более высокой авидности (Фиг. 7К и 7Л). Мышей (n=18/группу) вакцинировали 0,5 мкг связывающего или несвязывающего рекомбинантного H1 (A/Brisbane/02/2018) и ревакцинировали 0,5 мкг на 21-й день. Собирали сыворотку и измеряли H1-специфический IgG с помощью ELISA. 21д после вакцинации и 21д после ревакцинации (д42). Авидность IgG оценивали с помощью ELISA для определения авидности. Образцы связанной сыворотки обрабатывали 4-6М мочевиной, и индекс авидности представляет собой долю IgG, которая остается связанной после инкубации с мочевиной ([титр IgG 2-10М мочевины]/[титр IgG 0М мочевины]). Статистическую значимость определяли по критерию Манна-Уитни (* $p < 0,033$, *** $p < 0,001$).

[00222] Вакцинация Y88F H7-VLP приводила к статистически значимому увеличению титров HAI по сравнению с исходными мышами, вакцинированными H7-VLP, вплоть до двух месяцев после вакцинации (Фиг. 7Е).

[00223] В отличие от VLP, содержащих несвязывающиеся H1 и H7, не было изменений в титрах ингибирования гемагглютинации (HI) после вакцинации VLP, содержащими несвязывающиеся (HC) D195G B/Phuket/3073/2013 (Фиг. 7М, слева панель). Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающей или несвязывающей (HC) B-VLP (D195GB/Phuket/3073/2013) и ревакцинировали 1 мкг на 21-й день. Собирали сыворотку и определяли титры HI через 21 день после ревакцинации. Титры микронеутрализации (MN) были ниже после вакцинации NB B-VLP, но разница не была статистически значимой (Фиг. 7М, правая панель). Вакцинация VLP, содержащими несвязывающиеся (HC) D195G B/Phuket/3073/2013, приводит к сходным количествам HA-специфических IgG на 21-й и 21-й день после ревакцинации (42-й день) (Фиг. 7N), но наблюдается небольшое увеличение в авидности IgG (Фиг. 7O). Собирали сыворотку и измеряли H1-специфический IgG с помощью ELISA через 21 день после вакцинации и через 21 день после ревакцинации (д42). Авидность IgG оценивали с помощью ELISA для определения авидности. Образцы связанной сыворотки обрабатывали 4-6М мочевиной, и индекс авидности представляет собой долю IgG, которая остается связанной после инкубации с мочевиной ([титр IgG 2-10М мочевины]/[титр IgG 0М мочевины]). Различия в авидности не были статистически значимыми.

[00224] Чтобы дополнительно охарактеризовать ответ В-клеток, память В-клеток и активированные *in vivo* антителасекретирующие клетки (АСК), количественно определяли в селезенке и костном мозге с помощью анализа иммунных абсорбентных пятен, связанных с ферментами (ELISpot). Мышей вакцинировали дважды (с интервалом в 3 недели) 3 мкг или 0,5 мкг VLP, а АСК оценивали через 4 недели после ревакцинации. Сходные уровни В-клеток памяти наблюдались в селезенке независимо от вакцины или дозы, но наблюдалась тенденция к увеличению в костном мозге мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP (Фиг. 8А). Активированные *in vivo* АСК оценивали только у мышей, которым вводили 0,5 мкг VLP. У этих мышей вакцинация Y91F H1-VLP приводила к увеличению количества АСК как в селезенке, так и в костном мозге (Фиг. 8В). В костном мозге АСК мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP, также продуцировали больше IgG в пересчете на клетку, что измерялось размером пятна (Фиг. 8С). Вакцинация Y91F H1-VLP приводит к незначительному увеличению плазматических клеток костного мозга (ВМРС) через 7 месяцев после вакцинации и коррелирует с поддержанием титров MN (Фиг. 8D). Мышей (n=7-8/группу) вакцинировали (в/м) H1-VLP или Y98F H1-VLP (3 мкг/дозу). Мышей подвергали эвтаназии при 7 сот и собирали ВМ для количественного определения H1-специфических плазматических клеток (ПК) в костном мозге с помощью ELISpot. Репрезентативные лунки из каждой группы показаны справа. Все мыши, у которых было >10 клеток ВМРС/1х10⁶, сохраняли свои титры MN между 3 и 7 месяцами после вакцинации. У всех мышей с <10 ВМРС/1х10⁶ клеток наблюдалось снижение титров MN через 3 месяца.

[00225] *Сильные клеточно-опосредованные иммунные ответы*: усиленный клеточно-опосредованный иммунитет (КОИ), вызываемый HA-VLP растительного происхождения, является одной из ключевых особенностей, отличающих эти вакцины от других композиций. Поэтому исследовали поддержание клеточных ответов у мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP. КОИ оценивали на основе пролиферативных ответов и профилей цитокинов памяти Т-клеток.

[00226] Пролиферацию количественно определяли путем измерения включения синтетического аналога тимидина бромдезоксисуридина (BrdU) в спленоциты при повторной стимуляции антигенами H1. Повторная стимуляция исходной H1-VLP (2 мкг/мл) приводила к сходным показателям стимуляции у мышей, вакцинированных исходной H1-VLP или Y91F H1-VLP (Фиг. 8А). Однако наблюдались уникальные профили пролиферации, когда спленоциты стимулировали пулами пептидов, соответствующих различным частям

последовательности НА. Пулы, разработанные для антиген-специфической стимуляции Т-клеток, состояли из 20 перекрывающихся пептидов (по 15 аминокислот каждый) и охватили всю исходную последовательность H1 A/California/07/09. Пептидные пулы, охватывающие аминокислоты 81-251, вызывали более высокие уровни пролиферации у мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP, по сравнению с пролиферацией, наблюдаемой при использовании соответствующих исходных пептидов H1 НА (Фиг. 9B). Пулы пептидов, охватывающие аминокислоты 81-251, кодируют участок белка НА, обнаруженный в глобулярной головке.

[00227] Продуцирование цитокинов спленоцитами измеряли с помощью проточной цитометрии. Антиген-специфические Т-клетки идентифицировали на основе продуцирования IL-2, TNF α или IFN γ после повторной стимуляции исходной H1-VLP или Y91F H1-VLP (оба в дозе 2,5 мкг/мл) в течение 18 часов. Как исходная H1-VLP, так и Y91F H1-VLP приводили к увеличению H1-специфических CD4⁺ Т-клеток через 28 дней после вакцинации, однако это увеличение было статистически значимым только в группе Y91F H1-VLP (Фиг. 10A). В пределах этой антиген-специфической популяции был применен анализ Булена для оценки различных популяций одиночных, двойных и тройных положительных CD4⁺ Т-клеток. Обе вакцины (исходная H1-VLP и Y91F H1-VLP) вызывали небольшое увеличение в каждой из одноположительных популяций и тройной положительной популяции. Однако только Y91F H1-VLP вызывала существенное увеличение популяции IFN γ ⁺IL-2⁺TNF α ⁺ (Фиг. 10B-C).

[00228] Спленоциты и иммунные клетки костного мозга дополнительно анализировали на частоту CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих CD44 (антиген-специфический) и по меньшей мере один из IL-2, TNF α или IFN γ (Фиг. 10D, слева). В указанные моменты времени после вакцинации (28 дней после вакцинации и 28 дней после ревакцинации, т.е. 49 дней) мышей подвергали эвтаназии и выделяли спленоциты/иммунные клетки костного мозга. Клетки стимулировали в течение 18 часов с помощью 2,5 мкг/мл H1-VLP. Проточную цитометрию использовали для количественного определения H1-специфических CD4⁺ Т-клеток. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (общий ответ) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (сигнатуры цитокинов) (* $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Фоновые значения, полученные из нестимулированных образцов, вычитали из значений, полученных после стимуляции H1-VLP. Индивидуальные цитокиновые сигнатуры

для каждой мыши, полученные с помощью логического анализа, подвергали сравнительному анализу между указанными моментами времени и типами клеток. Фоновые значения, полученные из нестимулированных образцов, вычитали из значений, полученных после стимуляции H1-VLP. Гистограмма иллюстрирует частоту каждой из популяций, а круговые диаграммы показывают распространенность каждой отвечающей популяции среди всех отвечающих клеток. После одной дозы (28 дней после вакцинации, Фиг. 10D, верхняя панель) нет различий в величине или цитокиновых сигнатурах $CD4^+$ Т-клеточного ответа селезенки. После введения второй дозы (через 28 дней после ревакцинации, Фиг. 10D, средняя панель) величина ответов $CD4^+$ Т-клеток селезенки аналогична, однако несвязывающиеся H1-VLP приводят к уменьшению доли клеток, экспрессирующих $IFN\gamma$, и увеличение популяции $IL-2^+TNF\alpha^+IFN\gamma^- CD4^+$ Т-клеток. Эти сигнатуры цитокинов были отражены в костном мозге (Фиг. 10D, нижняя панель), однако частота H1-специфических $CD4^+$ Т-клеток была увеличена в костном мозге мышей, вакцинированных несвязывающей H1-VLP. $CD4^+$ Т-клетки костного мозга, как правило, долгоживущие и могут способствовать повышению стойкости гуморального ответа, который мы наблюдали.

[00229] Кроме того, было обнаружено, что частота $IL-2^+TNF\alpha^+IFN\gamma^- CD4^+$ Т-клеток в костном мозге коррелирует с титром HI (Фиг. 10E). У мышей, вакцинированных несвязывающей H1-VLP, наблюдалось значительное увеличение частоты $IL-2^+TNF\alpha^+IFN\gamma^- CD4^+$ Т-клеток в костном мозге (Фиг. 10D, нижняя панель), что коррелировало с повышенными титрами HI у этих мышей. (Фиг. 10E). Метод ранговой корреляции был применен для оценки взаимосвязи между частотой $IL-2^+TNF\alpha^+IFN\gamma^- CD4^+$ Т-клеток в КМ и титром HAI. Мыши, вакцинированные Y91F H1-VLP, показаны белым кружком, а H1-VLP показаны сплошным черным цветом.

[00230] Общий ответ Т-клеток $CD4$ селезенки аналогичным образом сохранялся после вакцинации VLP, содержащей несвязывающие (Y91F) H1-A/Idaho/07/2018 (через 1 неделю после ревакцинации). Мыши (n=8/группу) были вакцинированы 1 мкг VLP, содержащими связывающую H1 A/Idaho/07/2018 или несвязывающую (Y91F) H1 A/Idaho/07/2018, и ревакцинировали 1 мкг на 21-й день. Мышей подвергали эвтаназии через 1 неделю после ревакцинации и селезенки собирали для измерения антиген-специфических ($CD44^+$) $CD4$ Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе вакцины приводили к одинаковой частоте реагирующих клеток (Фиг. 10F) с аналогичной частотой полифункциональных $CD4$ Т-клеток (Фиг. 10G). Однако меньшее количество $CD4$ Т-клеток, экспрессирующих $IFN\gamma$,

наблюдалось при вакцинации VLP, содержащей несвязывающий H1 A/Idaho/07/2018, через 3 недели после ревакцинации (Фиг. 10H). Мышей подвергали эвтаназии через 3 недели после ревакцинации и собирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44⁺) CD4 T-клеток с помощью проточной цитометрии. Частота общих реагирующих T-клеток CD4 была снижена после вакцинации Y91F H1-VLP через 3 недели после ревакцинации, но это различие не было значительным (Фиг. 10H). Подобно мышам, вакцинированным VLP, содержащим H1 California, популяция IL-2⁺TNFα⁺IFNγ⁻ преобладала в ответе на Y91F H1-VLP через 3 недели после ревакцинации (Фиг. 10I). Большинство популяций IFNγ⁺ было снижено у мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (10F и 10H) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (10G и 10I). * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

[00231] Поскольку КОИ-ответы у ранее не получавших вакцину животных, как правило, слабые после первой дозы, а предыдущие исследования, оценивающие КОИ в ответ на HA-VLP, проводились в соответствии со схемой вакцинации двумя дозами, КОИ также оценивали у мышей, вакцинированных 2 дозами VLP. К 28 дню после ревакцинации только популяция с одним положительным TNFα (IFNγ⁺) увеличивалась по сравнению с группой, получавшей ФСБ (контроль), и между двумя вакцинами не было различий (Фиг. 10B). Популяция IFNγ⁻IL-2⁺TNFα⁺, которая присутствовала в обеих вакцинных группах после одной дозы, продолжала увеличиваться после второй дозы Y91F H1-VLP, но не исходной (дикого типа) H1-VLP (Фиг. 10C). Эти клетки (популяция IFNγ⁻IL-2⁺TNFα⁺) ранее были описаны как популяция примированных, но некоммитированных Т-хелперных клеток памяти, известных как примированные Т-хелперные клетки-предшественники (Thpp) (Pillet, S., et al., NPJ Vaccines, 2018. 3: p. 3; Deng, N., J.M. Weaver, and T.R. Mosmann, PLoS One, 2014. 9(5):p. e95986). Не желая быть связанными теорией, считается, что клетки Thpp служат резервуаром CD4⁺ Т-клеток памяти с эффекторным потенциалом. В то время как вакцины вызывают клетки Thpp у наивного человека, эти клетки обычно становятся IFNγ⁺ при последующем воздействии. Поскольку клетки становятся IFNγ⁺ при последующем воздействии, это может объяснить уменьшение популяции Thpp и увеличение тройной положительной популяции (IFNγ⁺IL-2⁺TNFα⁺) при ревакцинации H1-VLP. Расширение популяции Thpp при ревакцинации Y91F H1-VLP предполагает, что эта вакцина ведет себя аналогично другим белковым вакцинам, которые, как было показано, вызывают более сильный и устойчивый ответ антител, чем вакцины против гриппа (например, белковые

вакцины против столбняка, дифтерии; Deng, N., J.M. Weaver, and T.R. Mosmann, PLoS One, 2014. 9(5):p. e95986).

[00232] *Снижение вирусной нагрузки:* Мышей заражали $1,58 \times 10^3$ -кратной средней инфекционной дозой культуры тканей (TCID₅₀) исходного (дикого типа) H1N1 (A/California/07/09) через 28 дней после вакцинации 3 мкг VLP. Это приводило к существенной потере веса и 69% смертности в контрольной группе (ФСБ), однако все мыши, вакцинированные исходной H1-VLP или Y91F H1-VLP, выжили (Фиг. 11A). Кроме того, не было существенной разницы в постинфекционной потере веса между вакцинированными группами (Фиг. 11B).

[00233] Подмножество инфицированных мышей умерщвляли через 3 дни (дня после инфицирования) и 5 дни для количественного определения титра вируса в легких, как описано ранее (Hodgins, B., et al., Clin Vaccine Immunol, 2017. 24(12)). В соответствии с тенденциями выживаемости и потери веса наблюдалось снижение титра вируса у мышей, вакцинированных либо исходной H1-VLP, либо Y91F H1-VLP, по сравнению с контрольной группой ФСБ при 3 дни. Однако это различие является статистически значимым только в группе Y91F H1-VLP ($P < 0,002$). На 5 дни у мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP, наблюдалось 2-логарифмическое снижение вирусных титров по сравнению с группой, получавшей ФСБ ($P < 0,001$) и значительно более низкие титры, чем в исходной группе H1-VLP ($P < 0,033$; Фиг. 11C).

[00234] Гомогенаты легких от 3 дни и 5 дни также оценивали с помощью мультиплексного ELISA (Фиг. 11D). Мышей заражали $1,6 \times 10^3$ TCID₅₀ вируса H1N1 (A/California/07/09) через 28 дней после вакцинации, и часть мышей имитировали инфицированием эквивалентным объемом среды. Подмножество мышей ($n=9$ /группа/момент времени) подвергали эвтаназии через 3 (Фиг. 11D, левая панель) и 5 (Фиг. 11D, правая панель) дней после инфицирования (дни) для оценки воспаления легких. Концентрации цитокинов и хемокинов в супернатантах гомогенатов легких измеряли с помощью мультиплексного ELISA (Quansys). На 3 дни в обеих группах вакцины было снижено количество воспалительных цитокинов по сравнению с группой плацебо, но различий между вакцинами не было. К 5 дни в легких мышей, вакцинированных несвязывающей H1-VLP, было заметно меньше воспалительных цитокинов, обычно связанных с патологией легких. Уровень IFN γ у этих мышей приближался к исходному уровню, что свидетельствует о том, что Y91F H1-VLP приводит к усиленной защите от вызванной гриппом патологии легких по

сравнению с исходным H1-VLP. Подмножество мышей подвергали эвтаназии через 4 дня после инфицирования (дпи) для оценки патологии легких (Фиг. 11E). У мышей, вакцинированных Y91F H1-VLP, было меньше воспаление легких по сравнению с мышами, вакцинированными H1-VLP, и они больше напоминали ложно инфицированных мышей.

[00235] *Иммунный ответ после вакцинации VLP, содержащей модифицированный H5:* Общий ответ Т-клеток CD4 селезенки сохранялся после введения мутации Y91F (Фиг. 18A и 18B). Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (модифицированной, Y91F) H5-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и отбирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе VLP, содержащие H5 A/Indonesia/5/05 или модифицированный H5 A/Indonesia/5/05, приводили к сходным частотам отвечающих клеток (Фиг. 18A) с аналогичными частотами полифункциональных CD4 Т-клеток (Фиг. 18B). Однако Y91F H5-VLP приводил к меньшему количеству одиночных положительных клеток IFN γ (трижды положительные) Т-клетки CD4 (Фиг. 18B). В отличие от ответа CD4 Т-клеток селезенки после вакцинации VLP, содержащей модифицированный H5 A/Indonesia/5/05, ответы CD8 Т-клеток селезенки снижались при введении несвязывающей мутации. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и отбирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD8 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе VLP приводили к значительному увеличению общего числа реагирующих клеток по сравнению с группой плацебо, но ответ был значительно сильнее у мышей, получавших исходную H5-VLP (Фиг. 18C). Это увеличение было вызвано увеличением числа клеток с единичным положительным статусом IFN γ и клеток IL-2⁺IFN γ ⁺ (Фиг. 18D). Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (слева) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (Фиг. 18D). * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

[00236] Примечательно, что несвязывающиеся H5-VLP приводят к увеличению H5-специфических плазматических клеток костного мозга (BMPC) (Фиг. 18E). Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и отбирали костный мозг (КМ) для измерения H5-специфического BMPC с помощью анализа ELISpot. Изображения репрезентативных лунок показаны справа. Статистическую значимость оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. В отличие от частоты CD4 Т-клеток в селезенке,

несвязывание H5-VLP приводит к увеличению количества антиген-специфических Т-клеток CD4 в костном мозге (BM) (Фиг. 18F). Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и отбирали костный мозг для измерения антиген-специфических (CD44+) Т-клеток CD4 с помощью проточной цитометрии.

[00237] Среди оцениваемых VLP, содержащих модифицированный HA, несвязывающие VLP H1, H5 и H7 приводили к значительному увеличению количества реагирующих Т-клеток CD4 по сравнению с группой плацебо (см. Фиг. 10D (H1) и 18F (H5), данные для H7 не показаны). Картина иммунитета, наблюдаемая с VLP H5, аналогична картине, наблюдаемой для VLP H1. Как показано на Фиг. 18G, Y91F H1-VLP также приводила к значительному увеличению IL-2⁺TNFα⁺IFNγ⁻ CD4 Т-клеток по сравнению с исходным H5. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (Фиг. 18F) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (Фиг. 18G). * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

[00238] *Иммунный ответ после вакцинации VLP, содержащей модифицированный H7:* Несвязывающиеся H7-VLP приводят к значительно более высоким титрам ингибирования гемагглютинации (HI) до 14 недель после вакцинации по сравнению с VLP с исходным H7 (Фиг. 19A). Мышей (n=10/группу) вакцинировали 3 мкг связывающей или несвязывающей (Y88F) H7-VLP и ревакцинировали 3 мкг через 8 недель. Собирали сыворотку и измеряли титры HI на 4, 8 и 13 неделе. Статистическую значимость определяли с помощью множественных Т-тестов с множественными сравнениями Холма-Сидака. * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. Обе вакцины приводят к сходным общим титрам H7-специфических IgG (Фиг. 19B). Однако несвязывающиеся H7-VLP приводят к усиленному созреванию авидности IgG (Фиг. 19C). Собирали сыворотку и измеряли авидность IgG на 4, 8 и 13 неделе. Авидность IgG оценивали с использованием ELISA для определения авидности. Образцы связанной сыворотки обрабатывали 0-10 М мочевиной, и индекс авидности представляет собой долю IgG, которая остается связанной после инкубации с мочевиной ([титр IgG 2-10 М мочевины]/[титр IgG 0 М мочевины]). На левой панели Фиг. 19C показаны индексы авидности на 13-й неделе. На правой панели Фиг. 19C показаны изменения авидности с течением времени (8М мочевины). Статистическую значимость определяли с помощью множественных Т-тестов с множественными сравнениями Холма-Сидака. * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$. Несвязывающиеся H7-VLP приводят к увеличению H7-специфических плазматических клеток костного мозга (BMPC) (Фиг. 19D). Мышей подвергали эвтаназии

через 5 недель после ревакцинации и собирали костный мозг (КМ) для измерения H7-специфического ВМРС с помощью анализа ELISpot. Изображения репрезентативных лунок показаны справа. Статистическую значимость оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

[00239] Ответы Т-клеток CD4 селезенки сохранялись при введении несвязывающей мутации H7. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и отбирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Обе вакцины приводили к сходной частоте реагирующих клеток (Фиг. 19Е) с аналогичной частотой IL-2⁺TNFα⁺IFNγ⁺ (трижды положительные) CD4 Т-клетки (Фиг. 19F). Y88F H7-VLP приводила к увеличению количества единичных положительных клеток IL-2. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с множественными сравнениями Данна (Фиг. 19Е) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (Фиг. 19F). * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. Реакция Т-клеток CD8 селезенки была сходной между вакцинированными группами. Мышей подвергали эвтаназии через 5 недель после ревакцинации и отбирали селезенки для измерения антиген-специфических (CD44+) CD8 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. В целом ответы CD8 Т-клеток были слабыми. Только WT H7-VLP приводил к значительному увеличению общего числа реагирующих клеток (Фиг. 19G), обусловленному увеличением количества клеток с единичной положительной реакцией на IFNγ (Фиг. 19H). Сигнатуры полифункциональных Т-клеток CD8 были одинаковыми в обеих вакцинированных группах со значительным увеличением количества клеток IL-2⁺IFNγ⁺.

[00240] *Иммунный ответ после вакцинации VLP, содержащими модифицированный В НА:* Меньшее количество CD4 Т-клеток, экспрессирующих IFNγ, наблюдалось при вакцинации несвязывающими В-VLP (через 3 недели после ревакцинации). Мышей (n=8/группу) вакцинировали 1 мкг связывающей или несвязывающей (НС) В-VLP (D195G B/Phuket/3073/2013) и ревакцинировали 1 мкг на 21-й день. Мышей подвергали эвтаназии через 3 недели после ревакцинации и селезенки отбирали для измерения антиген-специфических (CD44+) CD4 Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Частота общего числа реагирующих CD4 Т-клеток была одинаковой в группах вакцин (Фиг. 20А). Подобно другим несвязывающим VLP, популяции IL-2⁺ преобладали в ответе на NB В-VLP (Фиг. 20В). Однако количество клеток IFNγ⁺ было снижено у мышей, вакцинированных NB В-VLP. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса с

множественными сравнениями Данна (20A) или двустороннего ANOVA с множественными сравнениями Тьюки (20B). * $p < 0,033$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

[00241] Все цитированные документы в данный документ включены в качестве ссылки.

[00242] Данное изобретение было описано в отношении одного или нескольких вариантов реализации. Однако, специалистам в данной области техники будет очевидно, что ряд вариаций и модификаций может быть выполнен без отклонения от объема изобретения, определенного в формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный гемагглютинин гриппа (HA), причем модифицированный HA содержит одно или более чем одно изменение, которое уменьшает неродственное взаимодействие модифицированного HA с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки, сохраняя родственное взаимодействие с клеткой.

2. VLP по п. 1, отличающаяся тем, что модифицированный HA выбирают из:

i) модифицированного H1 HA, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 203;

ii) модифицированного H3 HA, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y98F, S136D; Y98F, S136N; Y98F, S137N; Y98F, D190G; Y98F, D190K; Y98F, R222W; Y98F, S228N; Y98F, S228Q; S136D; S136N; D190K; S228N и S228Q; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 204;

iii) модифицированного H5 HA, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 205;

iv) модифицированного H7 HA, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y88F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 206;

v) модифицированного B HA, в котором одно или более чем одно изменение выбрано из S140A; S142A; G138A; L203A; D195G и L203W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 207; или

vi) их комбинации.

3. VLP по п. 1 или п. 2, отличающаяся тем, что модифицированный HA выбирают из:

- i) модифицированного H1 HA, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 203;
- ii) модифицированного H3 HA, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой S136D; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 204 или
- iii) модифицированного B HA, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой D195G; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 207, или
- iv) их комбинации.

- 4. VLP по любому из пп. 1-3, отличающаяся тем, что клетка представляет собой В-клетку.
- 5. VLP по любому из пп. 1-4, отличающаяся тем, что белок на поверхности клетки представляет собой поверхностный рецептор В-клетки.
- 6. VLP по любому из пп. 1-5 для модулирования иммунологического ответа или для усиления иммунологического ответа.
- 7. VLP по п. 6, отличающаяся тем, что иммунологический ответ представляет собой клеточный иммунологический ответ, гуморальный иммунологический ответ или как клеточный иммунологический ответ, так и гуморальный иммунологический ответ.
- 8. Композиция, содержащая VLP по любому из пп. 1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.
- 9. Композиция, содержащая смесь более чем одной VLP по любому из пп. 1-8 и фармацевтически приемлемый носитель, при этом одна или более чем одна VLP содержит один тип модифицированного HA, или при этом одна или более чем одна VLP содержит смесь модифицированного HA, или при этом одна или более чем одна VLP содержит один тип модифицированного HA, и одна или более чем одна VLP содержит смесь модифицированного HA.

10. Композиция по п. 9, отличающаяся тем, что одна или более чем одна VLP содержит один тип модифицированного НА.

11. Вакцина, содержащая композицию по любому из пп. 8-10.

12. Вакцина по п. 11, которая дополнительно содержит адъювант.

13. Растение или часть растения, содержащие VLP по любому из пп. 1-7.

14. Модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), включающий одно или более чем одно изменение, которое уменьшает связывание модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие с клеткой.

15. Модифицированный НА по п. 14, отличающийся тем, что модифицированный НА выбирают из:

i) модифицированного H3 НА, в котором одно или более чем одно изменение выбирают из Y98F, S136D; Y98F, S136N; Y98F, S137N; Y98F, D190G; Y98F, D190K; Y98F, R222W; Y98F, S228N; Y98F, S228Q; S136D; S136N; D190K; S228N и S228Q; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 204;

ii) модифицированного H5 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 205;

iii) модифицированного H7 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y88F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 206;

iv) модифицированного В НА, в котором одно или более чем одно изменение выбрано из S140A; S142A; G138A; L203A; D195G и L203W; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 207; или

v) их комбинации.

16. Модифицированный НА по п. 15, отличающийся тем, что модифицированный НА выбирают из: модифицированного H1 НА, в котором одно или более чем одно изменение представляет собой Y91F; при этом нумерация изменения соответствует положению эталонной последовательности с SEQ ID NO: 203.

17. Модифицированный НА гриппа по любому из пп. 14-16, отличающийся тем, что клетка представляет собой В-клетку.

18. Модифицированный НА гриппа по любому из пп. 14-16, отличающийся тем, что белок на поверхности клетки представляет собой поверхностный рецептор В-клетки.

19. Модифицированный НА по любому из пп. 14-16, отличающийся тем, что модифицированный НА содержит специфичные для растений N-гликаны или модифицированные N-гликаны.

20. Вирусоподобная частица (VLP), содержащая модифицированный НА по любому из пп. 14-16.

21. VLP по п. 20, дополнительно содержащая один или более чем один липид, полученный из растения.

22. Нуклеиновая кислота, кодирующая модифицированный НА по любому из пп. 14-16.

23. Растение или часть растения, содержащие нуклеиновую кислоту по п. 22.

24. Способ индуцирования иммунитета к инфицированию вирусом гриппа у животного или субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение животному или субъекту вакцины по п. 11 или п. 12 или композиции по любому из пп. 8-10.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что вакцину вводят животному или субъекту перорально, внутрикожно, интраназально, внутримышечно, внутрибрюшинно, внутривенно или подкожно.

26. Применение вакцины по п. 12 или п. 13 или композиции по любому из пп. 8-10 для индуцирования иммунитета к инфицированию вирусом гриппа у животного или субъекта, нуждающегося в этом.

27. Способ усиления иммунологического ответа у первого животного или субъекта в ответ на введение антигена, включающий введение первой вакцины, причем первая вакцина содержит вакцину по п. 12 или п. 13, животному или субъекту, и определение иммунологического ответа, и при этом иммунологический ответ усиливается по сравнению со вторым иммунологическим ответом у второго животного или субъекта, полученным после введения второй вакцины, содержащей вирусоподобные частицы, содержащие соответствующий немодифицированный НА.

28. Способ получения вирусоподобной частицы (VLP), включающий экспрессию нуклеиновой кислоты по п. 22 в организме хозяина в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию VLP.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что собирают хозяина и очищают VLP.

30. Способ получения вирусоподобной частицы (VLP), содержащей модифицированный НА, в растении или части растения, включающий введение нуклеиновой кислоты по п. 22 в растение или часть растения и выращивание растения или части растения в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию VLP.

31. Способ получения вирусоподобной частицы (VLP), содержащей модифицированный НА, в растении или части растения, включающий выращивание растения или части растения, включающей нуклеиновую кислоту по п. 22, в условиях, которые приводят к экспрессии нуклеиновой кислоты и продуцированию VLP.

32. Способ по п. 30 или п. 31, отличающийся тем, что собирают растение или часть растения и очищают VLP.

33. Вакцина, содержащая модифицированный НА по любому из пп. 14-16 и фармацевтически приемлемый носитель.

34. Способ усиления иммунологического ответа у животного или субъекта в ответ на антигенную стимуляцию, включающий введение животному или субъекту вакцины по п. 33 и определение иммунологического ответа, при этом иммунологический ответ усиливается по сравнению с иммунологическим ответом у второго животного или субъекта, полученным после введения вакцины, содержащей НА гриппа, который не содержит одно или более чем одно изменение.

35. Способ по п. 27 или п. 34, отличающийся тем, что иммунологический ответ представляет собой клеточный иммунологический ответ, гуморальный иммунологический ответ или как клеточный иммунологический ответ, так и гуморальный иммунологический ответ.

36. Супраструктура, содержащая модифицированный гемагглютинин гриппа (НА), причем модифицированный НА содержит одно или более чем одно изменение, которое снижает неродственное взаимодействие модифицированного НА с сиаловой кислотой (SA) белка на поверхности клетки, сохраняя при этом родственное взаимодействие с клеткой.

37. Супраструктура по п. 36 для модулирования иммунологического ответа или для усиления иммунологического ответа.

Фиг. 1А

HA0_A-California-7-09_H1N1	-----DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKLCCKLRGVAPL	50
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	-----DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKLCCKLRGVAPL	50
HA0_A-Brisbane-02-18	-----DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKLCCKLGGVAPL	50
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	-----DQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDLGDKVPL	50
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	-----DQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLCNLDGDKVPL	50
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	-----DKICLGHHAVSNGTKVNTLTERGVEVFNATEVERTNIPRICSK-GKRTV	49
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	-----DKICLGHHAVSNGTKVNTLTERGVEVFNATEVERTNIPRICSK-GKRTV	49
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	QKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIENDRIEVTNATELVQNSSIGEICDS-PHQIL	59
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	QKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIENDRIEVTNATELVQNSSIGEICDS-PHQIL	59

:*:*:* . *.*: : : *.: : : . :* . :

HA0_A-California-7-09_H1N1	HLGKCNIAGWILGNPECESLSTASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSS	110
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	HLGKCNIAGWILGNPECESLSTARSWSYIVETSNSDNGTCYPGDFINYEELREQLSSVSS	110
HA0_A-Brisbane-02-18	HLGKCNIAGWILGNPECESLSTARSWSYIVETSNSDNGTCYPGDFINYEELREQLSSVSS	110
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	ILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPESYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINH	110
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	ILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPESYIVEKINPANDLCYPGNFNDYEELKHLLSRINH	110
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	DLGQCGLLGTITGPPQCDQFLEF-SADLIIERR-EGSDVCYPGKFVNNEALRQILRESGG	107
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	DLGQCGLLGTITGPPQCDQFLEF-SADLIIERR-EGSDVCYPGKFVNNEALRQILRESGG	107
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	DGENCTLIDALLGDPQCDGFQNK-KWDLFVERN-KAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGT	117
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	DGGNCTLIDALLGDPQCDGFQNK-KWDLFVERS-RAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGT	117

. * : . : * * * : : . . : * . * * . . : * : : .

Фиг. 1А-1 Продолжение

HA0_A-California-7-09_H1N1	FERFEIFPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWL VKK--GNSYPKLSKSYIND	168
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	FERFEIFPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWL VKK--GNSYPKLNQTYIND	168
HA0_A-Brisbane-02-18	FERFEIFPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWL VKK--GNSYPKLNQTYIND	168
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	FEKIQIIPK-SSWSDHEASSGVSSACPYLGSPSFFRN VVWLIKK--NSTYPTIKKSYNNT	167
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	FEKIQIIPK-DSWSDHEA-SGVSSACPYQGRSSFFRN VVWLTCK--NDAYPTIKKSYNNT	166
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	IDKEA---MGFTYSGI-RTNGATSACRR-SGSSFYAEMK WLLSNTDNAAFPMTKSYKNT	162
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	IDKEA---MGFTYSGI-RTNGATSACRR-SGSSFYAEMK WLLSNTDNAAFPMTKSYKNT	162
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	LEFNN---ESFNWAGV-TQNGTSSSCIRGSKSSFFS RLNLWLTHL--NSKYPALNVTMPNN	171
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	LEFKN---ESFNWAGV-TQNGKSFSCIRGSSSSFFS RLNLWLTHL--NYTPALNVTMPNK	171
	:: * : : * . ** : . : ** . : * : . : *	
HA0_A-California-7-09_H1N1	KGKEVLVLWGIHHPSTSADQQSLYQNADAYV FVGSSRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRMN	228
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	KGKEVLVLWGIHHPPTTADQQSLYQNADAYV FVGTSRYSKKFKPEIATRPKVRDQEGRMN	228
HA0_A-Brisbane-02-18	KGKEVLVLWGIHHPPTTADQQSLYQNADAYV FVGTSRYSKKFKPEIATRPKVRDQEGRMN	228
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	NQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTRL YQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATR SKVNGQSGRME	227
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	NQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTRL YQNPTTYISVGTSTLNQRLVPKIATR SKVNGQSGRME	226
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	RKSPALIVWGIHHSVSTAEQTKLYGSGNKL VTVGSSNYQQSFVPSPGAR PQVNGLSGRID	222
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	RKSPALIVWGIHHSVSTAEQTKLYGSGNKL VTVGSSNYQQSFVPSPGAR PQVNGISGRID	222
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	EQFDKLYIWGVHHPGTDKDQISLYAQSSGRIT VSTKRSQQAVIPNIGSRPRI RDIPSRI	231
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	EQFDKLYIWGVHHPGTDKDQISLYAQSSGRIT VSTKRSQQAVIPNIGSRPRI RDIPSRI	231
	. * : *** : * ** . : : . : . * . * : . . * : .	

Фиг. 1А-2 Продолжение

HA0_A-California-7-09_H1N1	YYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAMERNAGSGIIISDTPVHDCNTTTCQTPKGAIN	288
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	YYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFTMERNAGSGIIISDTPVHDCNTTTCQTPGAIN	288
HA0_A-Brisbane-02-18	YYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFTMERNAGSGIIISDTPVHDCNTTTCQTAEGAIN	288
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	FFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKGDSAIMKSELEYGNCNTKTCQTPMGAINS	287
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	FFWTILKSNDAINFESNGNFIAPENAYKIVKKGDSTIMKSELEYSNCNTKTCQTPIGAINS	286
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	FHWLMLNPNDTVTF SFNGAFIAPDRASFL-RGKSMGIQSGVQVDANCEGDCYHSGGTIIS	281
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	FHWLMLNPNDTVTF SFNGAFIAPDRASFL-RGKSMGIQSGVQVDANCEGDCYHSGGTIIS	281
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	IYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKI-RSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPN	290
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	IYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKI-RSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPN	290

卷一 卷二 卷三 卷四 卷五 卷六 卷七 卷八 卷九 卷十 卷十一 卷十二 卷十三 卷十四 卷十五 卷十六 卷十七 卷十八 卷十九 卷二十 卷二十一 卷二十二 卷二十三 卷二十四 卷二十五 卷二十六 卷二十七 卷二十八 卷二十九 卷三十 卷三十一 卷三十二 卷三十三 卷三十四 卷三十五 卷三十六 卷三十七 卷三十八 卷三十九 卷四十 卷四十一 卷四十二 卷四十三 卷四十四 卷四十五 卷四十六 卷四十七 卷四十八 卷四十九 卷五十 卷五十一 卷五十二 卷五十三 卷五十四 卷五十五 卷五十六 卷五十七 卷五十八 卷五十九 卷六十 卷六十一 卷六十二 卷六十三 卷六十四 卷六十五 卷六十六 卷六十七 卷六十八 卷六十九 卷七十 卷七十一 卷七十二 卷七十三 卷七十四 卷七十五 卷七十六 卷七十七 卷七十八 卷七十九 卷八十 卷八十一 卷八十二 卷八十三 卷八十四 卷八十五 卷八十六 卷八十七 卷八十八 卷八十九 卷九十 卷九十一 卷九十二 卷九十三 卷九十四 卷九十五 卷九十六 卷九十七 卷九十八 卷九十九 卷一百

HA0_A-California-7-09_H1N1	SLPFQNIHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNIPSIQ----	SRGLFGAIAGFIEGGWTGM	344
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	SLPFQNVHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNVPSIQ----	SRGLFGAIAGFIEGGWTGM	344
HA0_A-Brisbane-02-18	SLPFQNVHPVTIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNVPSIQ----	SRGLFGAIAGFIEGGWTGM	344
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	SMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQRESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGM		347
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	SMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQGEKRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGM		346
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	NLPFQNIIDSRAVGKCPRYVKQRSLLLATGMKNVPEIP---	KGRGLFGAIAGFIEGWEG	338
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	NLPFQNIIDSRAVGKCPRYVKQRSLLLATGMKNVPEIP---	KGRGLFGAIAGFIEGWEG	338
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	DKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER----	QTRGIFGAIAGFIEGWEG	346
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	DKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPEK----	QTRGIFGAIAGFIEGWEG	346

[illegible]

Фиг. 1А-3 Продолжение

HA0_A-California-7-09_H1N1	VDGWYGYHHQNEQGSgyAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNHLEKRI	404
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	VDGWYGYHHQNEQGSgyAADLKSTQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNHLEKRI	404
HA0_A-Brisbane-02-18	VDGWYGYHHQNEQGSgyAADLKSTQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQDTAVGKEFNHLEKRI	404
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	VDGWYGYHHSNEQGSgyAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRI	407
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	VDGWYGYHHSNEQGSgyAADKESTQRAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRI	406
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	IDGWYGFRHQNAQGGEGTAADYKSTQSAIDQITGKLNRLIEKTNQQFELIDNEFNEVEKQI	398
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	IDGWYGFRHQNAQGGEGTAADYKSTQSAIDQITGKLNRLIEKTNQQFELIDNEFNEVEKQI	398
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	VDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIEKEFSEVEGRI	406
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	VDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIEKEFSEVEGRV	406
	:*****::*_* :* * *** :*** ** :..*:* :* * * : : .**...* ::	

HA0_A-California-7-09_H1N1	ENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLLLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGC	464
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	ENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLLLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGC	464
HA0_A-Brisbane-02-18	ENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLMENERTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGC	464
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	ENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGC	467
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	ENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGC	466
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	GNVINWTRDSITEVWSYNAELLVAMENQHTIDLADSEMDKLYERVKRQLRENAEEDGTGC	458
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	GNVINWTRDSITEVWSYNAELLVAMENQHTIDLADSEMDKLYERVKRQLRENAEEDGTGC	458
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	QDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSMNKLFKTKKQLRENAEDMGNGC	466
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	QDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSMNKLFKTKKQLRENAEDMGNGC	466
	:: : * :*:***** :*:*:** :*:*:*:*:*: :*:*:*:*: :*_**	

Фиг. 1А-4 Продолжение

HA0_A-California-7-09_H1N1	FEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSL	524
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	FEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSL	524
HA0_A-Brisbane-02-18	FEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSL	524
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	FEFYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSL	527
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	FEFYHRCDCNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSL	526
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	FEIFHKCDDDCMASIRNNTYDHSKYREEAMQNRIQIDPVKLSSGYKDVI-LWFSFGASCF	517
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	FEIFHKCDDDCMASIRNNTYDHSKYREEAMQNRIQIDPVKLSSGYKDVI-LWFSFGASCF	517
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWI-LWISFAISCF	525
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	FKIYHKCDNACIGSIRNETYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWI-LWISFAISCF	525
* . . . * . * . * . * * . * . * . * . * . * . * . * . * .		

HA0_A-California-7-09_H1N1	VLVVS LGAISFWMC SNGSLQCRICI	549
HA0_A-Idaho-7-18_H1N1	VLVVS LGAISFWMC SNGSLQCRICI	549
HA0_A-Brisbane-02-18	VLVVS LGAISFWMC SNGSLQCRICI	549
HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1	ALAIMMAGLSLWMC SNGSLQCRICI	552
HA0_A-Egypt-N04915-14_H5N1	ALAIMVAGLSLWMC SNGSLQCRICI	551
HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9	ILLAI VMGLVFICVKNGNM RCTICI	542
HA0_A-Hangzhou-1-13_H7N9	ILLAI VMGLVFICVKNGNM RCTICI	542
HA0_A-Kansas-14-17_H3N2	LLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI	550
HA0_A-Minnesota-41-19_H3N2	LLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI	550
	* . . . * * * *	

Фиг. 1В

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSYFANLKGTRTRGKLCPDCLNC	60
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSYFANLKGTRTRGKLCPDCLNC	60
HA_B-Maryland-15-16_Vic	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSHFANLKGTETRGKLCPKCLNC	60
HA_B-Victoria-705-18_Vic	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSHFANLKGTETRGKLCPKCLNC	60
HA_B-Washington-12-19_Vic	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSHFANLKGTETRGKLCPKCLNC	60
HA_B-Darwin-08-19_Vic	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSHFANLKGTETRGKLCPKCLNC	60
HA_B-Darwin-20-19_Vic	DRICTGITSSNSPHVVKTIATQGEVNVITGVIPLTITPTKSHFANLKGTKTRGKLCPKCLNC	60
	*****;*****;*****;****	
HA_B-Phuket-3703-13_Yam	TDLDVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEKIRLS	120
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	TDLDVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEKIRLS	120
HA_B-Maryland-15-16_Vic	TDLDVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLS	120
HA_B-Victoria-705-18_Vic	TDLDVALSRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLS	120
HA_B-Washington-12-19_Vic	TDLDVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLS	120
HA_B-Darwin-08-19_Vic	TDLDVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLS	120
HA_B-Darwin-20-19_Vic	TDLDVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLS	11
	*****. ** *. *. ***;.*****;*****;****	

Фиг. 1В-1 Продолжение

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	TQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYIC	180
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	TQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYIC	180
HA_B-Maryland-15-16_Vic	THNVINAEDAPGGPYKIGTSGSCP NITNGNGFFATMAWAVPDKN-KTATNPLTIEVPYVC	179
HA_B-Victoria-705-18_Vic	THNVINAEDAPGGPYEIGTSGSCP NITNGNGFFATMAWAVPK-N-KTATNPLTIEVPYIC	178
HA_B-Washington-12-19_Vic	THNVINAEDAPGRPYEIGTSGSCP NITNGNGFFATMAWAVPK-N-KTATNPLTIEVPYIC	178
HA_B-Darwin-08-19_Vic	THNVINAEDAPGRPYEIGTSGSCP NITNGNGFFATMAWAVPK-N-KTATNPLTIEVPYIC	178
HA_B-Darwin-20-19_Vic	THNVINAEDAPGRPYEIGTSGSCP NITNGNGFFATMAWAVPK-N-KTATNPLTIEVPYIC	178
	*:****:***,*** **,:***** * , ***** , * *,***** *:*****:*	
HA_B-Phuket-3703-13_Yam	TEGEDQITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTISSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLP	240
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	TEGEDQITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTISSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLP	240
HA_B-Maryland-15-16_Vic	TEGEDQITVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPKQKFTISSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLP	239
HA_B-Victoria-705-18_Vic	TEGEDQITVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPKQKFTISSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLP	238
HA_B-Washington-12-19_Vic	TEGEDQITVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPKQKFTISSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLP	238
HA_B-Darwin-08-19_Vic	TEGEDQITVWGFHSDNEAQMAKLYGDSKPKQKFTISSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLP	238
HA_B-Darwin-20-19_Vic	TEGEDQITVWGFHSDNEIQMAKLYGDSKPKQKFTISSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLP	23°
	*****:*****: ** ,*****:*****:*****,***:*****	

Фиг. 1В-2 Продолжение

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	QSGRIVVDYMMQKPGKTGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEY G	300
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	QSGRIVVDYMVQKPGKTGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEY G	300
HA_B-Maryland-15-16_Vic	QSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKY G	299
HA_B-Victoria-705-18_Vic	QSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKY G	298
HA_B-Washington-12-19_Vic	QSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKY G	298
HA_B-Darwin-08-19_Vic	QSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKY G	298
HA_B-Darwin-20-19_Vic	QSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKY G	298

[illegible]

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	GLNKSCKPYTGGKAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	360
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	GLNKSCKPYTGGKAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	360
HA_B-Maryland-15-16_Vic	GLNKSCKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	359
HA_B-Victoria-705-18_Vic	GLNKSCKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	358
HA_B-Washington-12-19_Vic	GLNKSCKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	358
HA_B-Darwin-08-19_Vic	GLNKSCKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	358
HA_B-Darwin-20-19_Vic	GLNKSCKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFFGAIAGFLEGGW	35

敬啟者：敝處有上等熟地，坐落於廣東省城，地勢寬闊，土質肥沃，適宜種植各種農作物。如有意租賃者，請逕向敝處接洽。此啟。

Фиг. 1В-3 Продолжение

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	420
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	420
HA_B-Maryland-15-16_Vic	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	419
HA_B-Victoria-705-18_Vic	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	418
HA_B-Washington-12-19_Vic	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	418
HA_B-Darwin-08-19_Vic	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	418
HA_B-Darwin-20-19_Vic	EGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH	418

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVDIG	480
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVDIG	480
HA_B-Maryland-15-16_Vic	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIG	479
HA_B-Victoria-705-18_Vic	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIG	478
HA_B-Washington-12-19_Vic	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIG	478
HA_B-Darwin-08-19_Vic	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIG	478
HA_B-Darwin-20-19_Vic	NEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIG	477

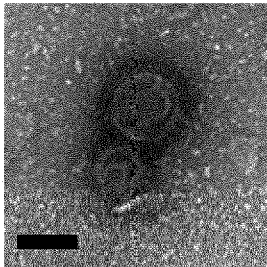
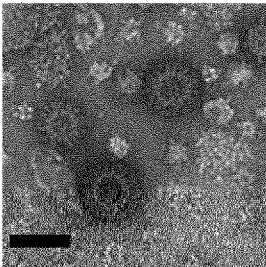
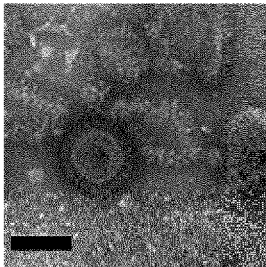
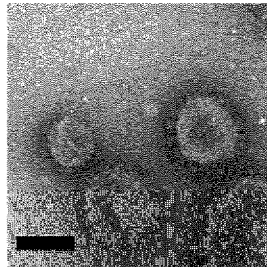
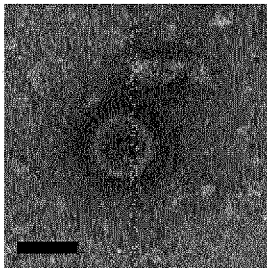
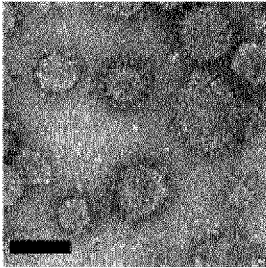
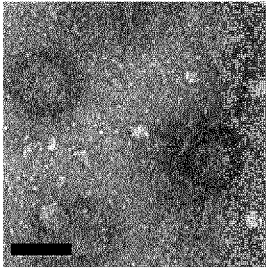
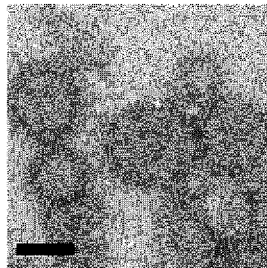
*****;

Фиг. 1В-4 Продолжение

HA_B-Phuket-3703-13_Yam	NGCFETKHKCNQITCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	540
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	NGCFETKHKCNQITCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	540
HA_B-Maryland-15-16_Vic	NGCFETKHKCNQITCLDKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	539
HA_B-Victoria-705-18_Vic	NGCFETKHKCNQITCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	538
HA_B-Washington-12-19_Vic	NGCFETKHKCNQITCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	538
HA_B-Darwin-08-19_Vic	NGCFETKHKCNQITCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	538
HA_B-Darwin-20-19_Vic	NGCFETKHKCNQITCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTA	538
*****:*****:*****:*****:*****:*****		

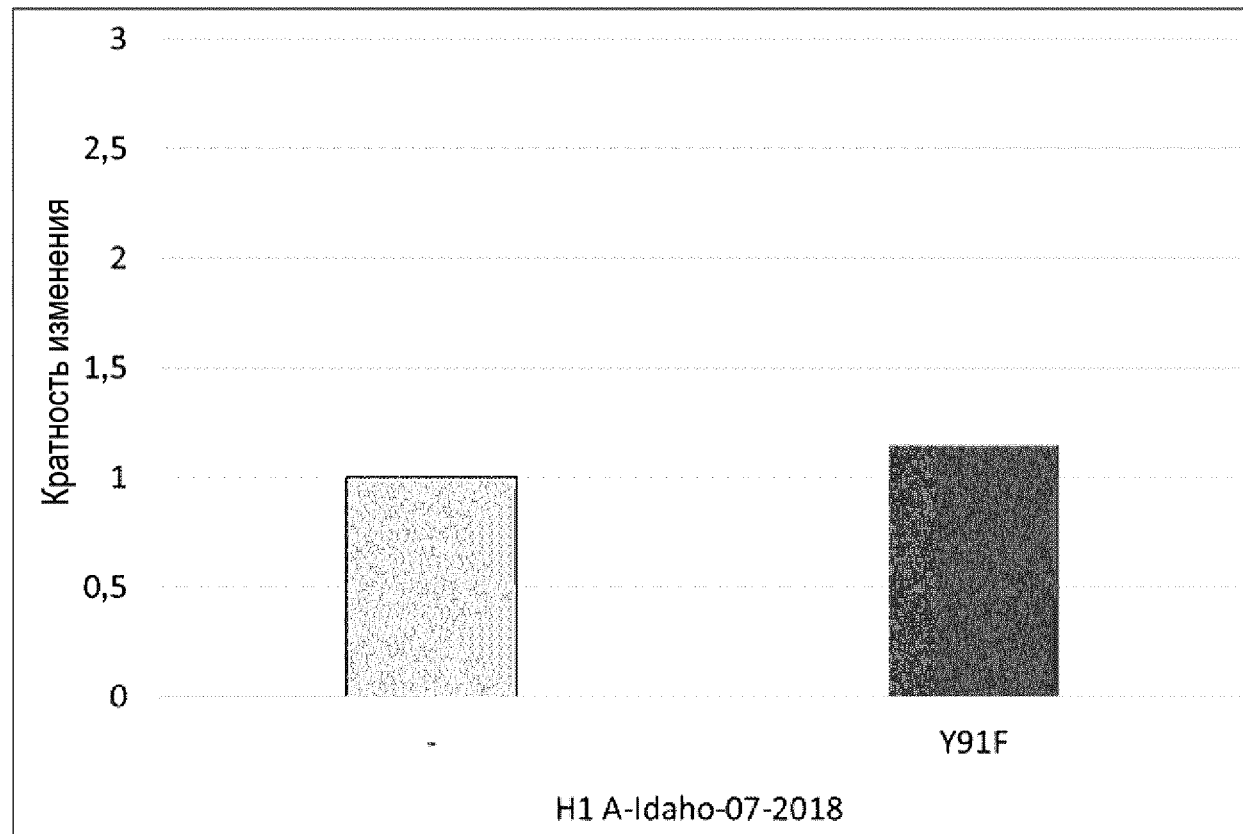
HA_B-Phuket-3703-13_Yam	ASSLAVTLMIAIFVYVMVSRDNVSCSICL	569
HA_B-Singapore-16_0569-16_Yam	ASSLAVTLMIAIFVYVMVSRDNVSCSICL	569
HA_B-Maryland-15-16_Vic	ASSLAVTLMIAIFVVYMVSRDNVSCSICL	568
HA_B-Victoria-705-18_Vic	ASSLAVTLMIAIFVVYMVSRDSVSCSICL	567
HA_B-Washington-12-19_Vic	ASSLAVTLMIAIFVVYMVSRDNVSCSICL	567
HA_B-Darwin-08-19_Vic	ASSLAVTLMIAIFVVYMVSRDNVSCSICL	567
HA_B-Darwin-20-19_Vic	ASSLAVTLMIAIFVVYMVSRDNVSCSICL	567
*****:***:*****:*****		

Фиг. 1С

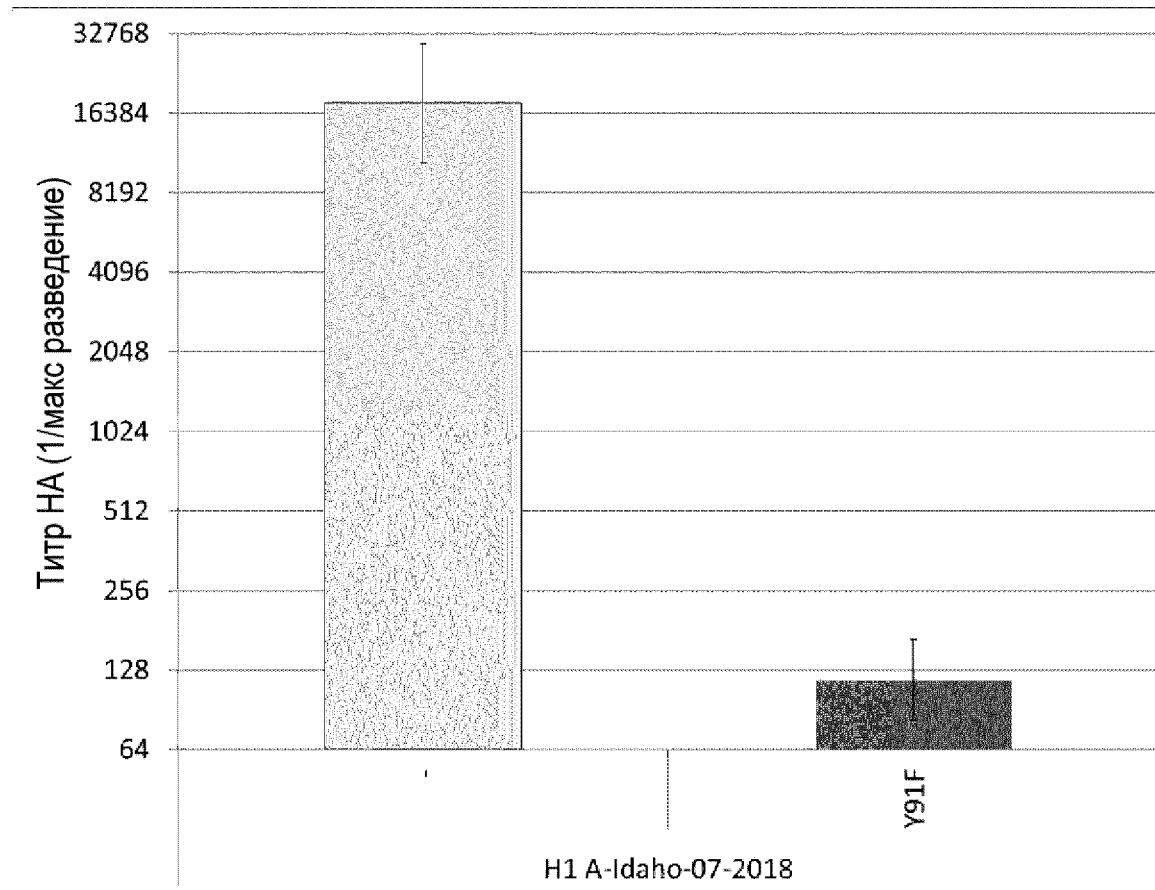
Электронная микроскопия сезонного гриппа				
Подтип или Линия	H1	H3	B/Yamagata	B/Victoria
Штамм	H1/Brisbane	H3/Kansas	B/Phuket	B/Maryland
Связывающая VLP				
Несвязывающая VLP				

 масштабная линейка = 100 нм

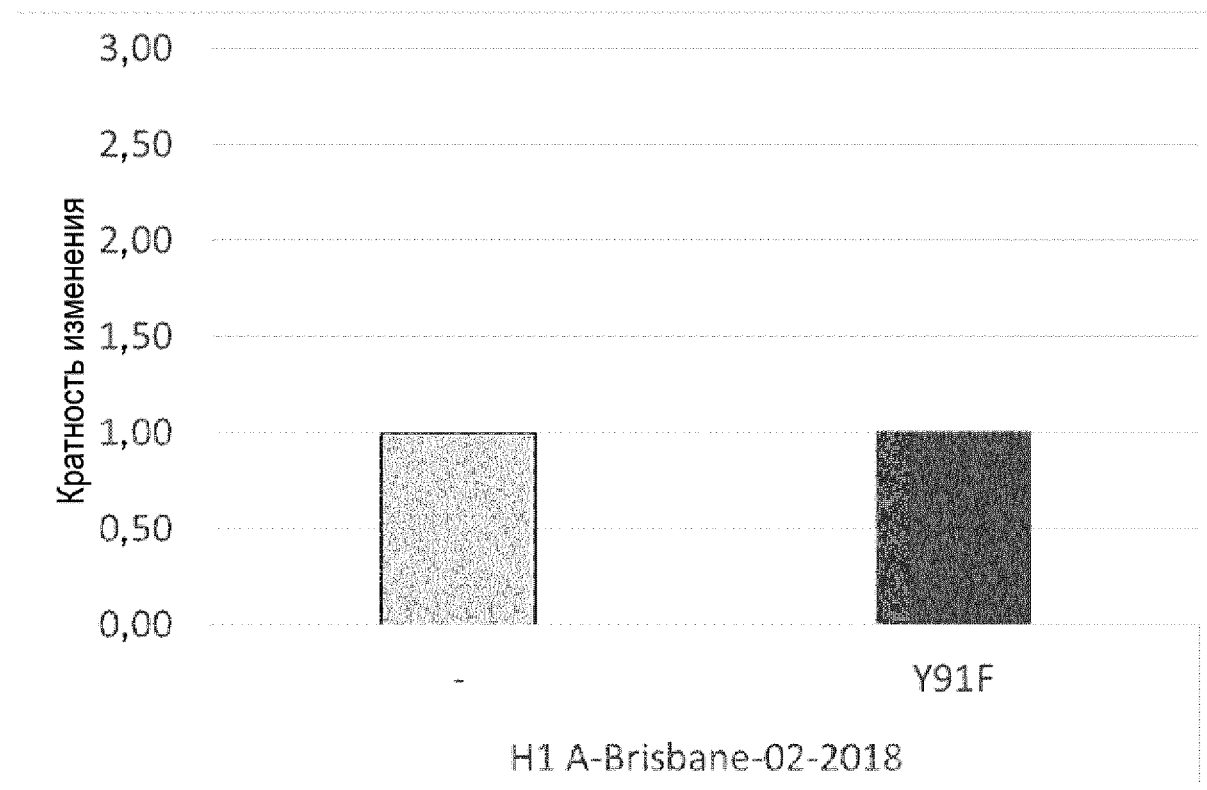
Фиг. 2А



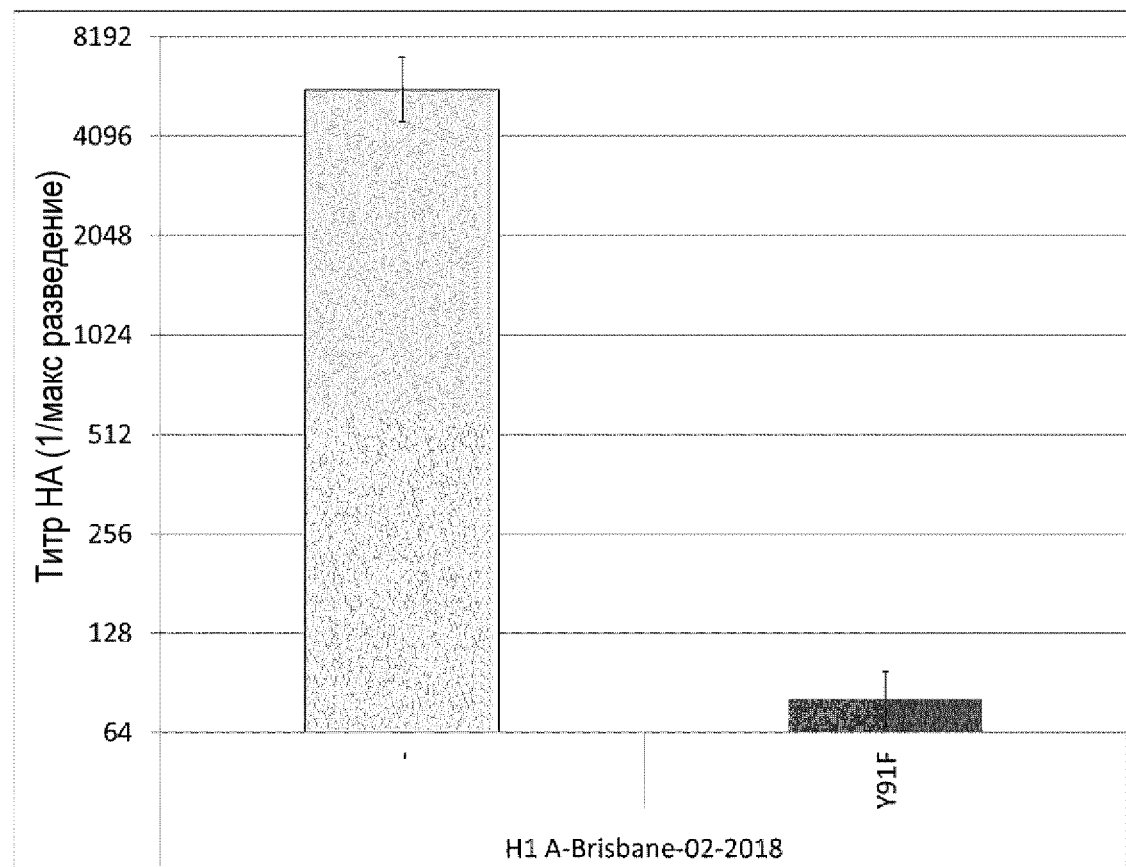
Фиг. 2В



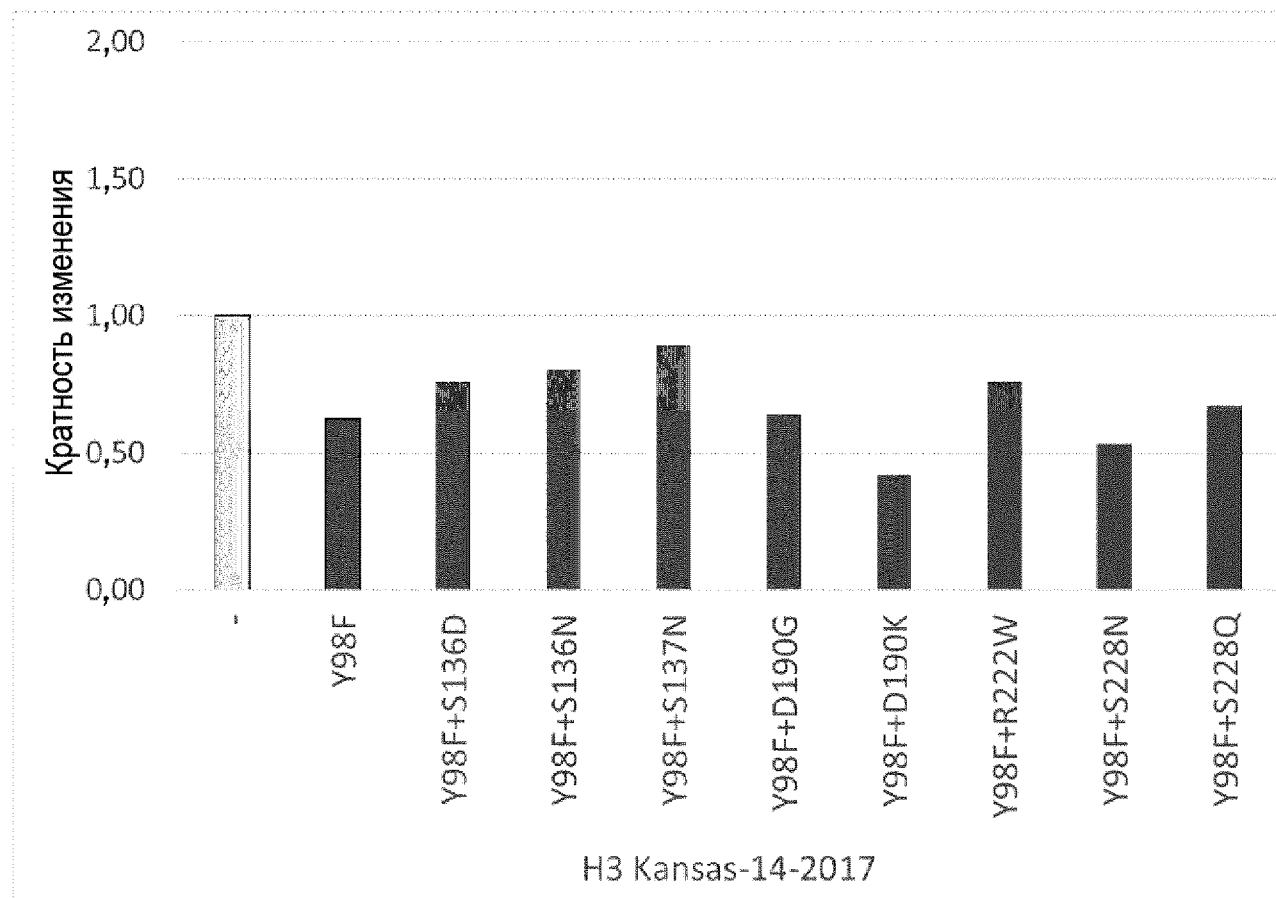
Фиг. 2С



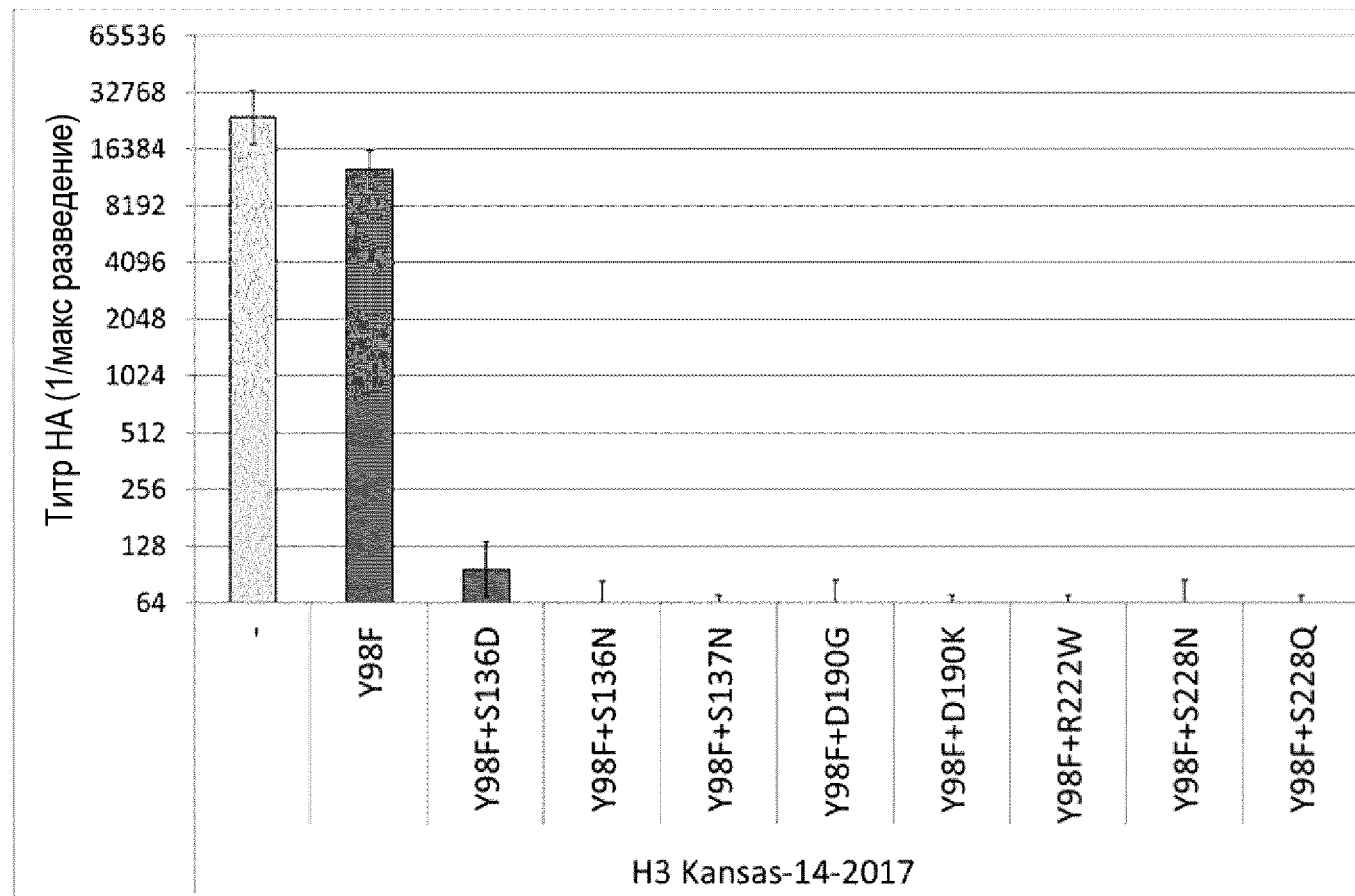
Фиг. 2D



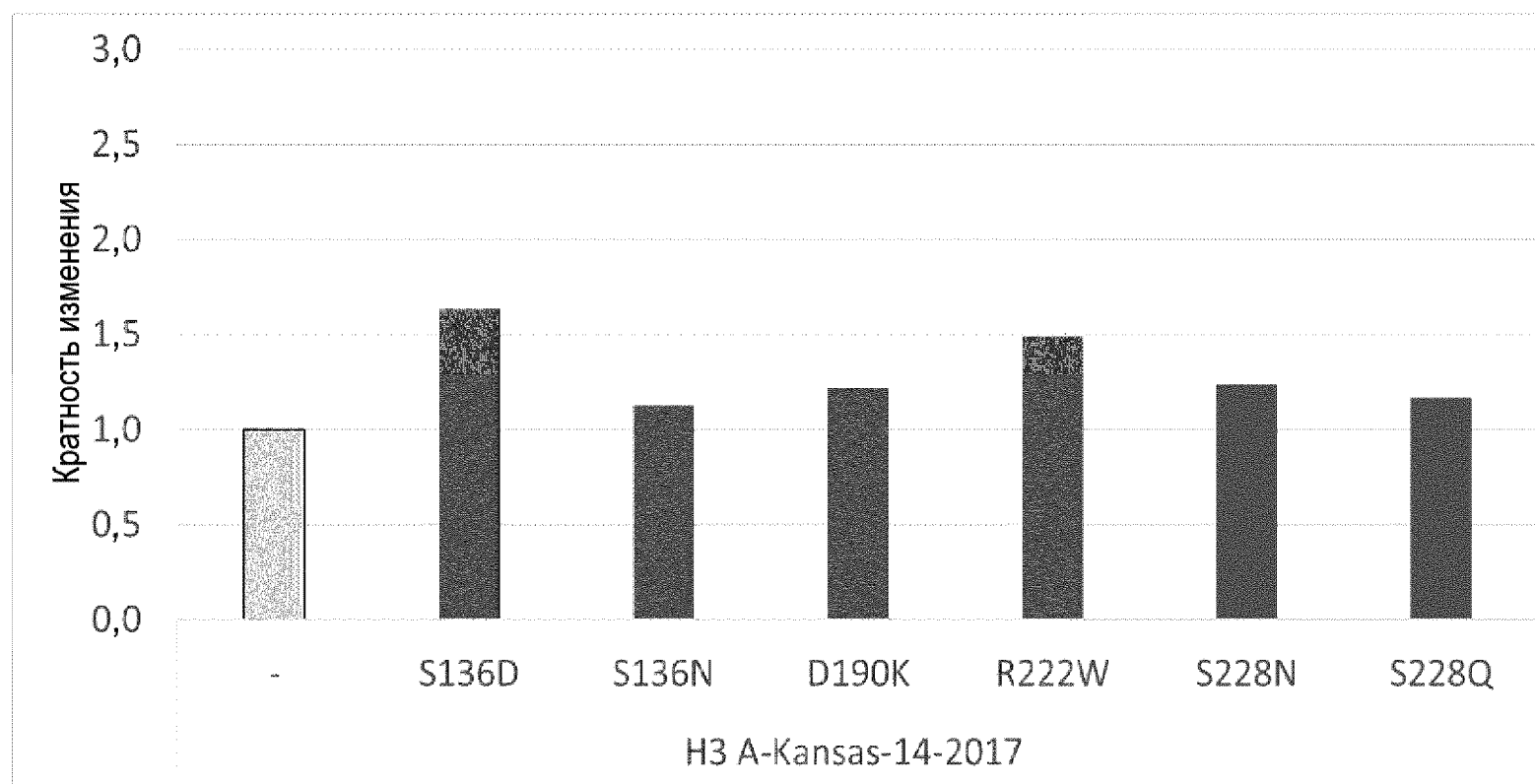
Фиг. 3А



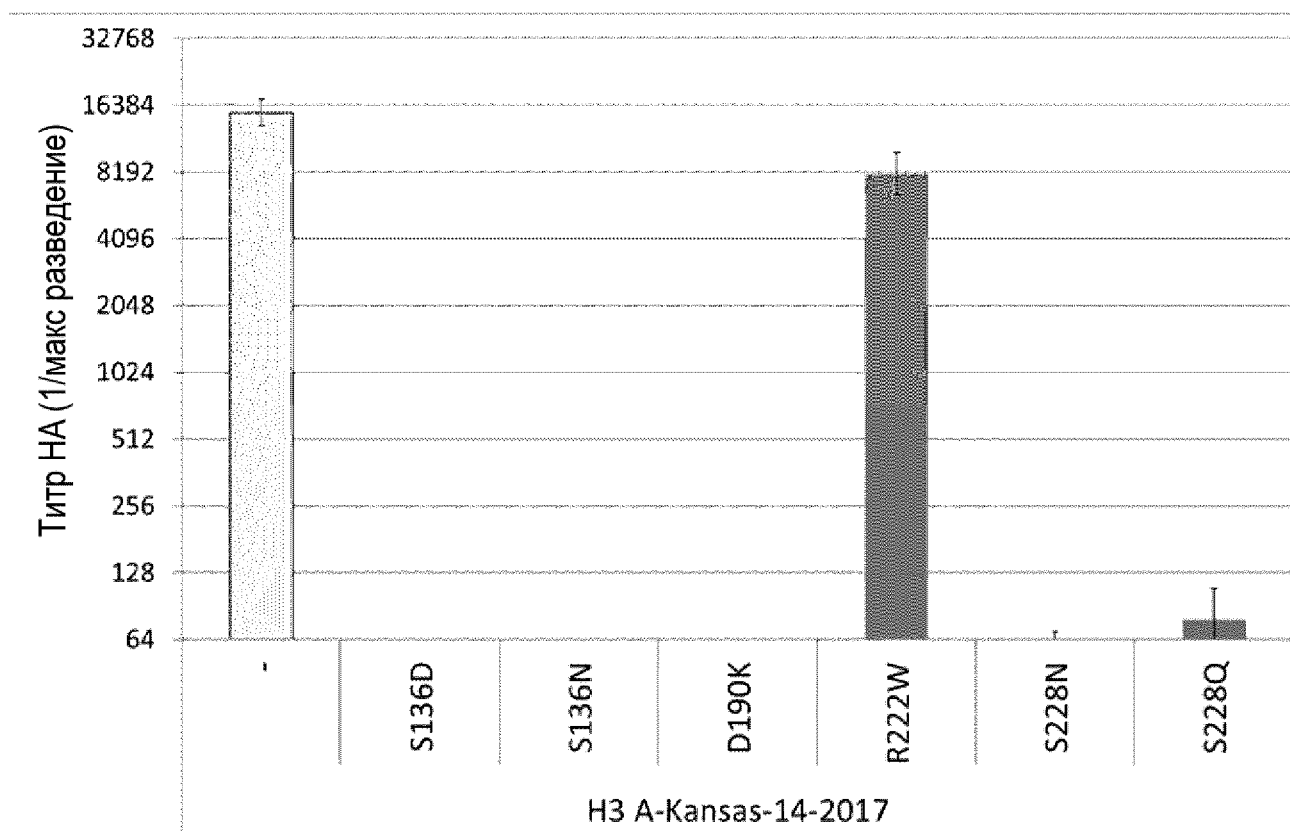
Фиг. 3В



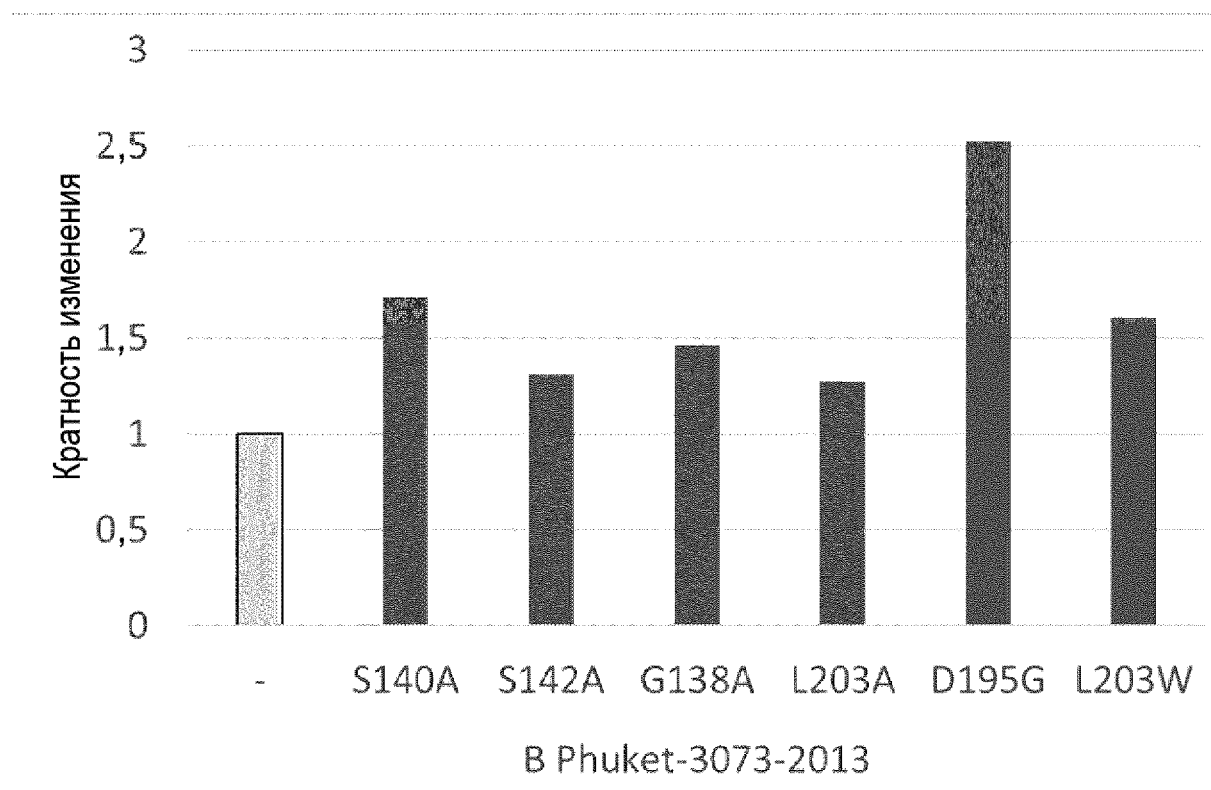
Фиг. 3С



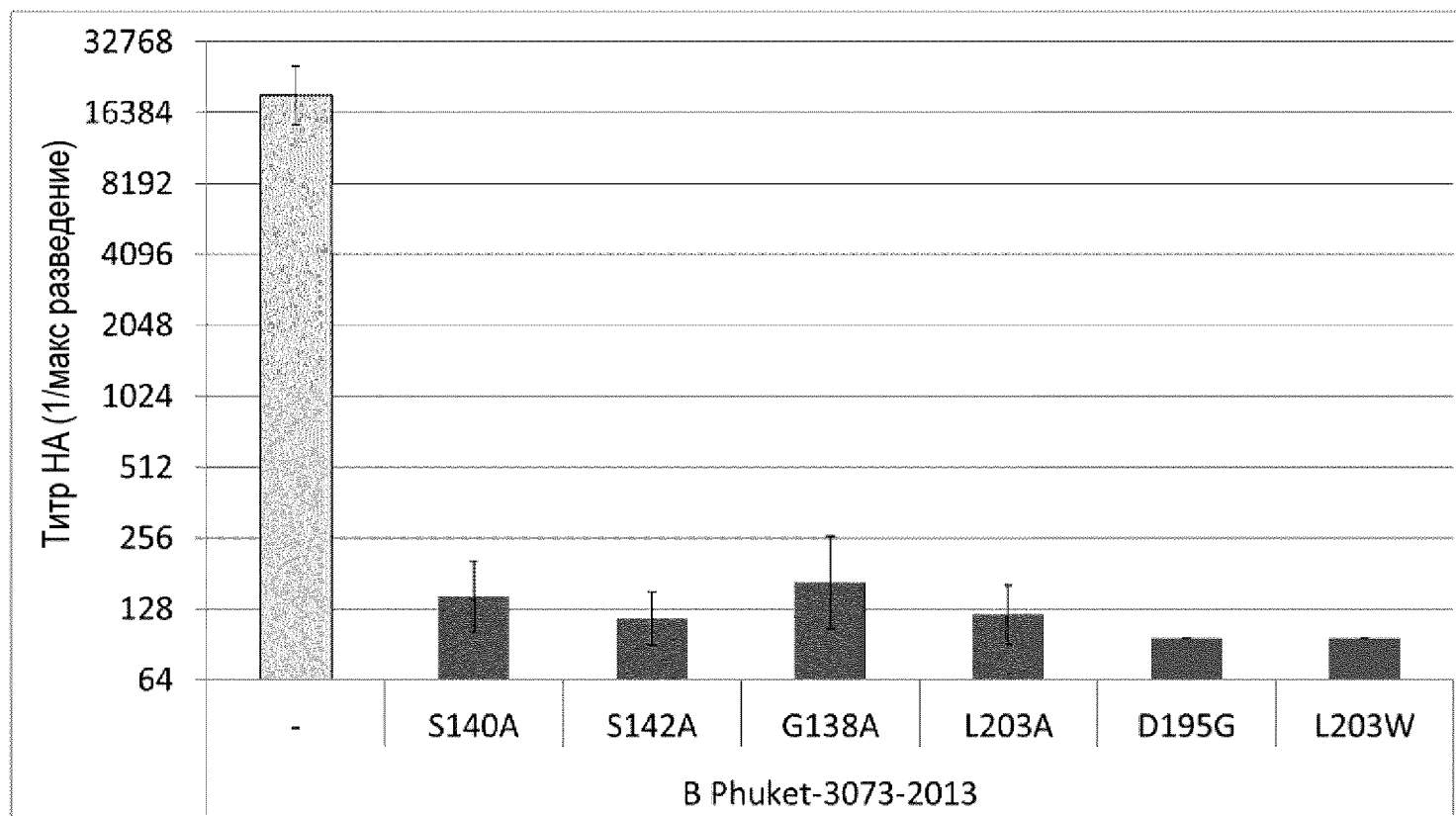
Фиг. 3D



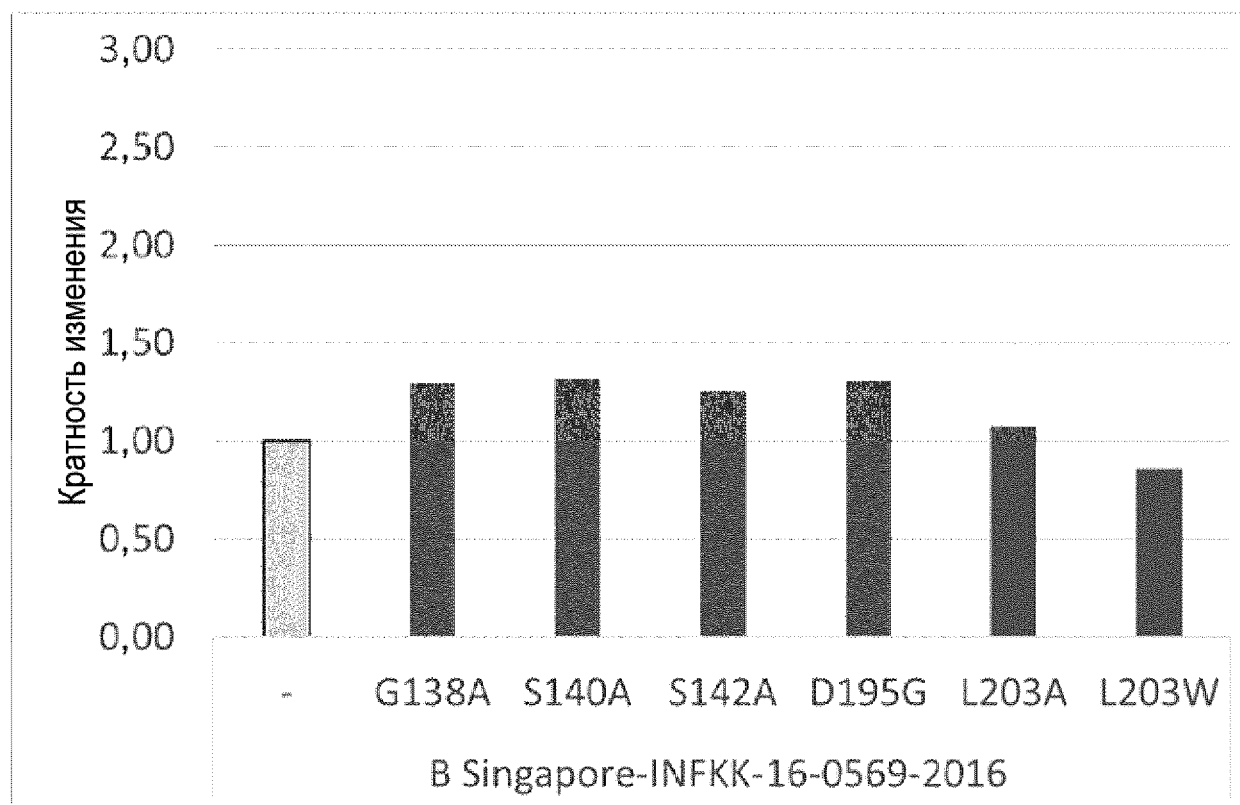
Фиг. 4А



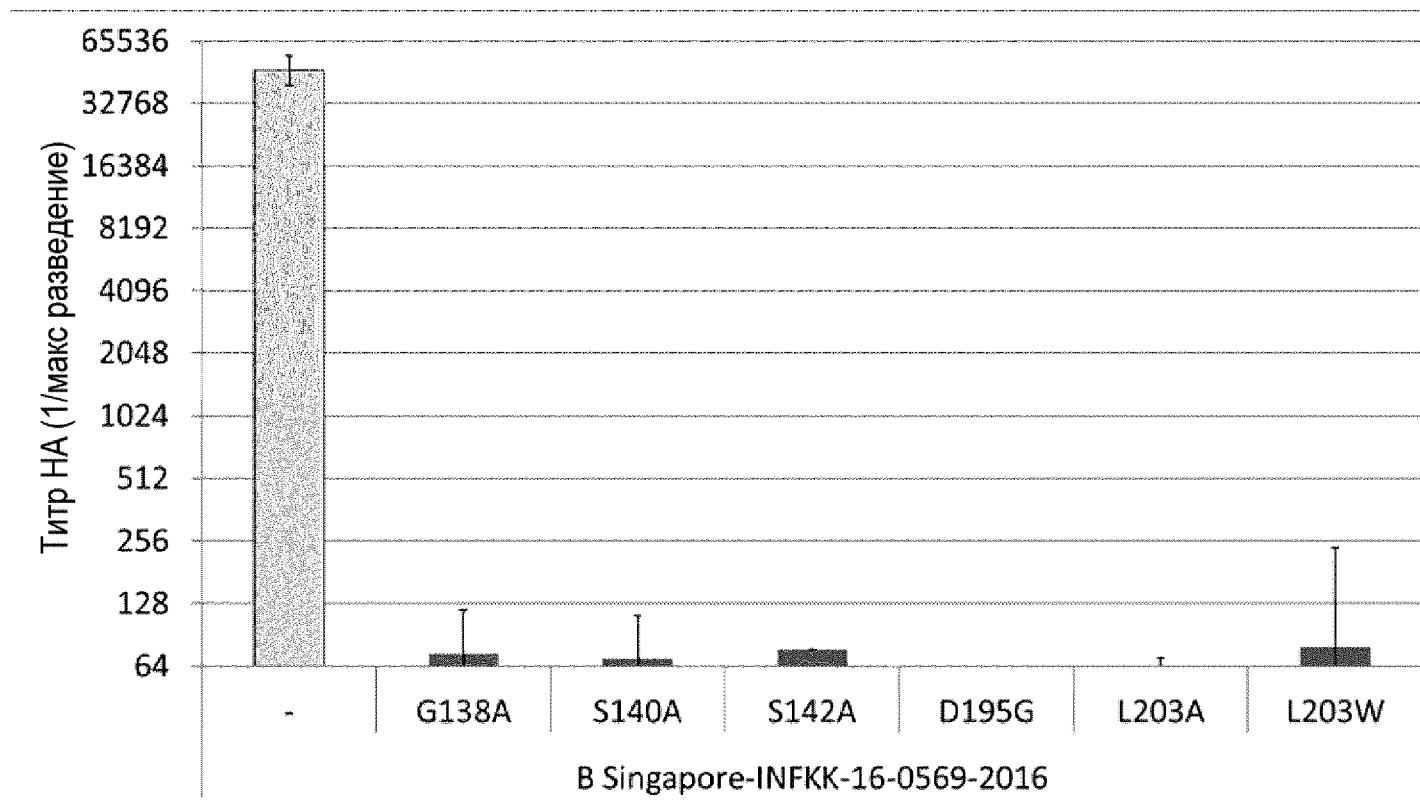
Фиг. 4В



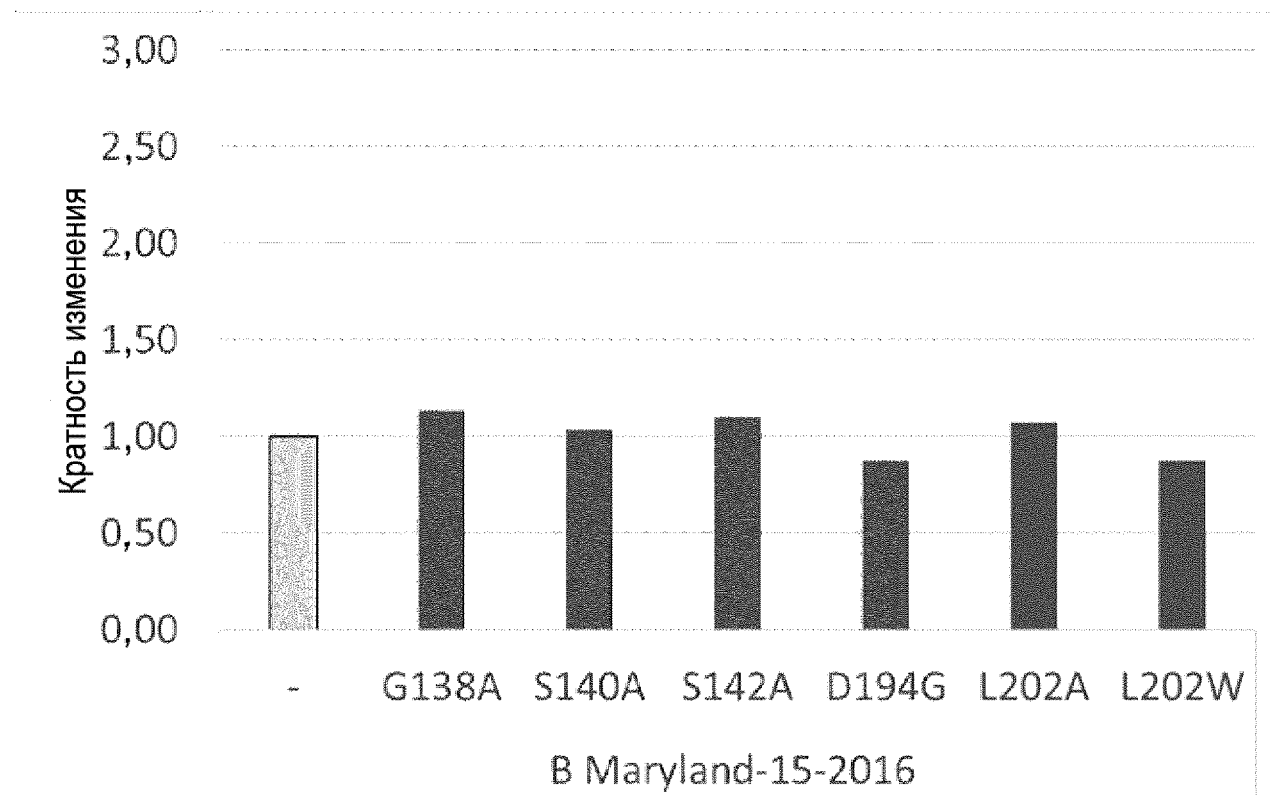
Фиг. 4С



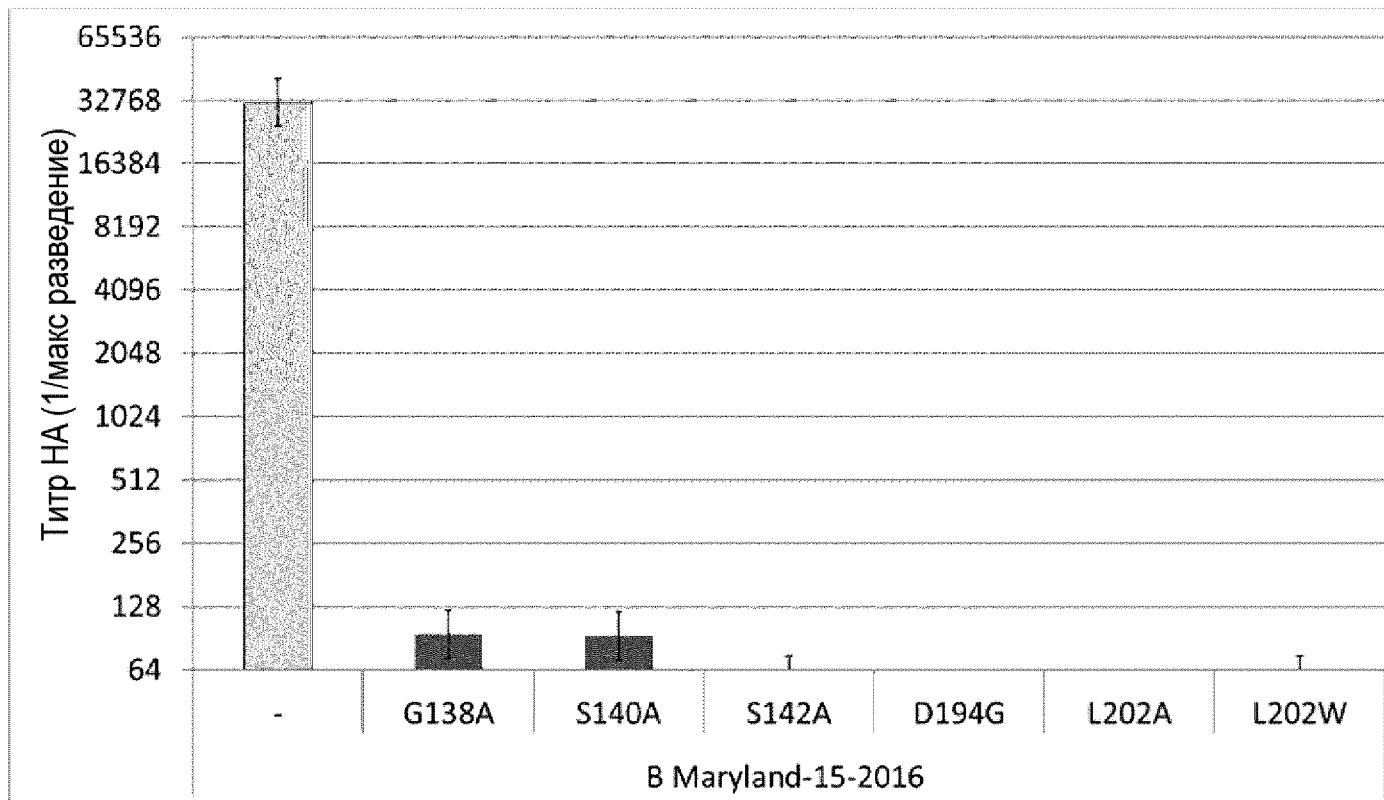
Фиг. 4D



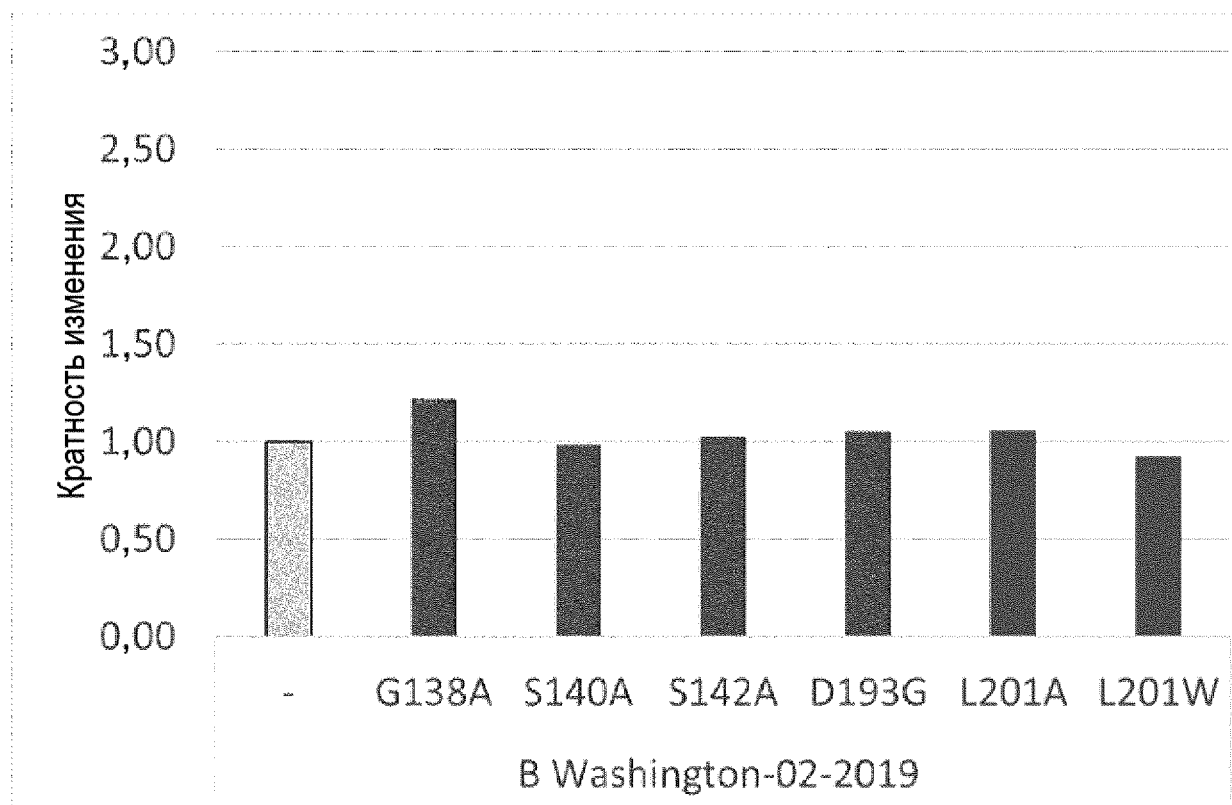
Фиг. 4Е



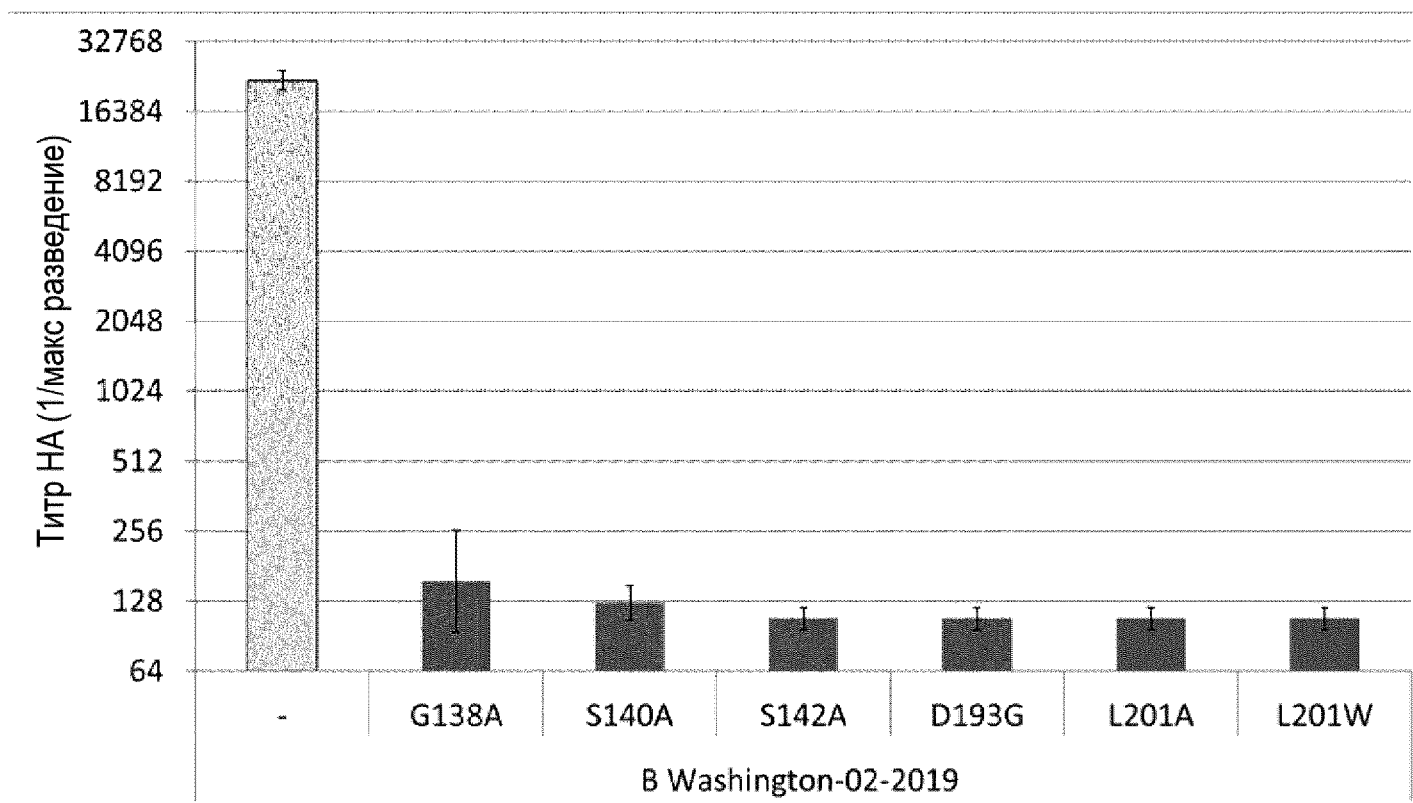
Фиг. 4F



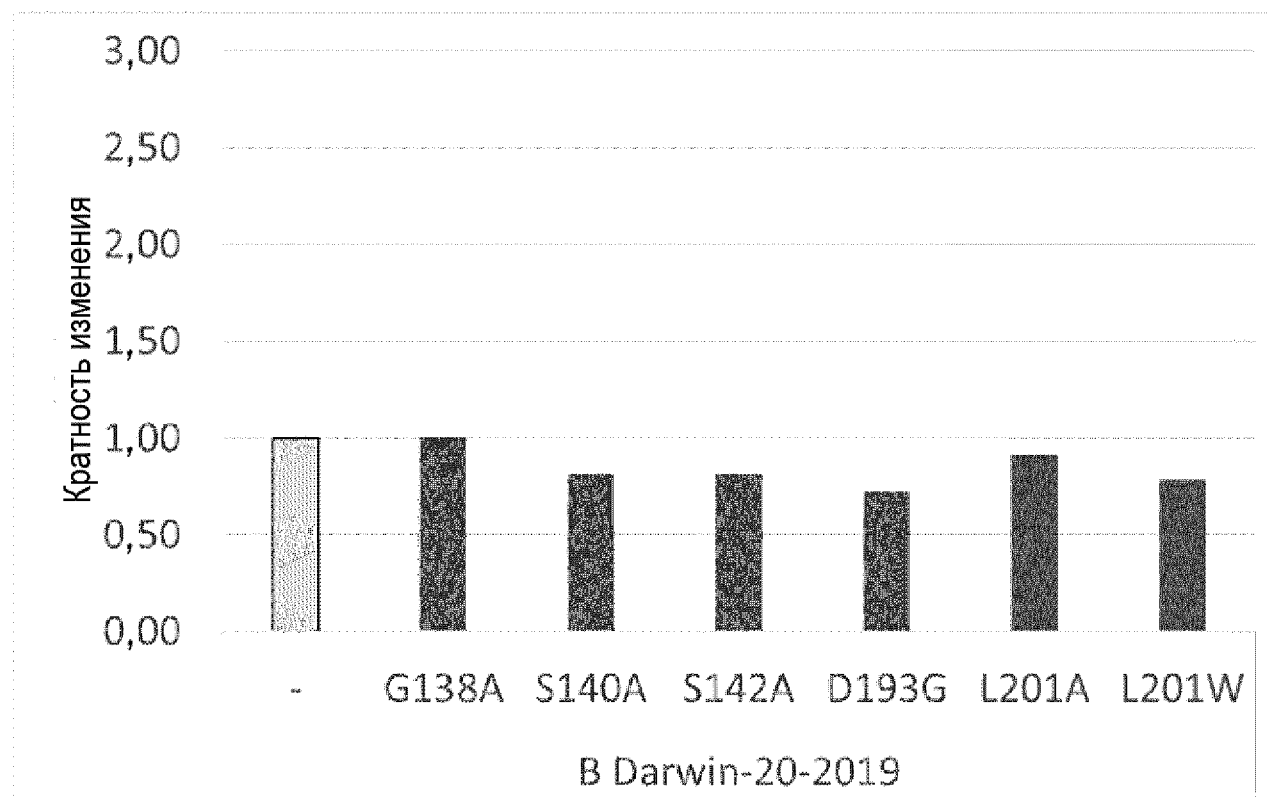
Фиг. 4G



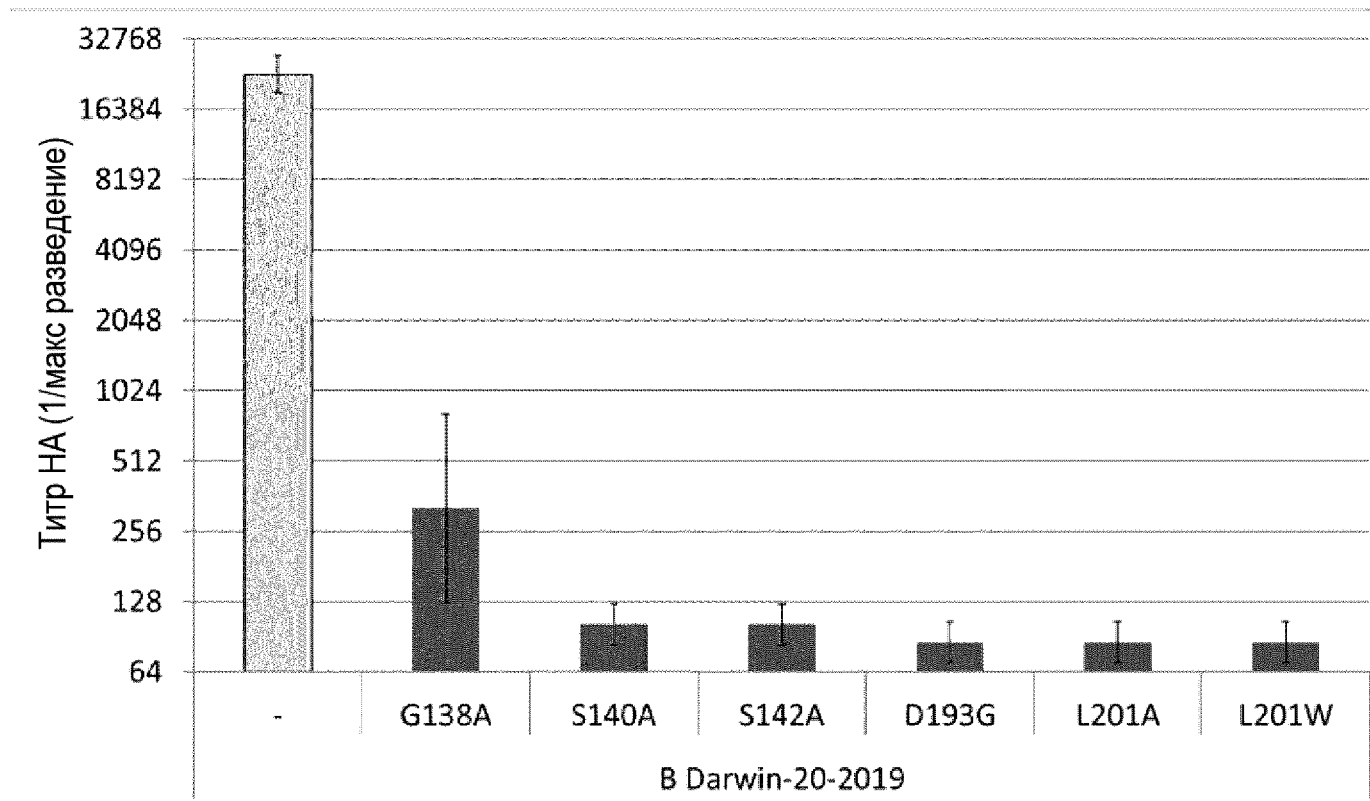
Фиг. 4H



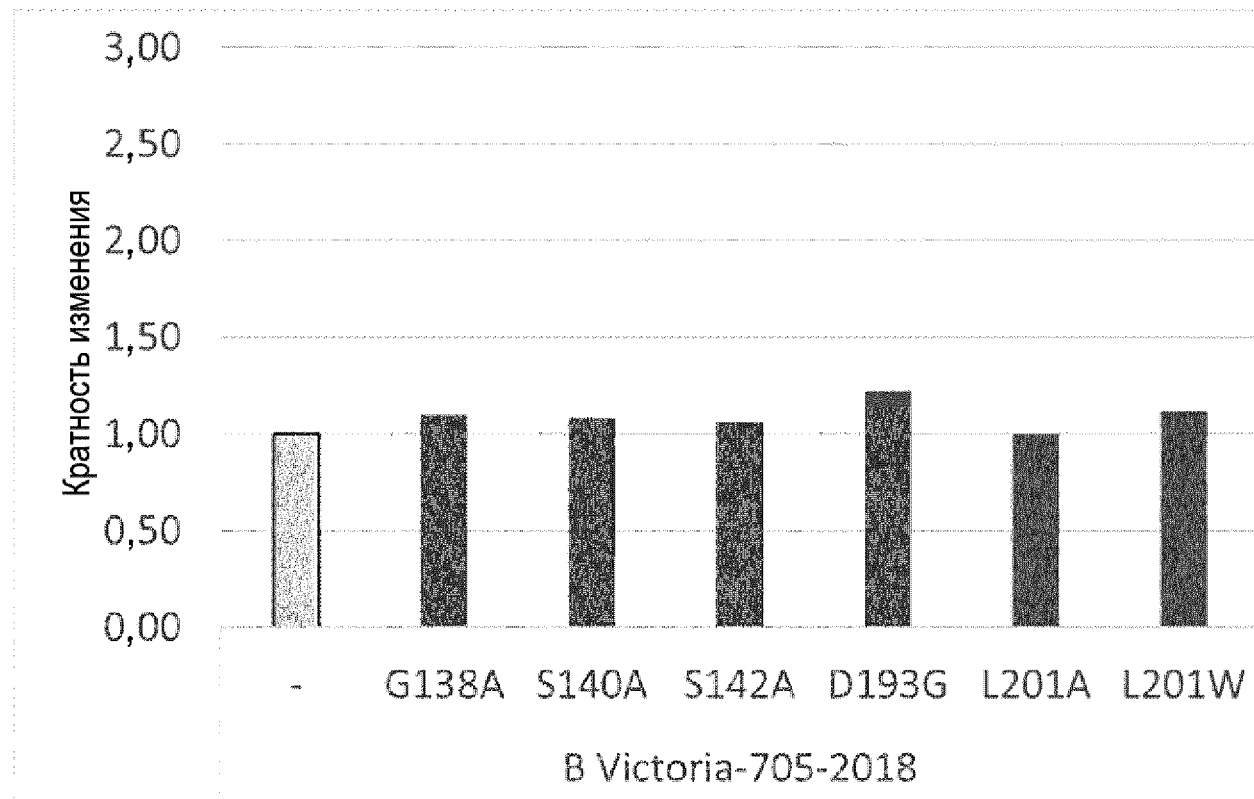
Фиг. 4I



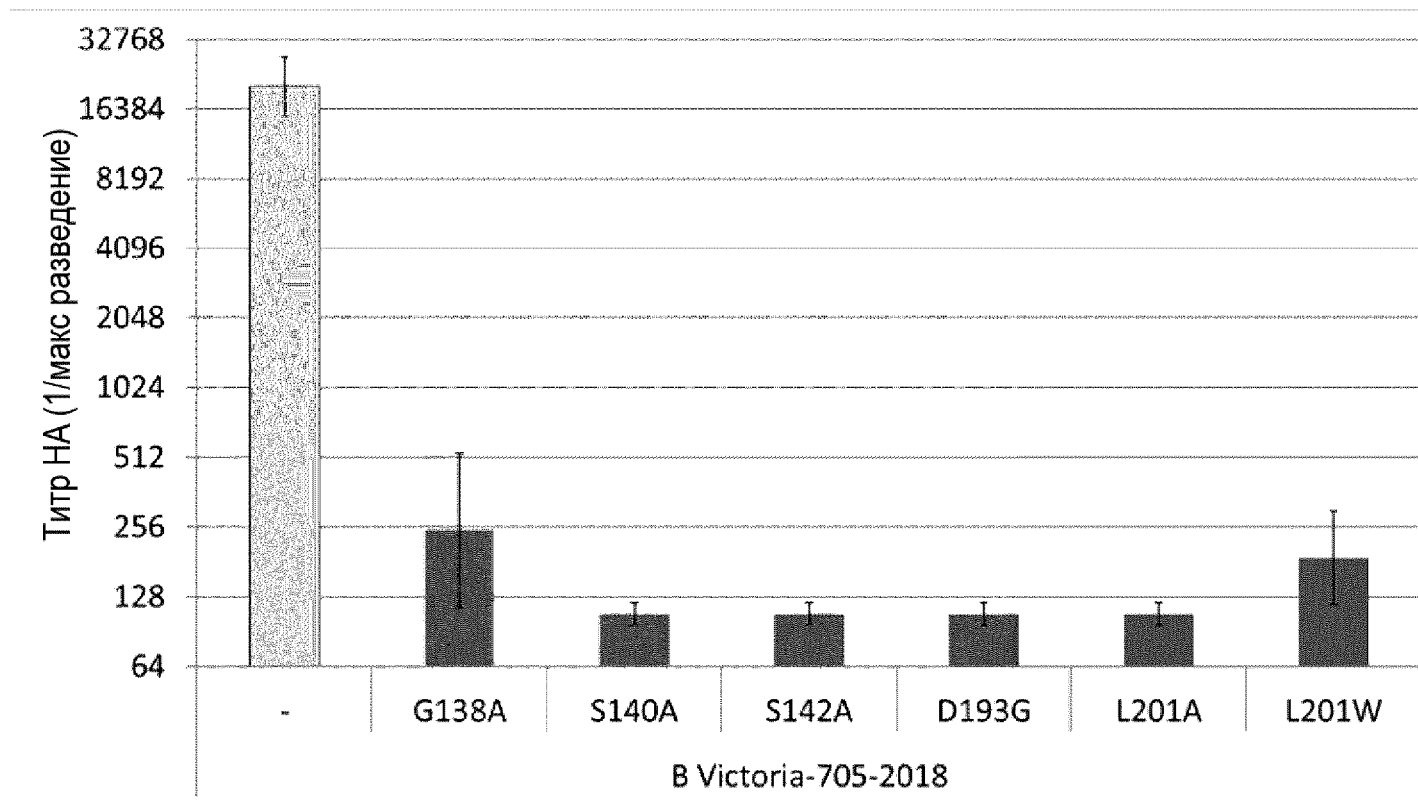
Фиг. 4J



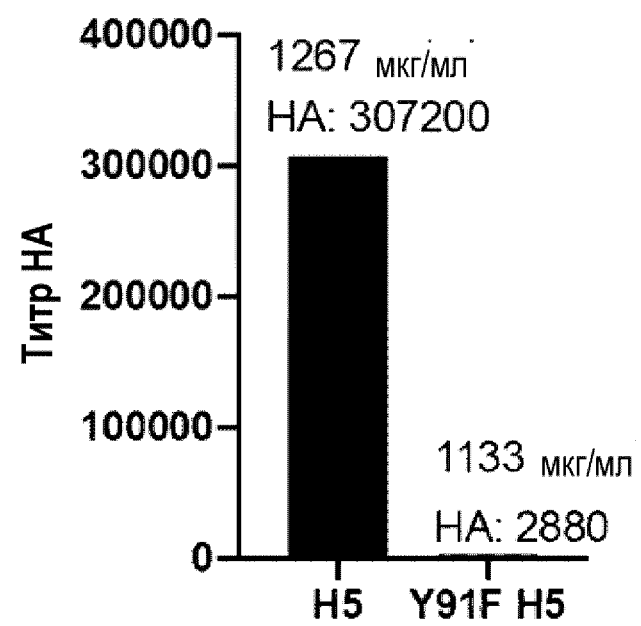
Фиг. 4К



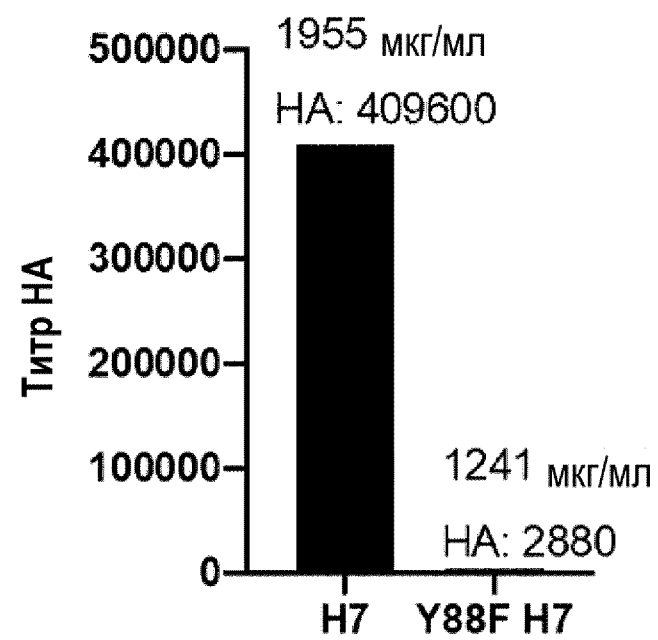
Фиг. 4L



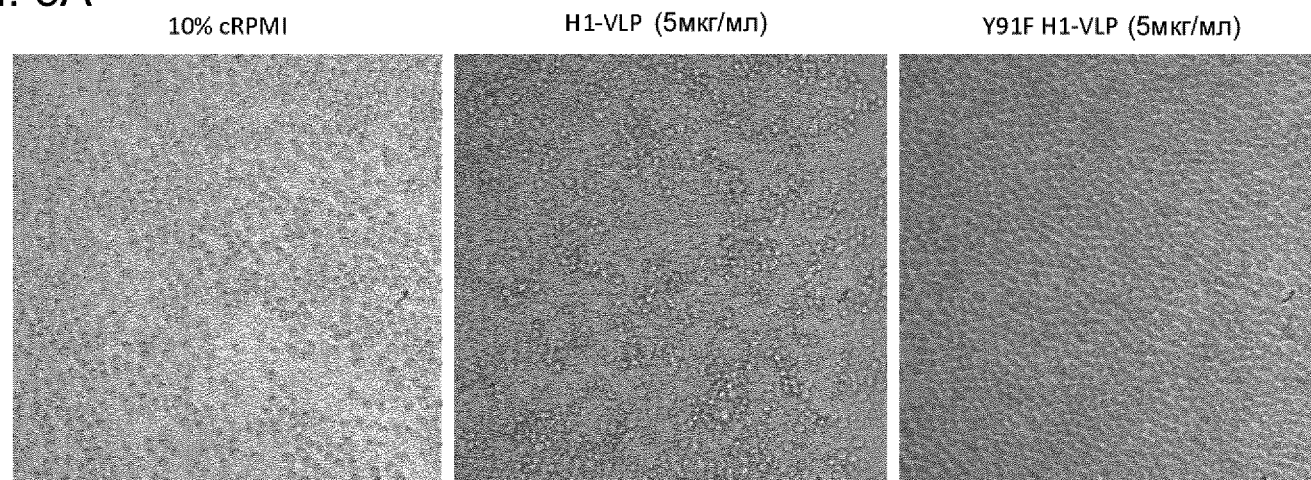
Фиг. 4М



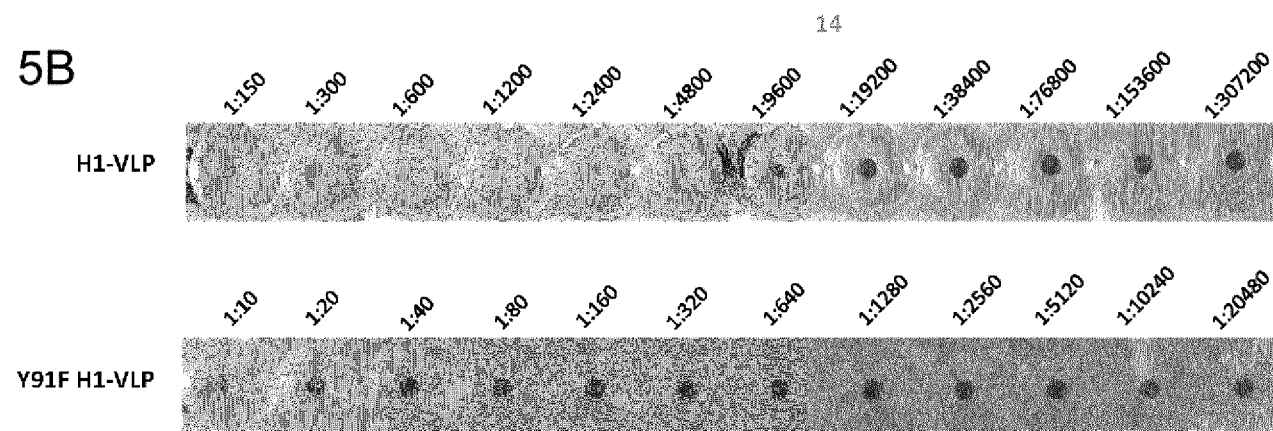
Фиг. 4N



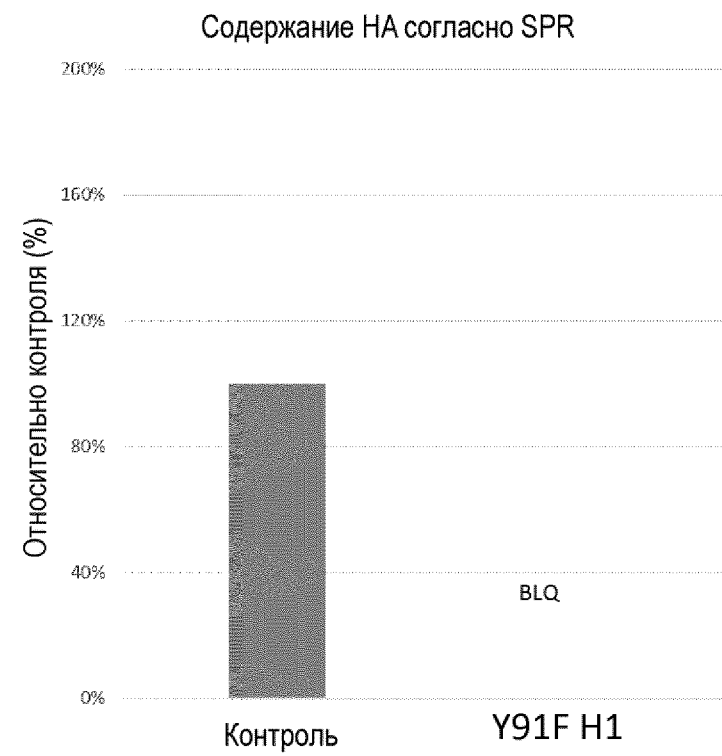
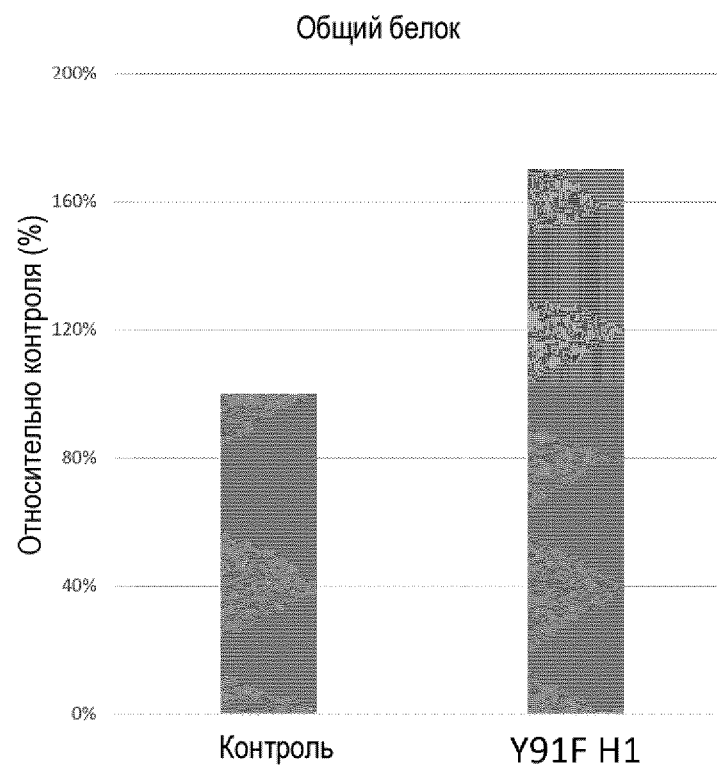
Фиг. 5А



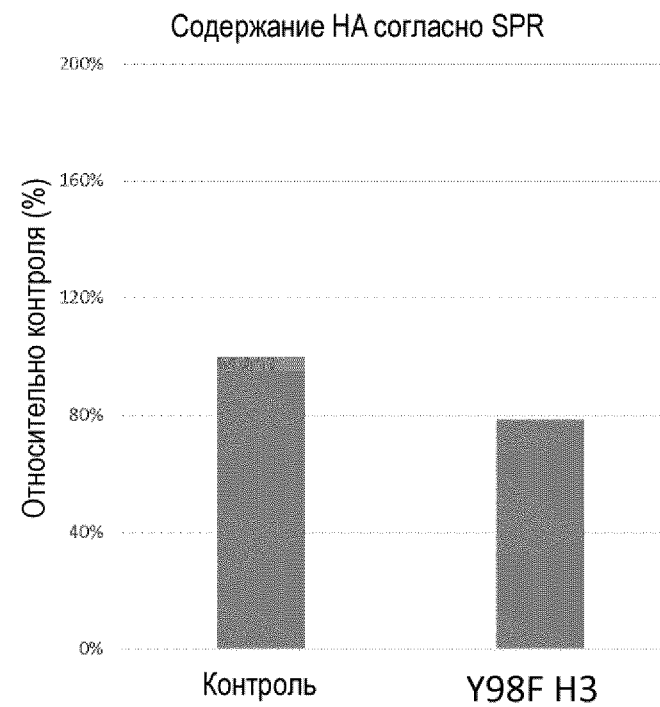
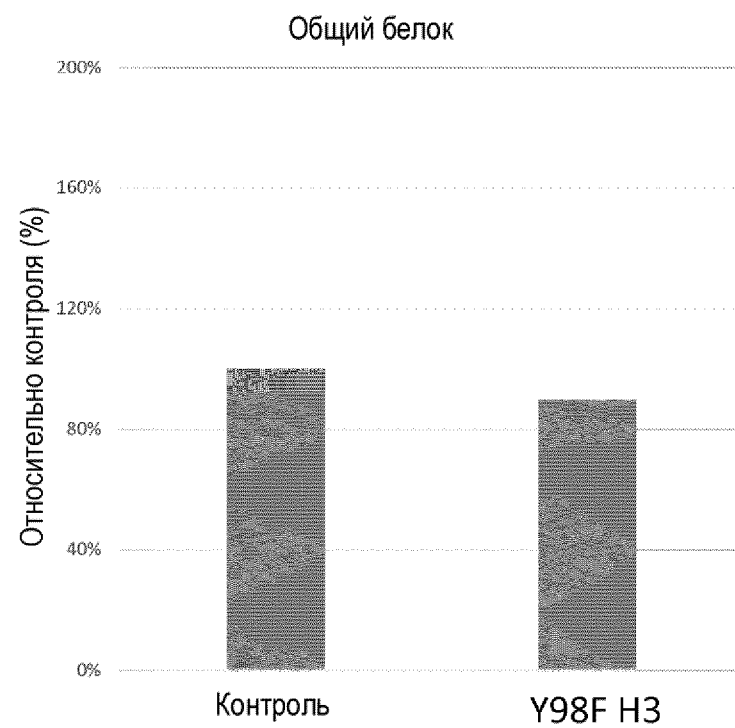
Фиг. 5В



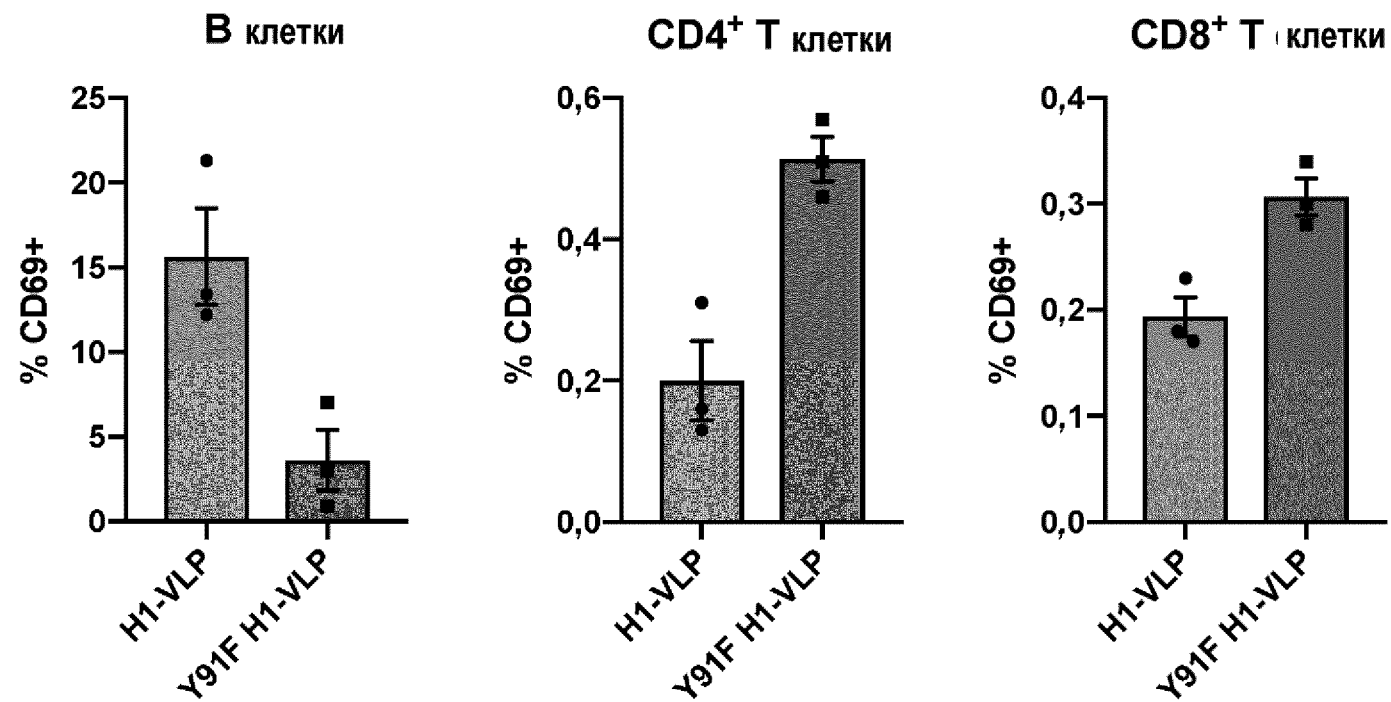
Фиг. 5С



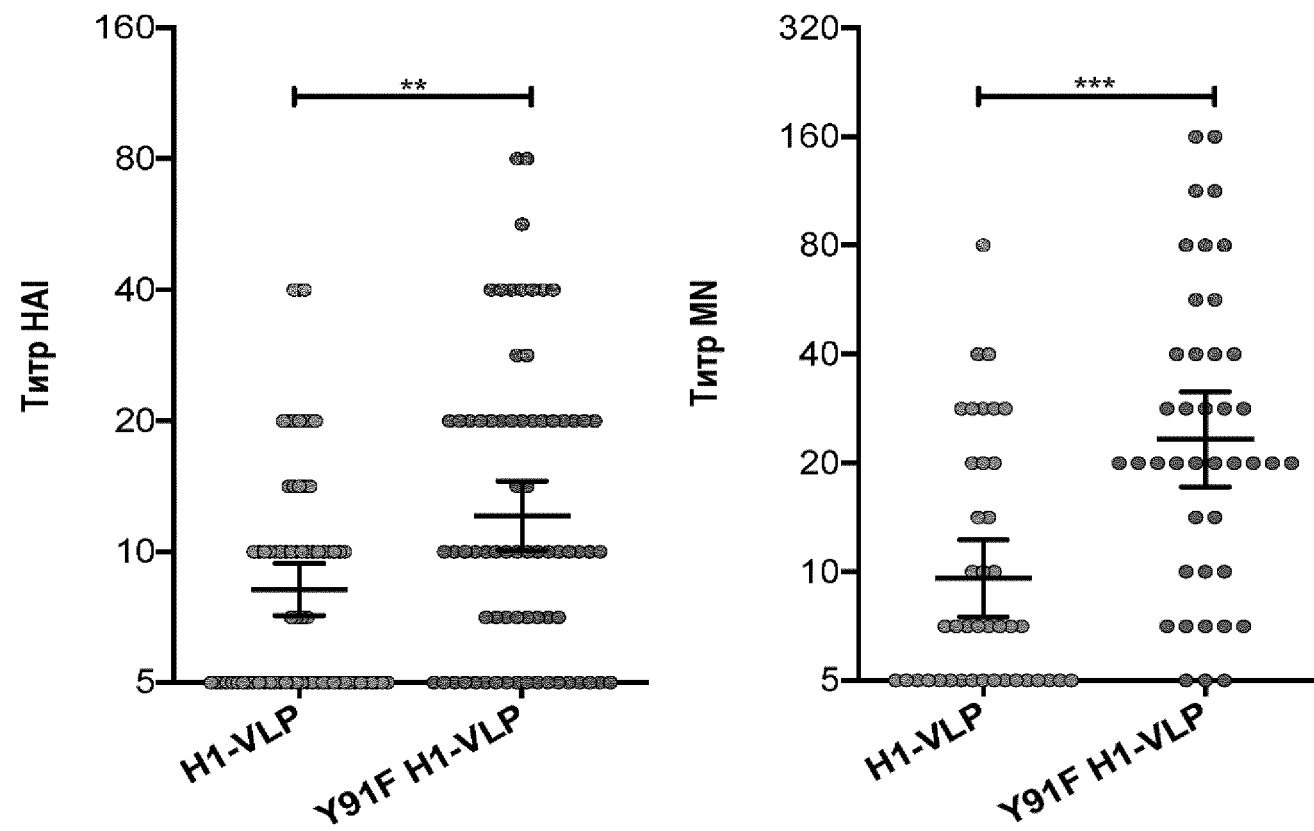
Фиг. 5D



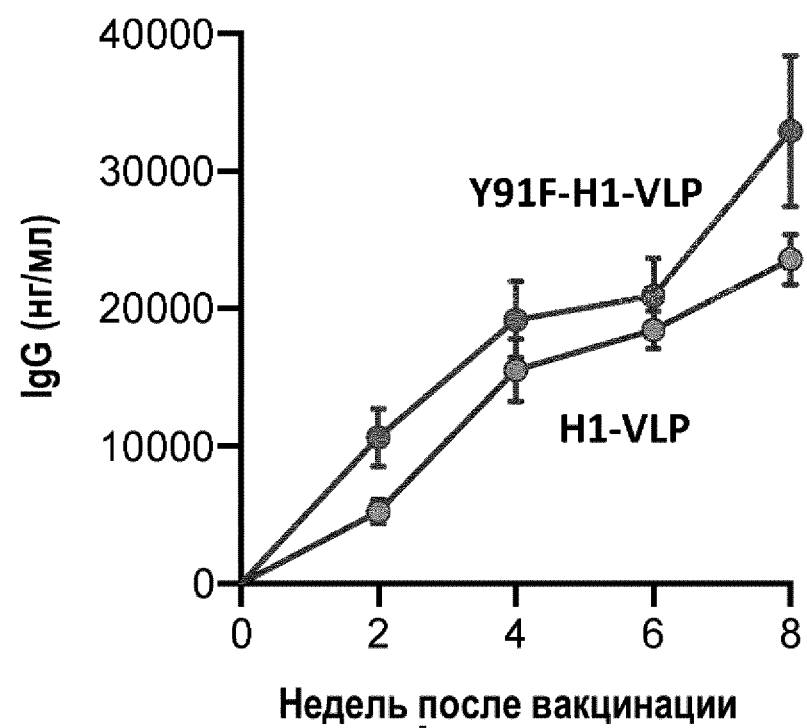
Фиг. 6



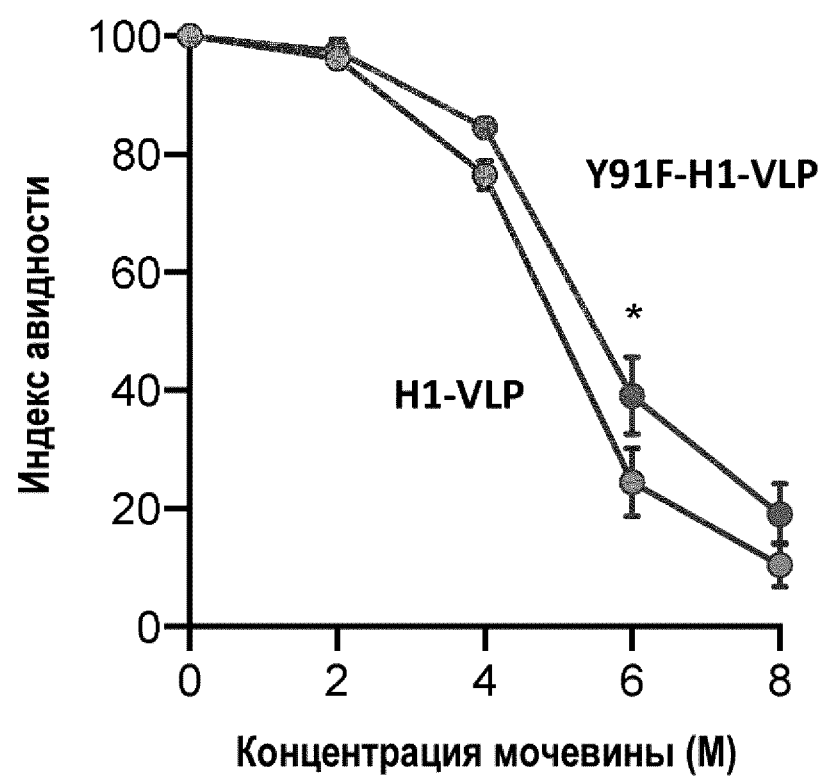
Фиг. 7А



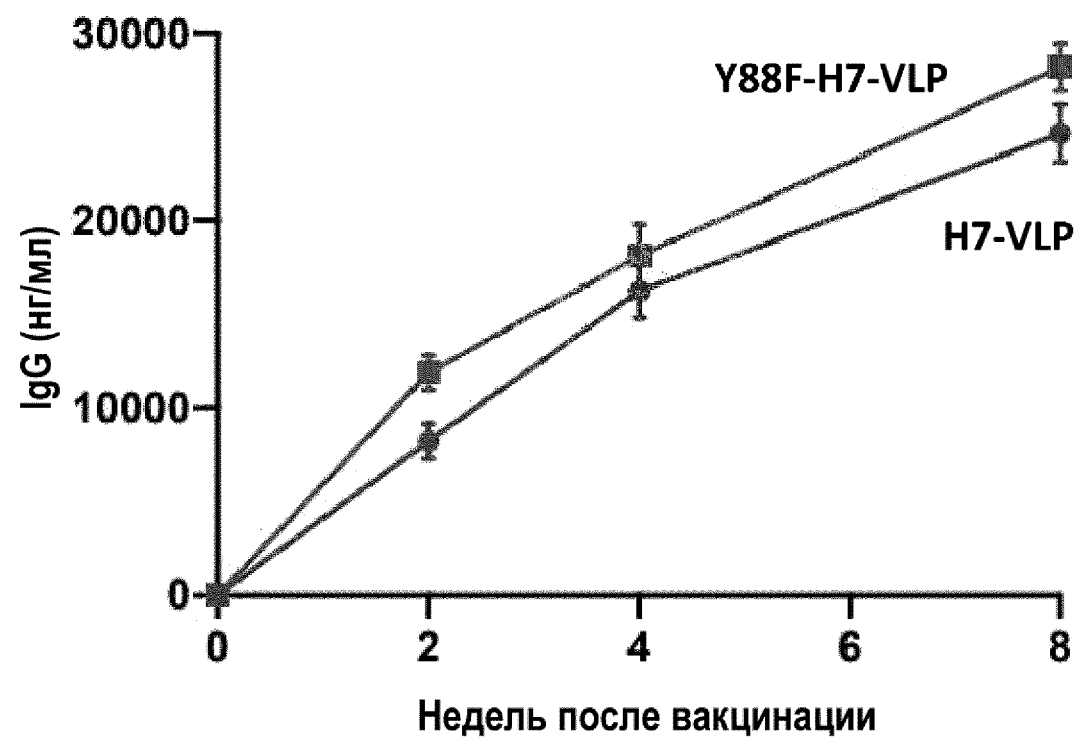
Фиг. 7В



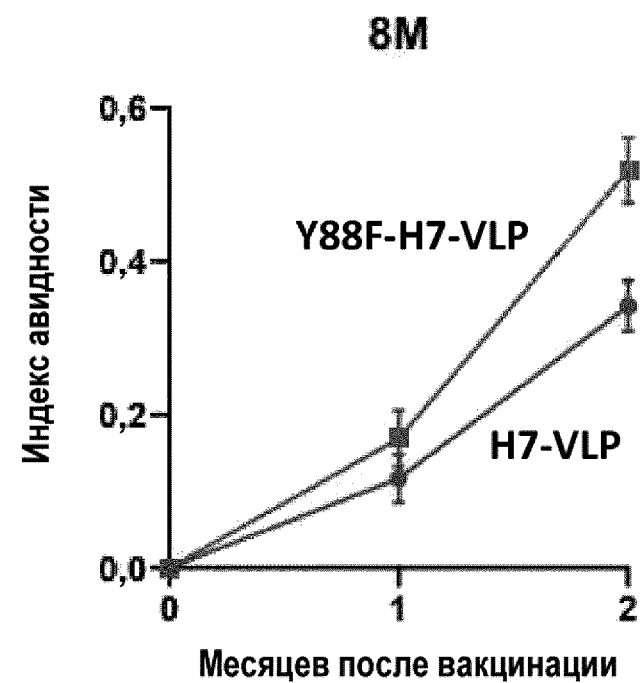
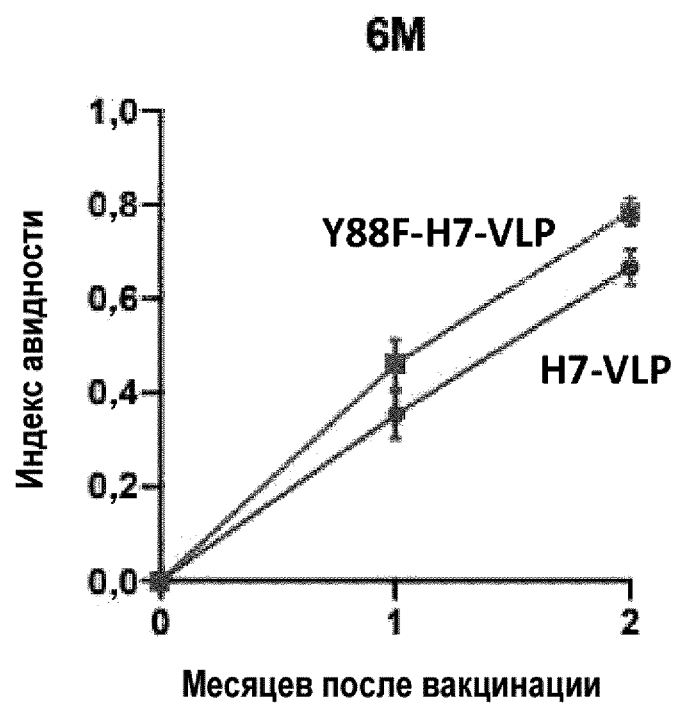
Фиг. 7С



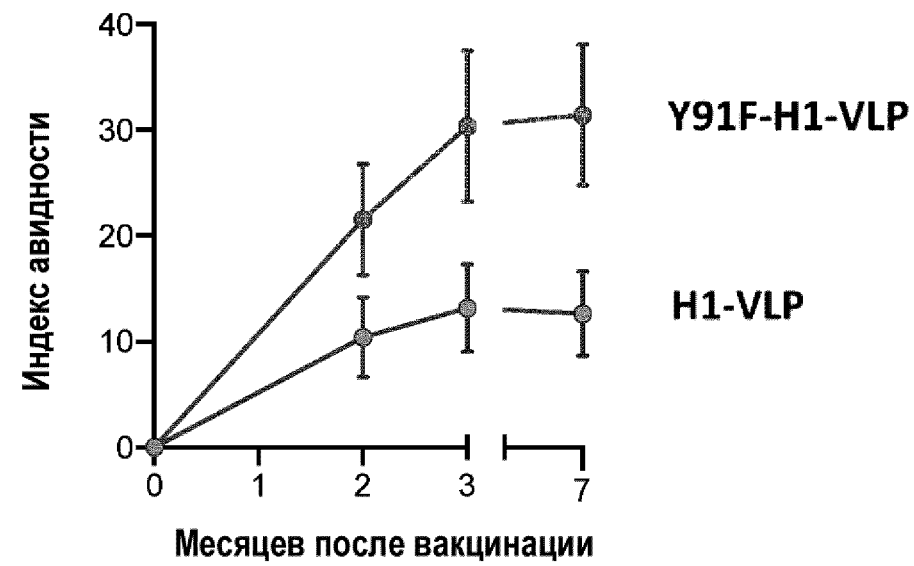
Фиг. 7D



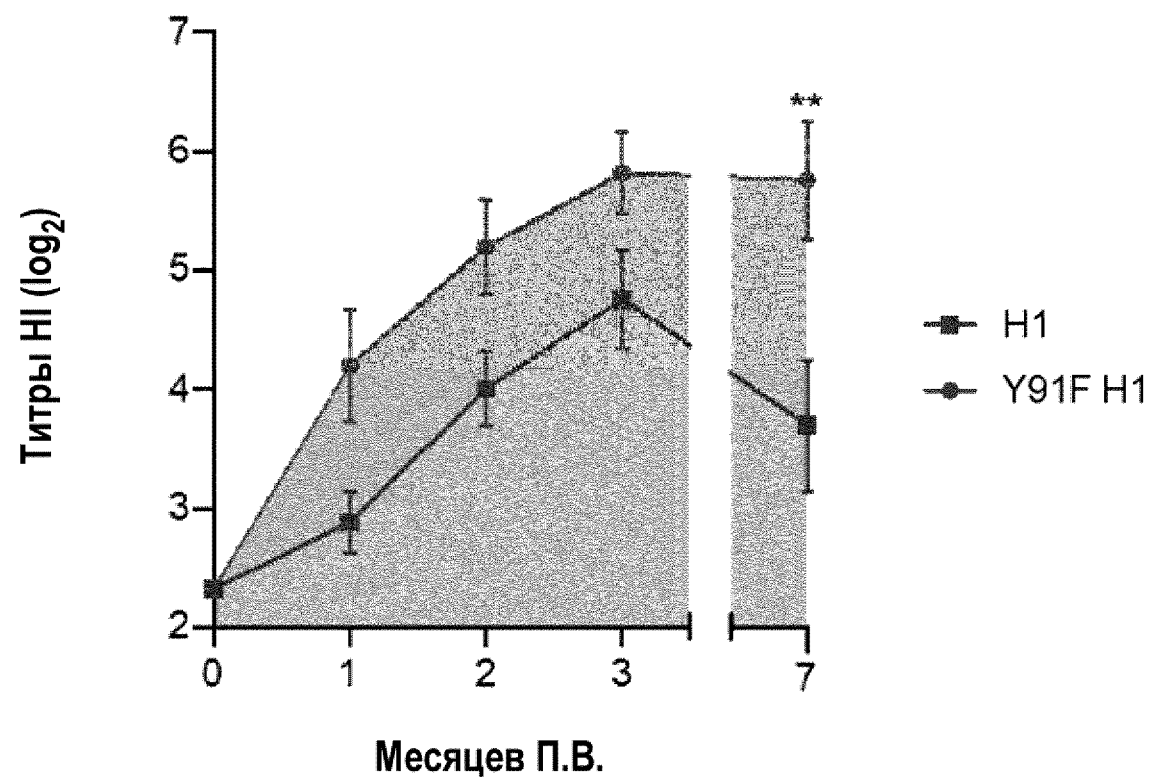
Фиг. 7Е



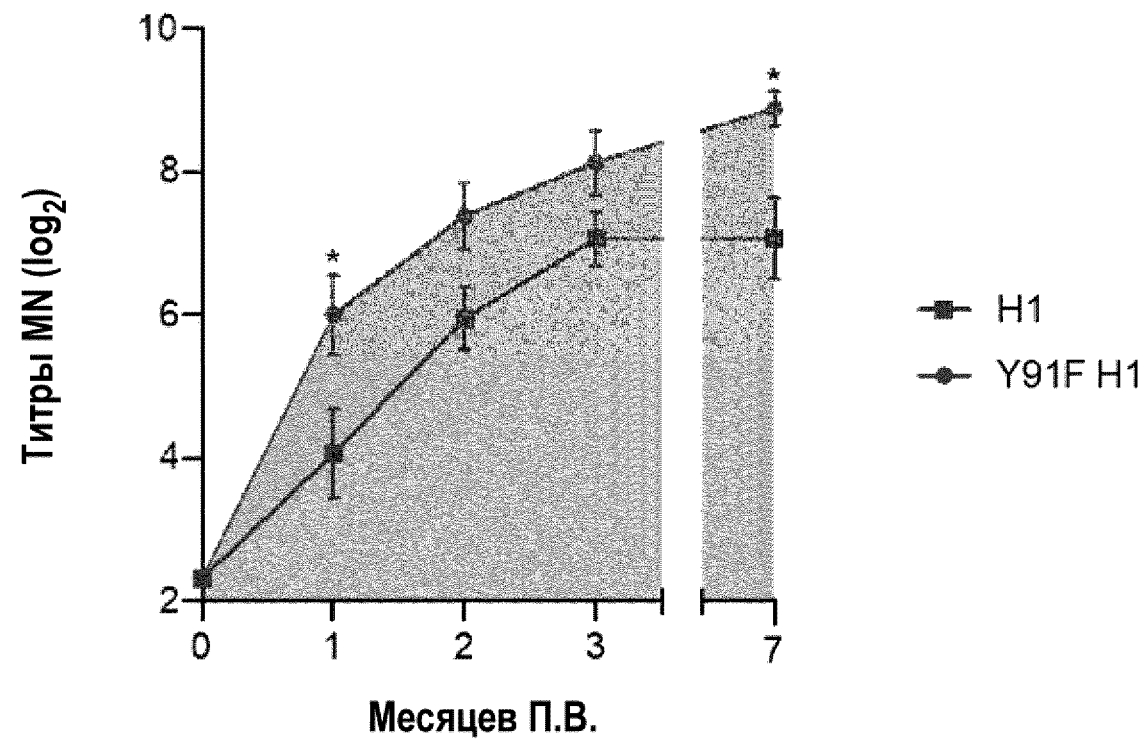
Фиг. 7F



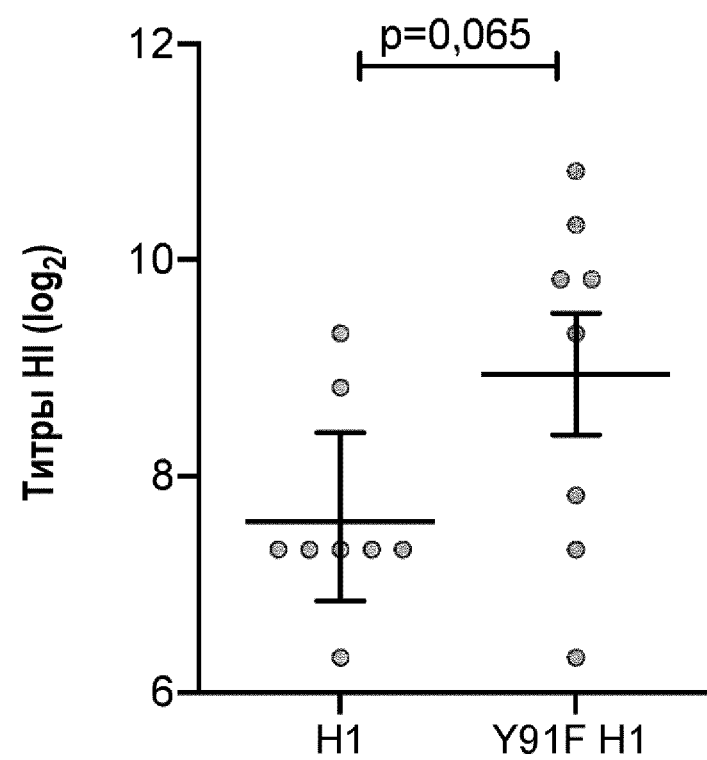
Фиг. 7G



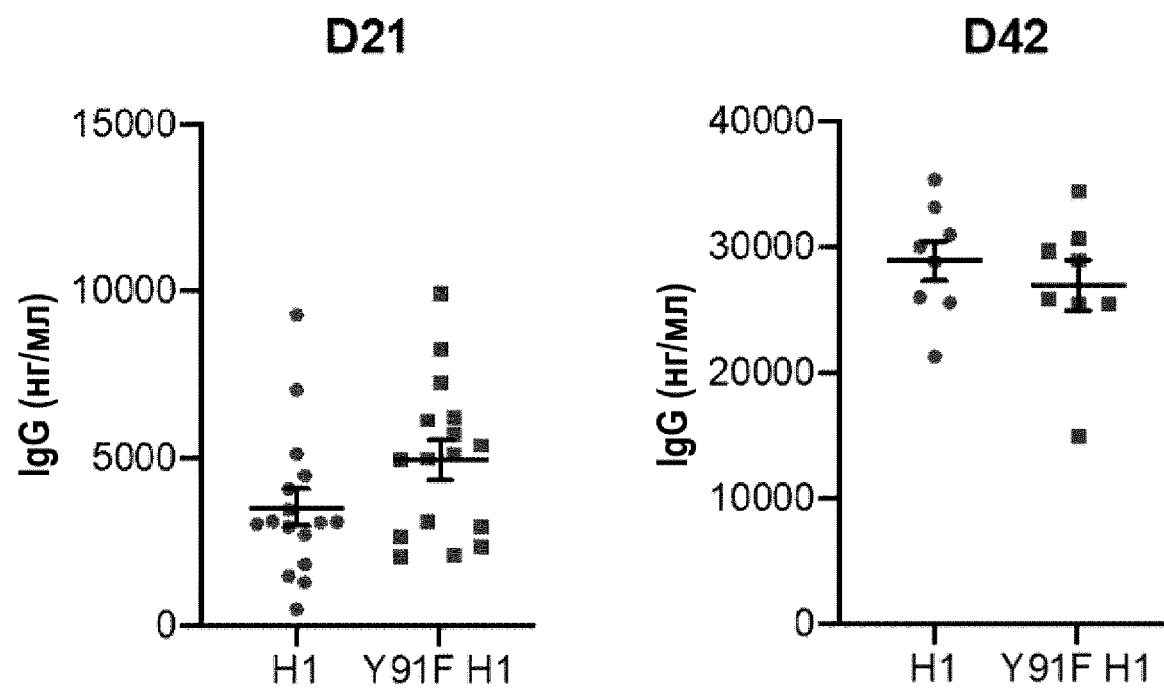
Фиг. 7Н



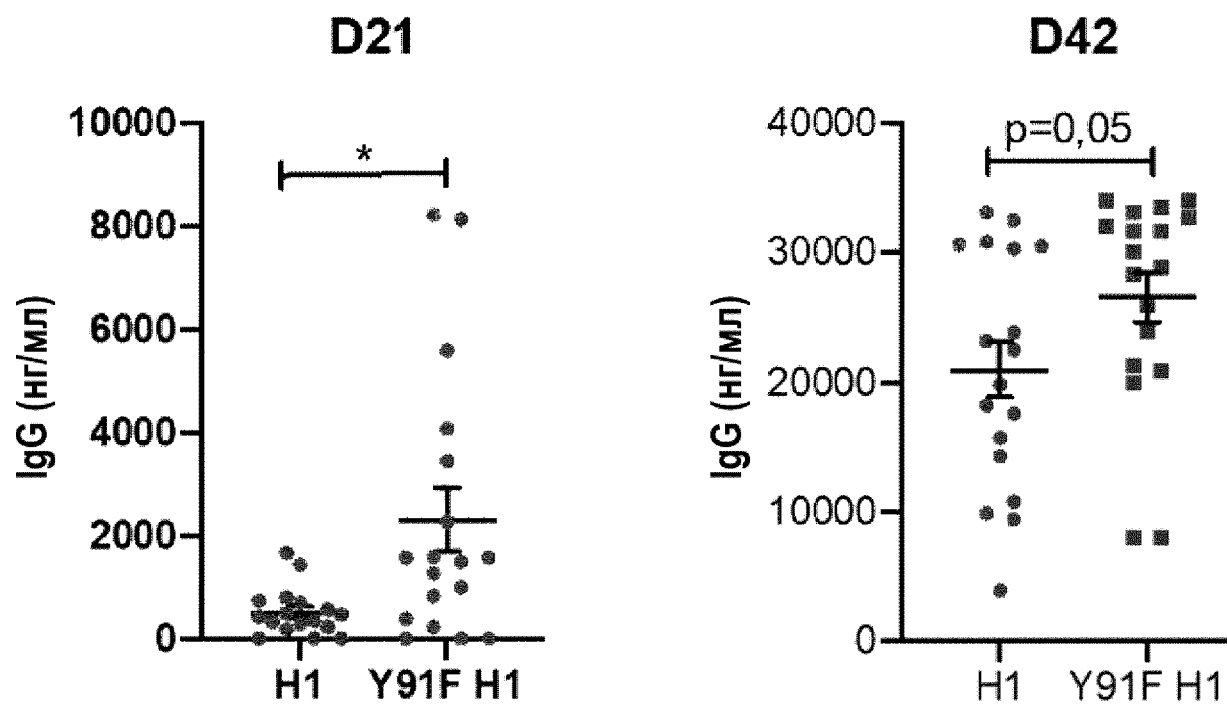
Фиг. 7I
H1 A/Idaho/07/2018



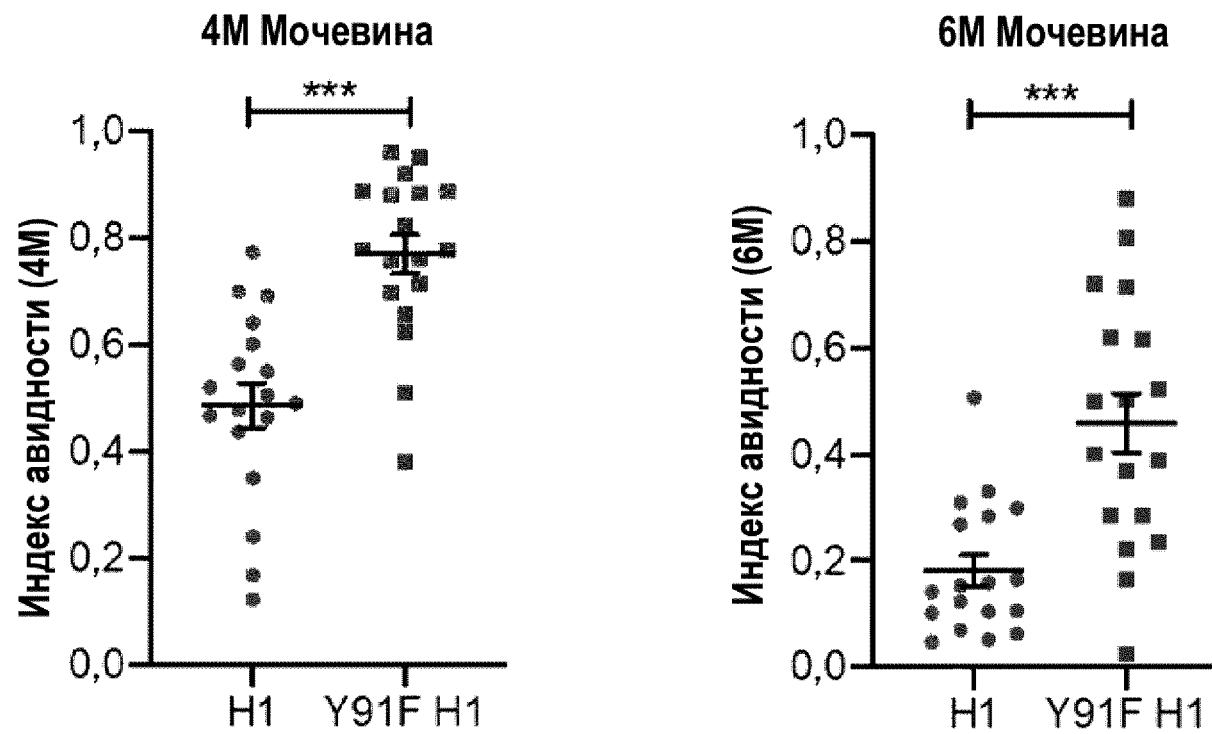
Фиг. 7J
H1 A/Idaho/07/2018



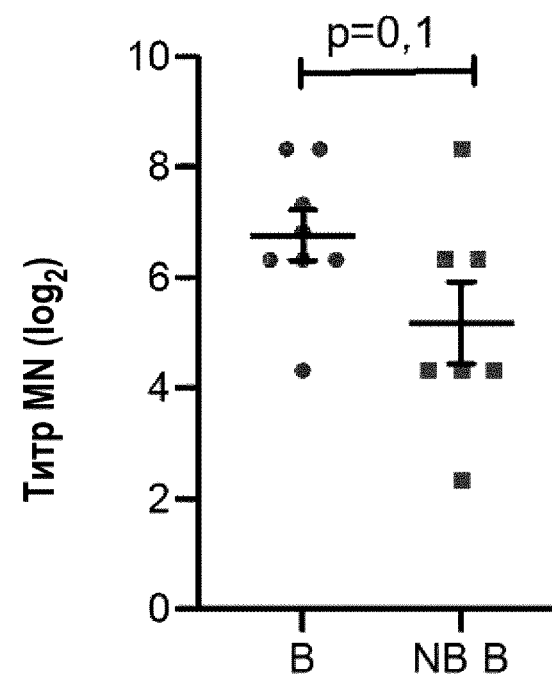
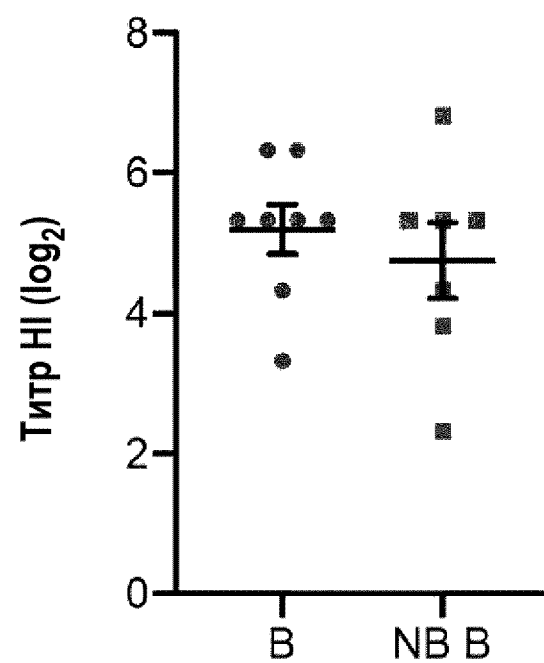
Фиг. 7К
A/Brisbane/02/2018



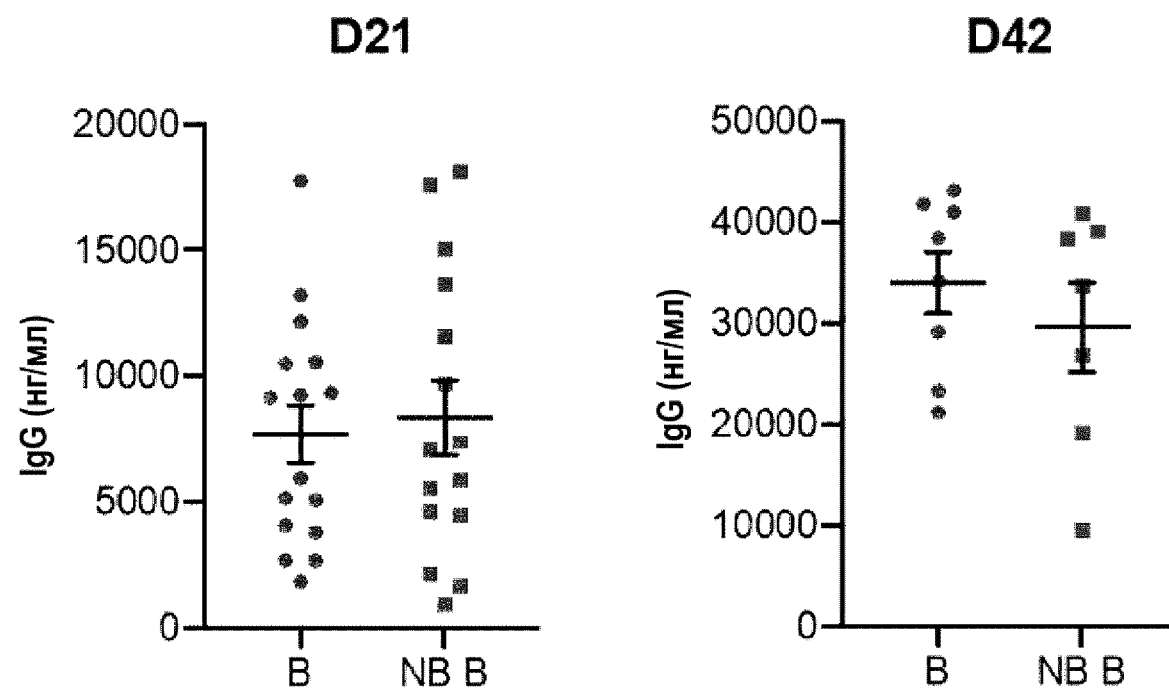
Фиг. 7L
A/Brisbane/02/2018



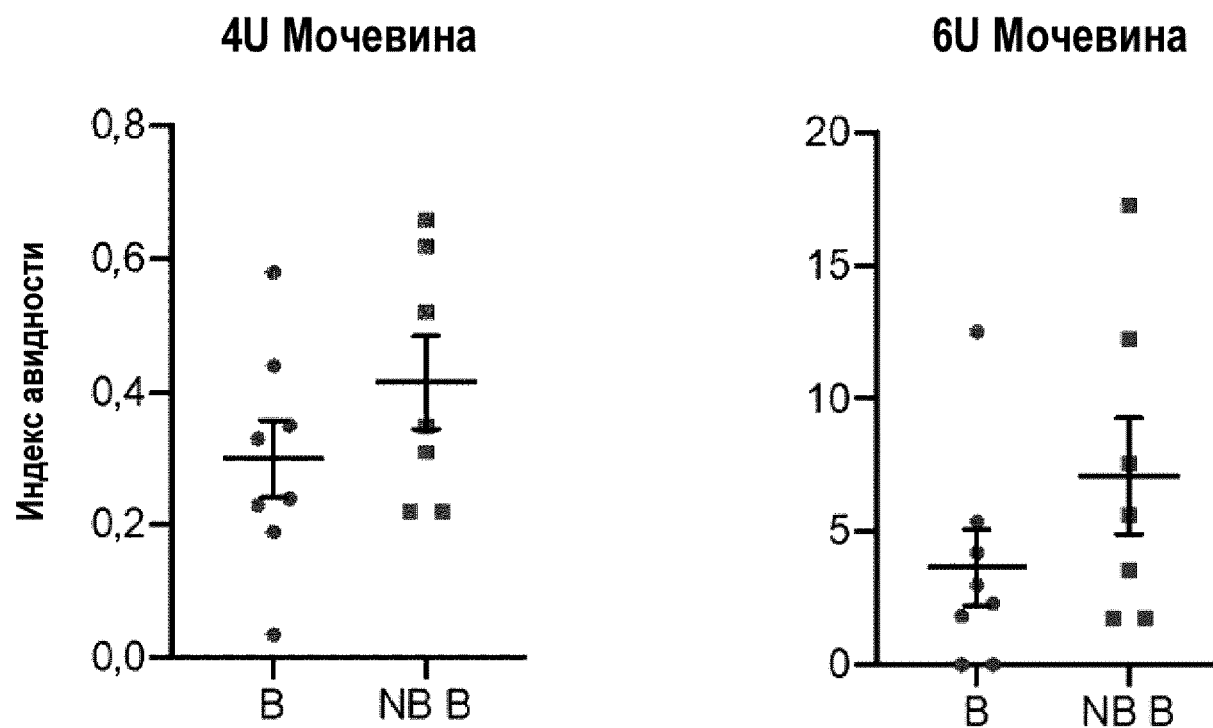
Фиг. 7М
В/Phuket/3073/2013



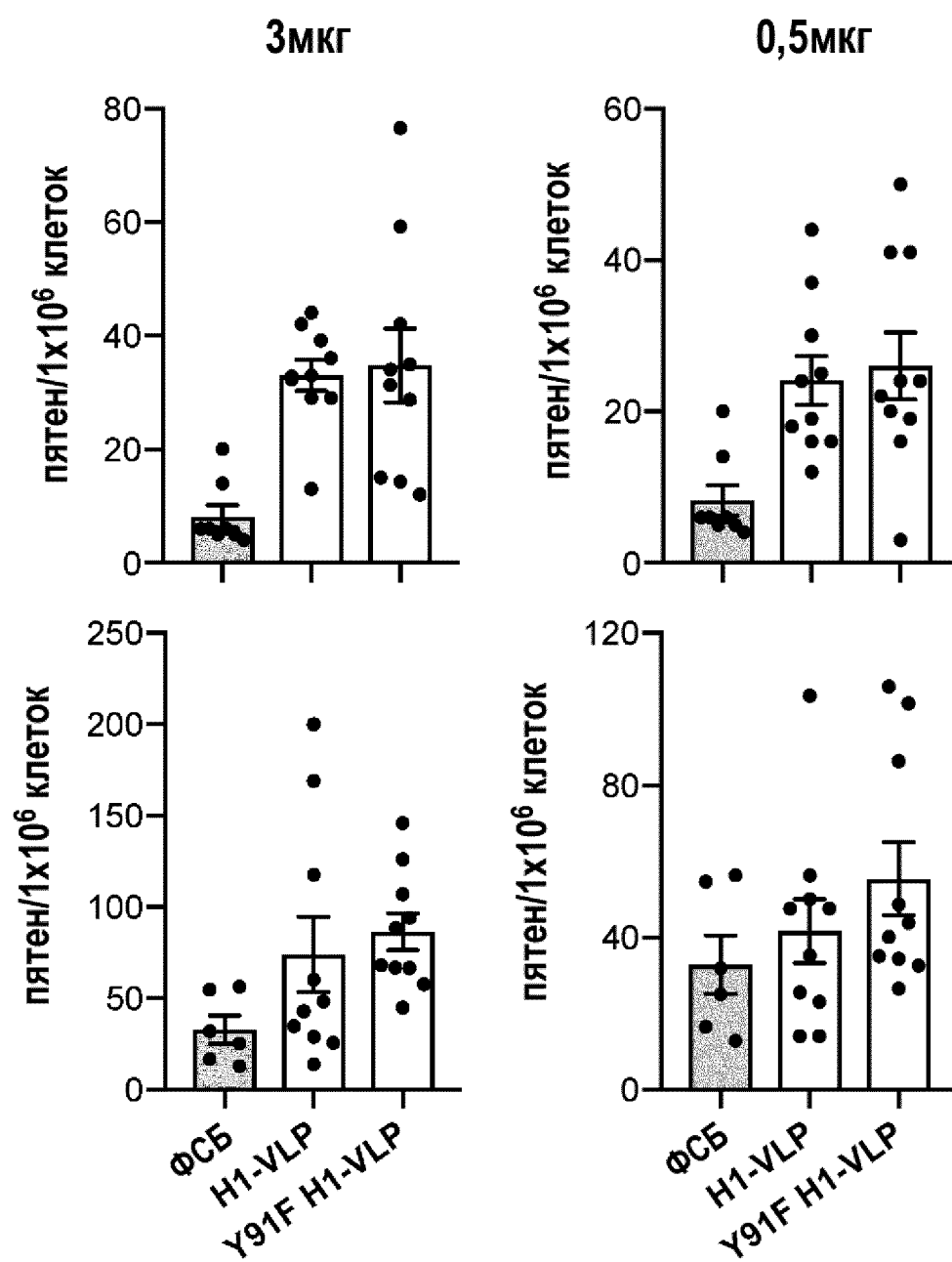
Фиг. 7N
B/Phuket/3073/2013



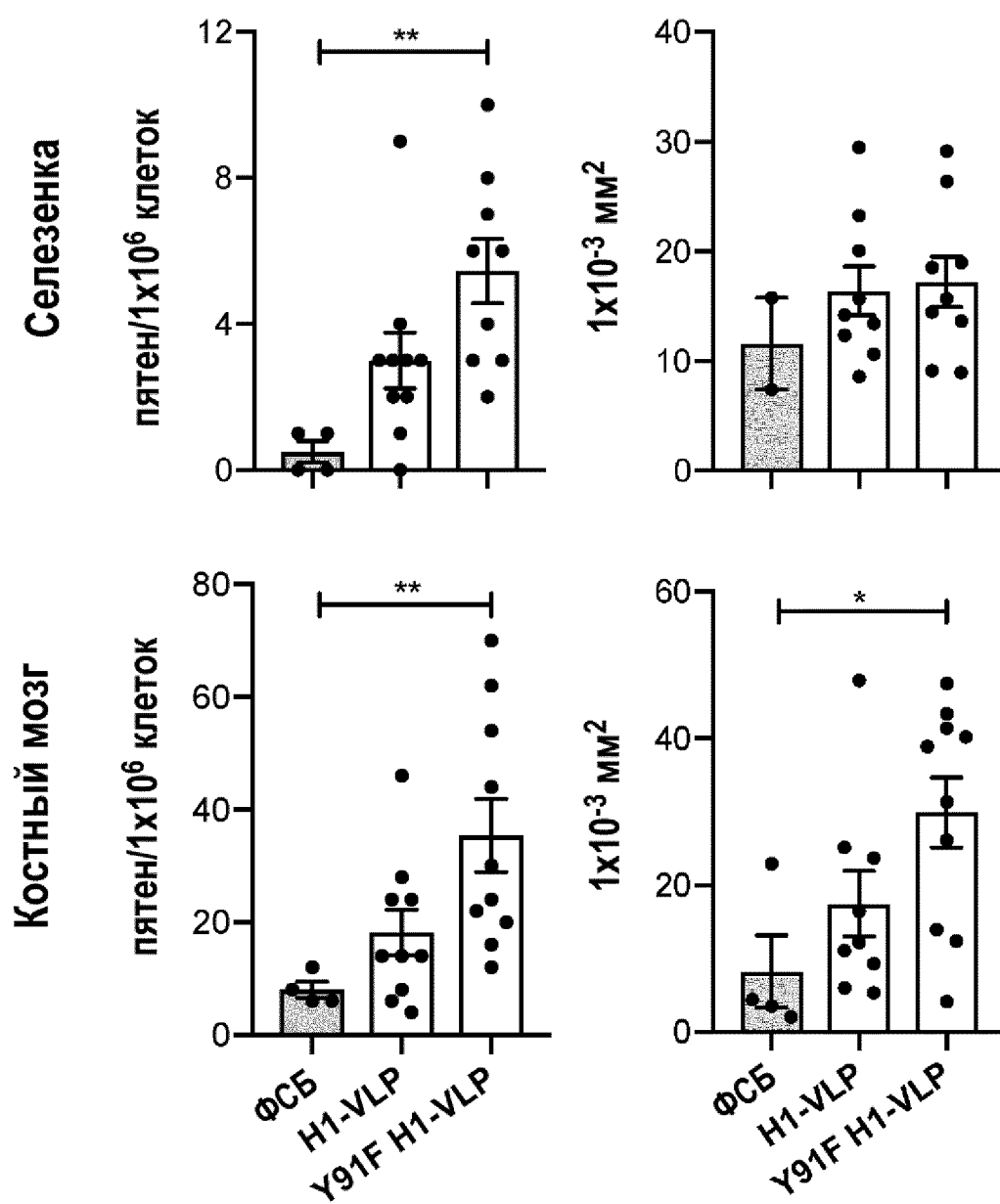
Фиг. 7О
В/Phuket/3073/2013



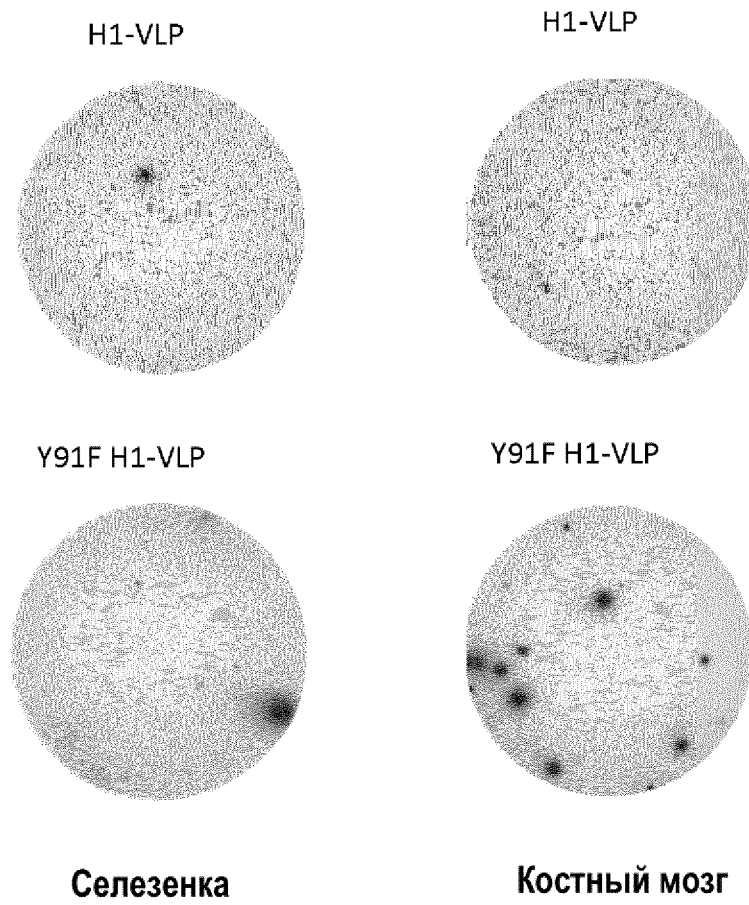
Фиг. 8А



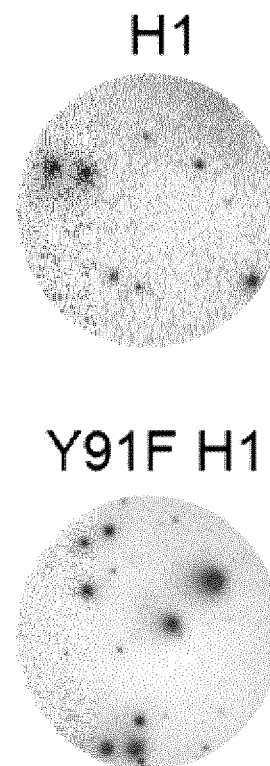
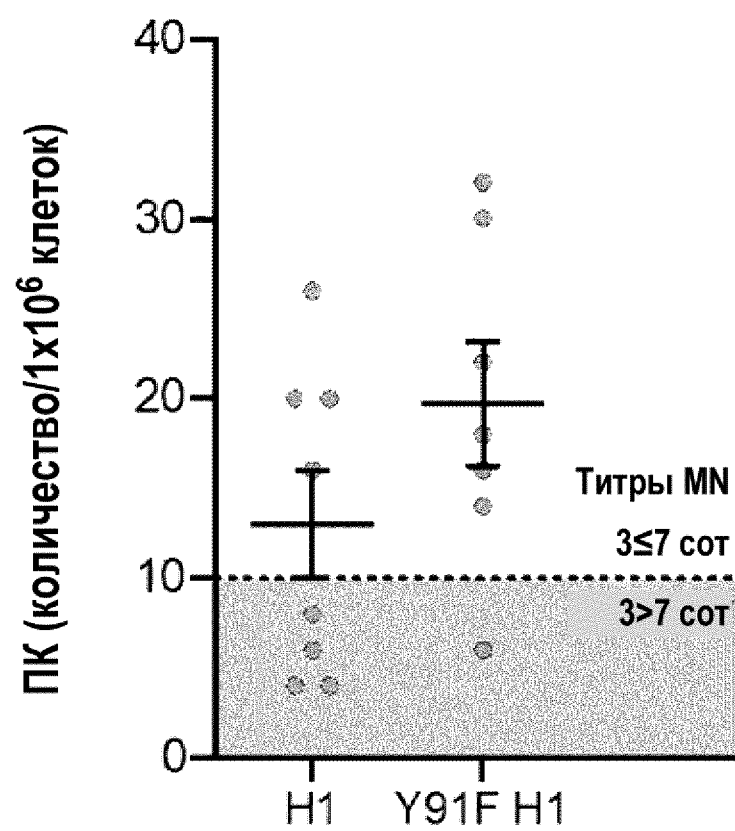
Фиг. 8В



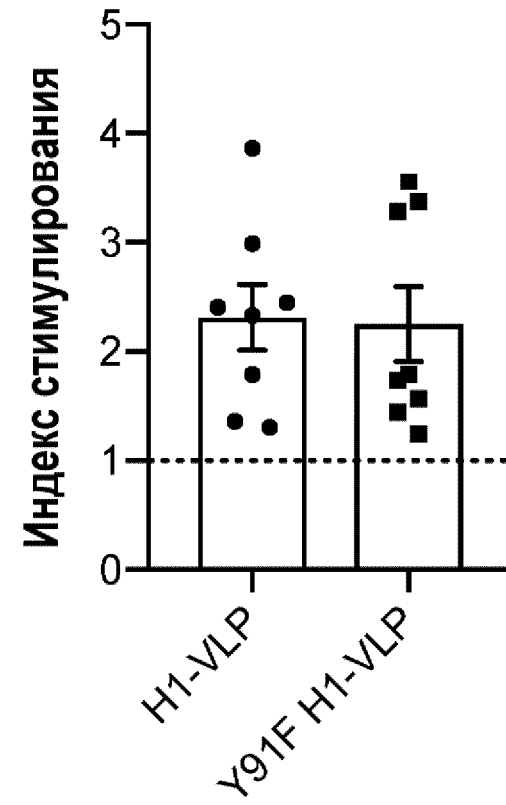
Фиг. 8С



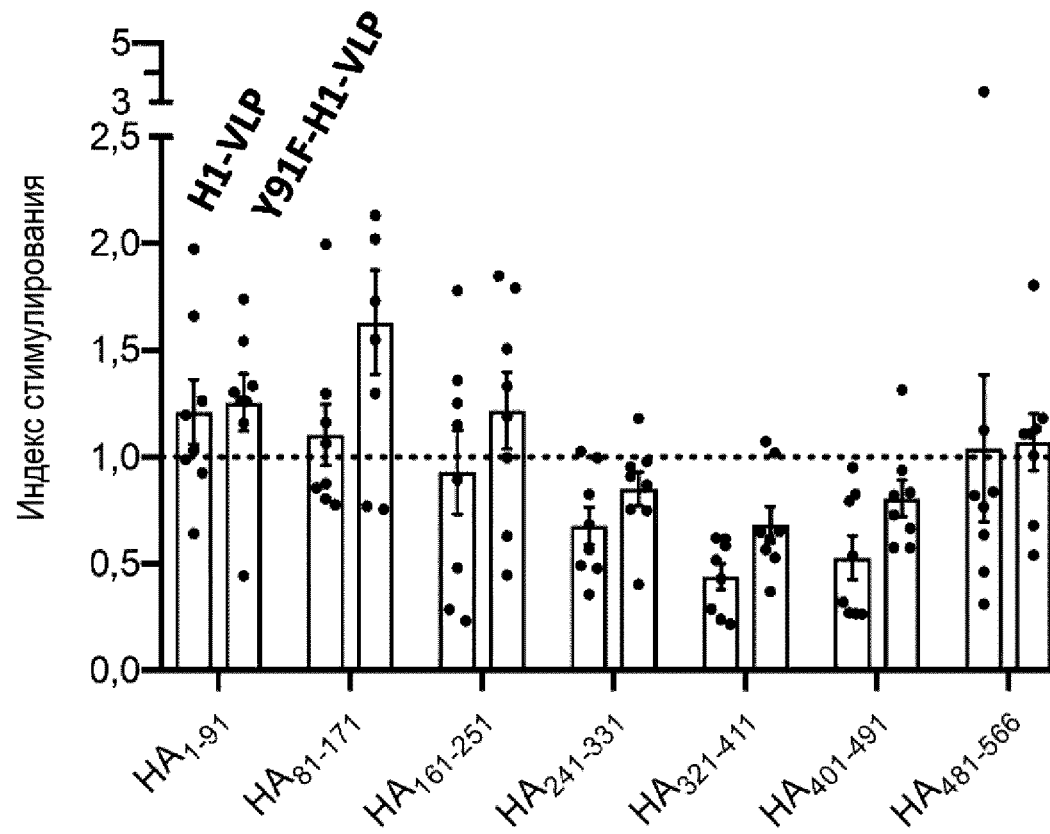
Фиг. 8D



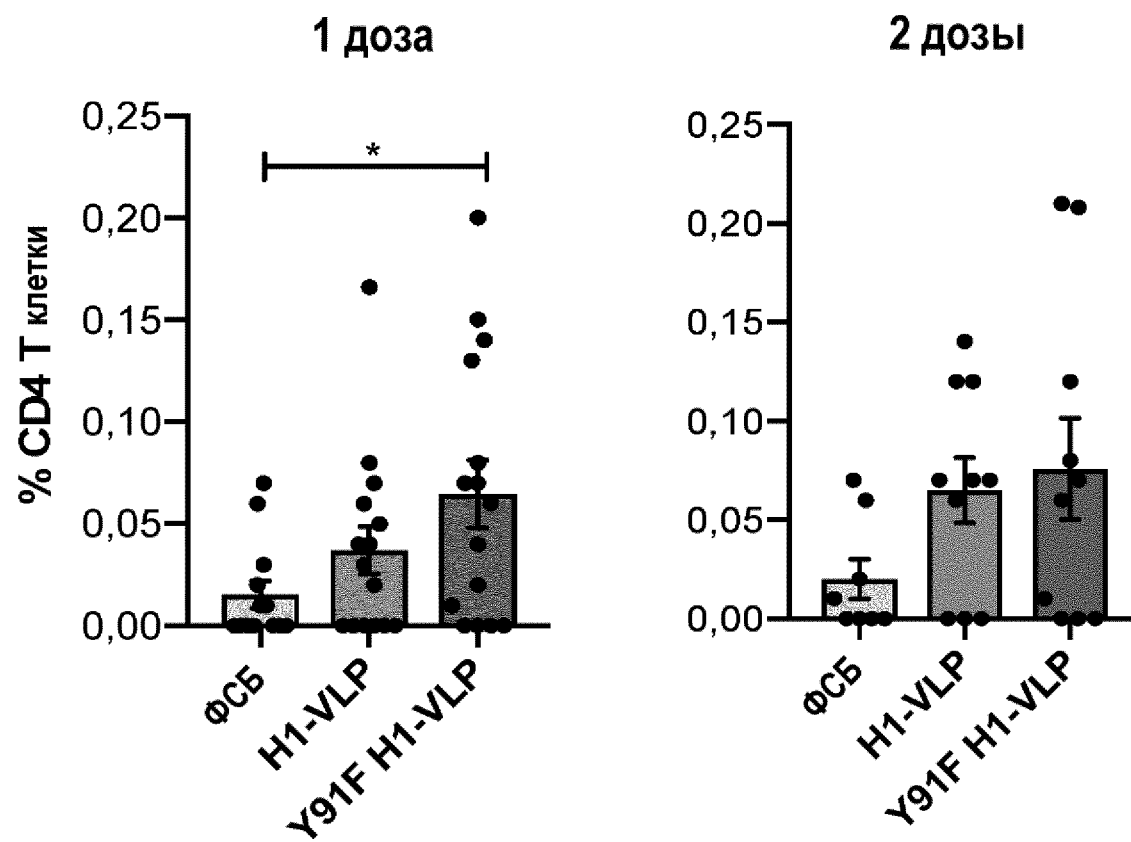
Фиг. 9А



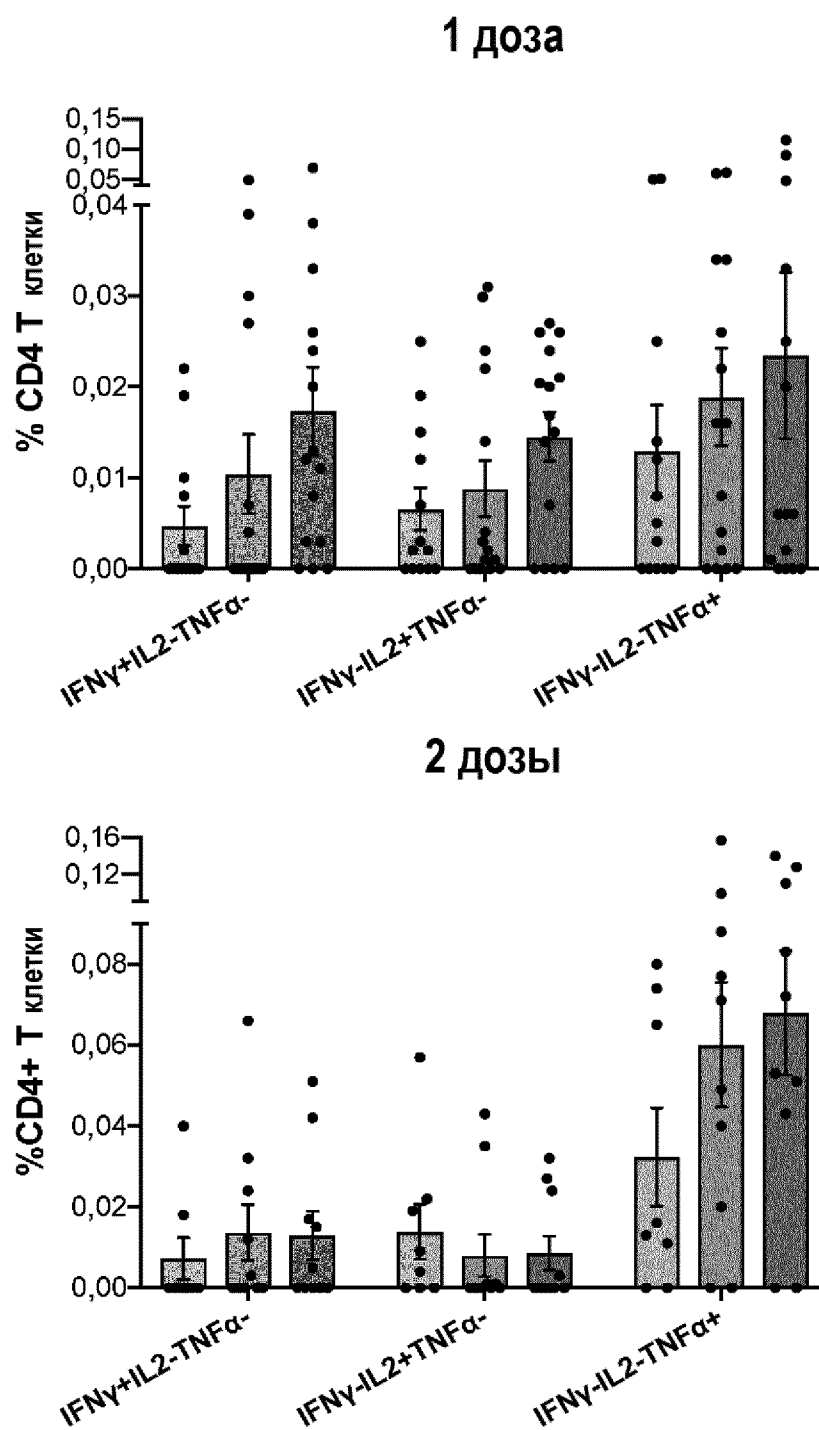
Фиг. 9В



Фиг. 10А

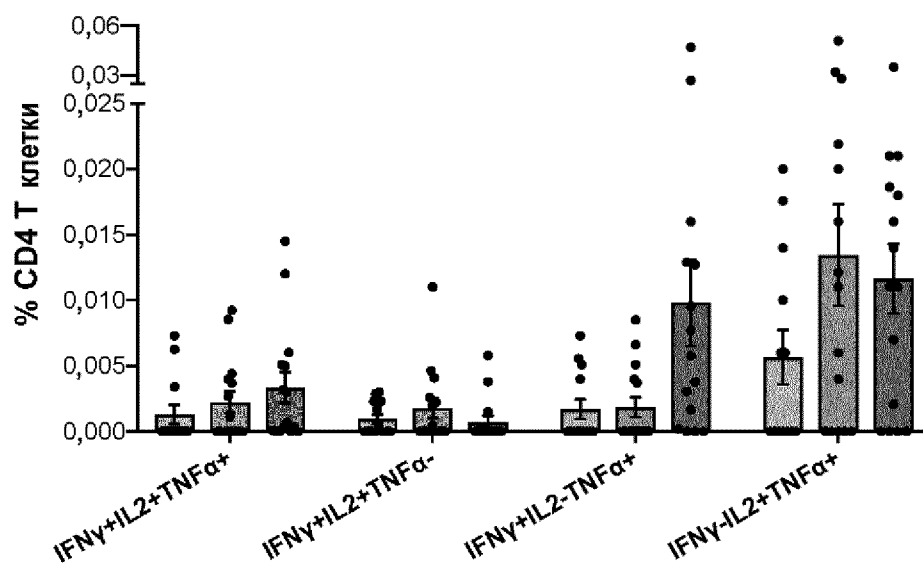


Фиг. 10В

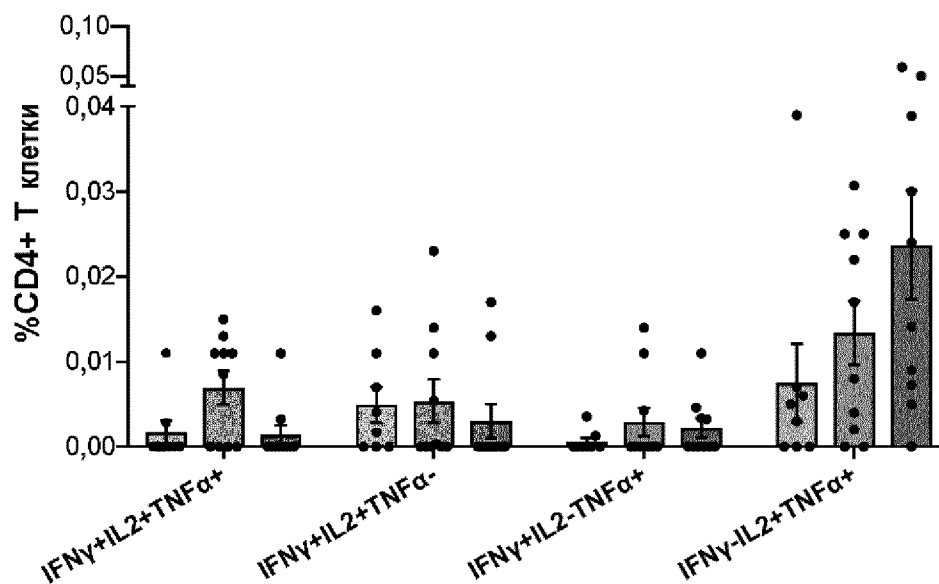


Фиг. 10С

1 доза

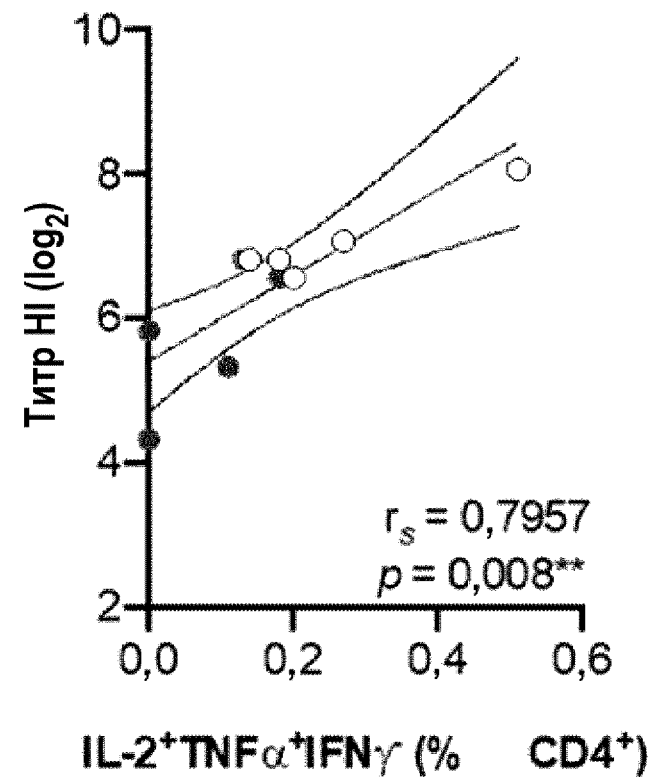


2 дозы



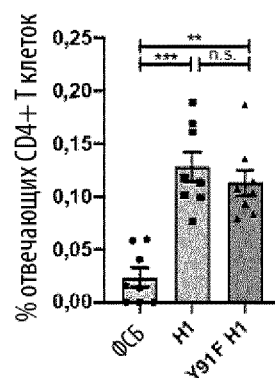
[illegible]

Фиг. 10Е



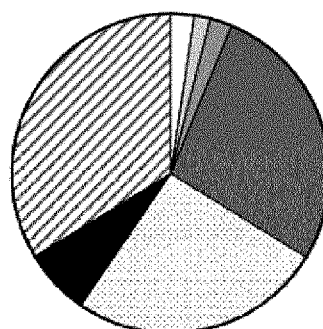
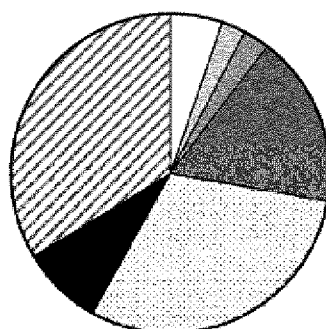
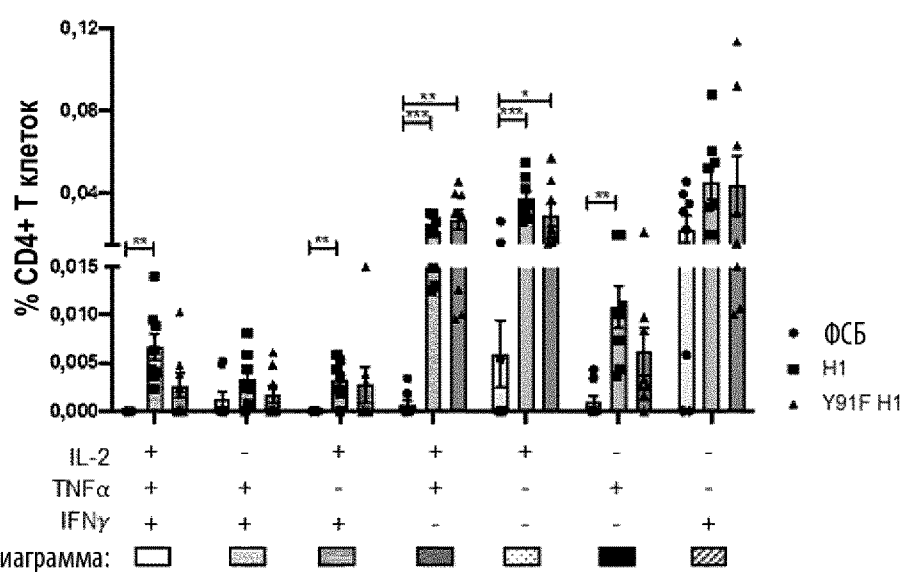
Фиг. 10F

Idaho



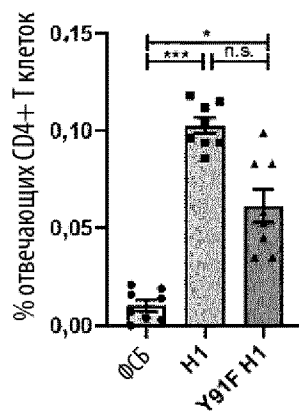
Фиг. 10G

Idaho



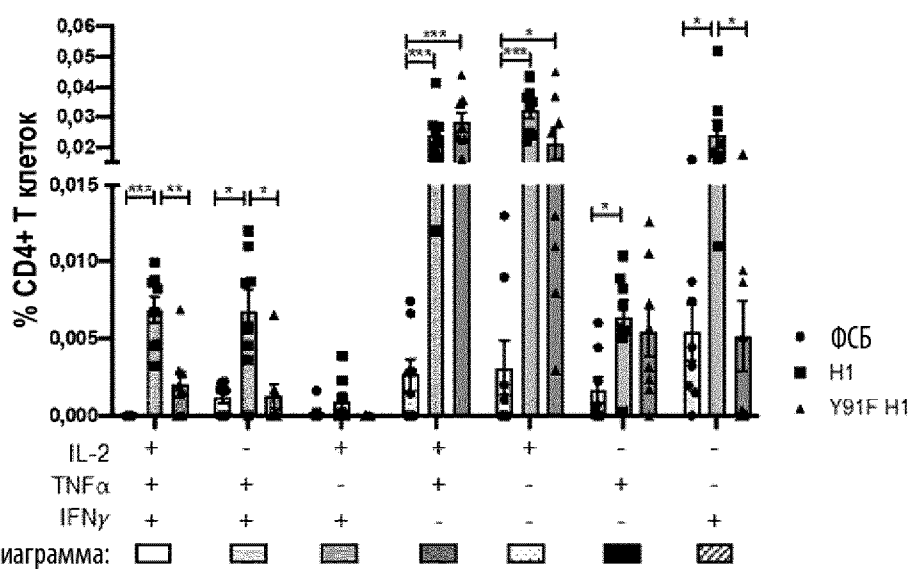
Фиг. 10H

Idaho

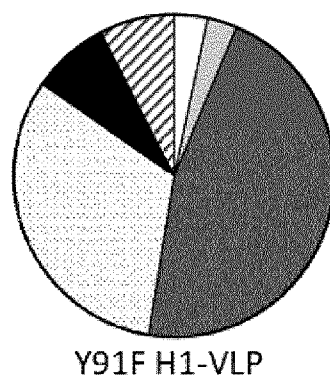
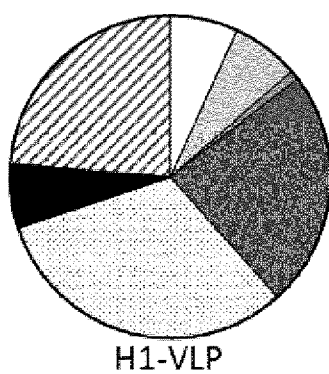


Фиг. 10I

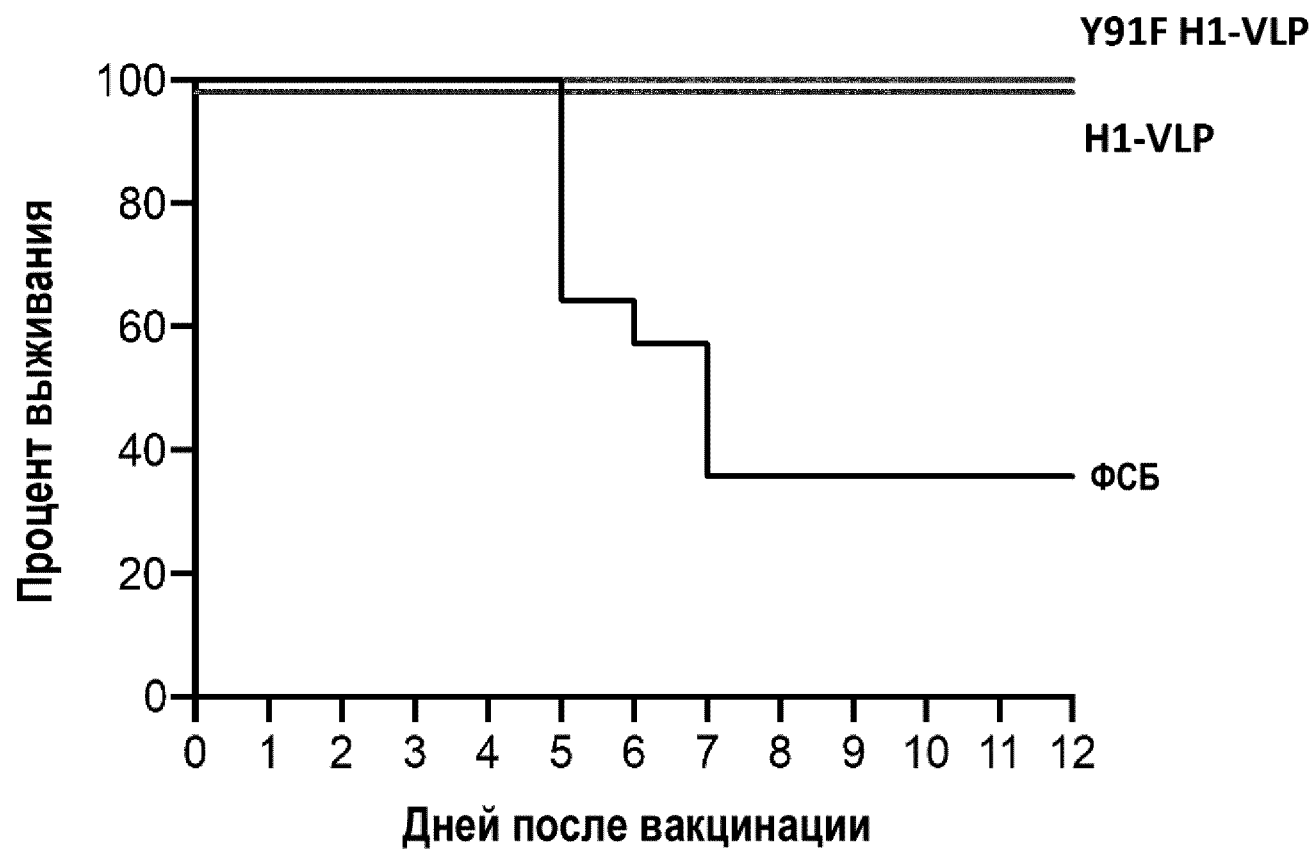
Idaho



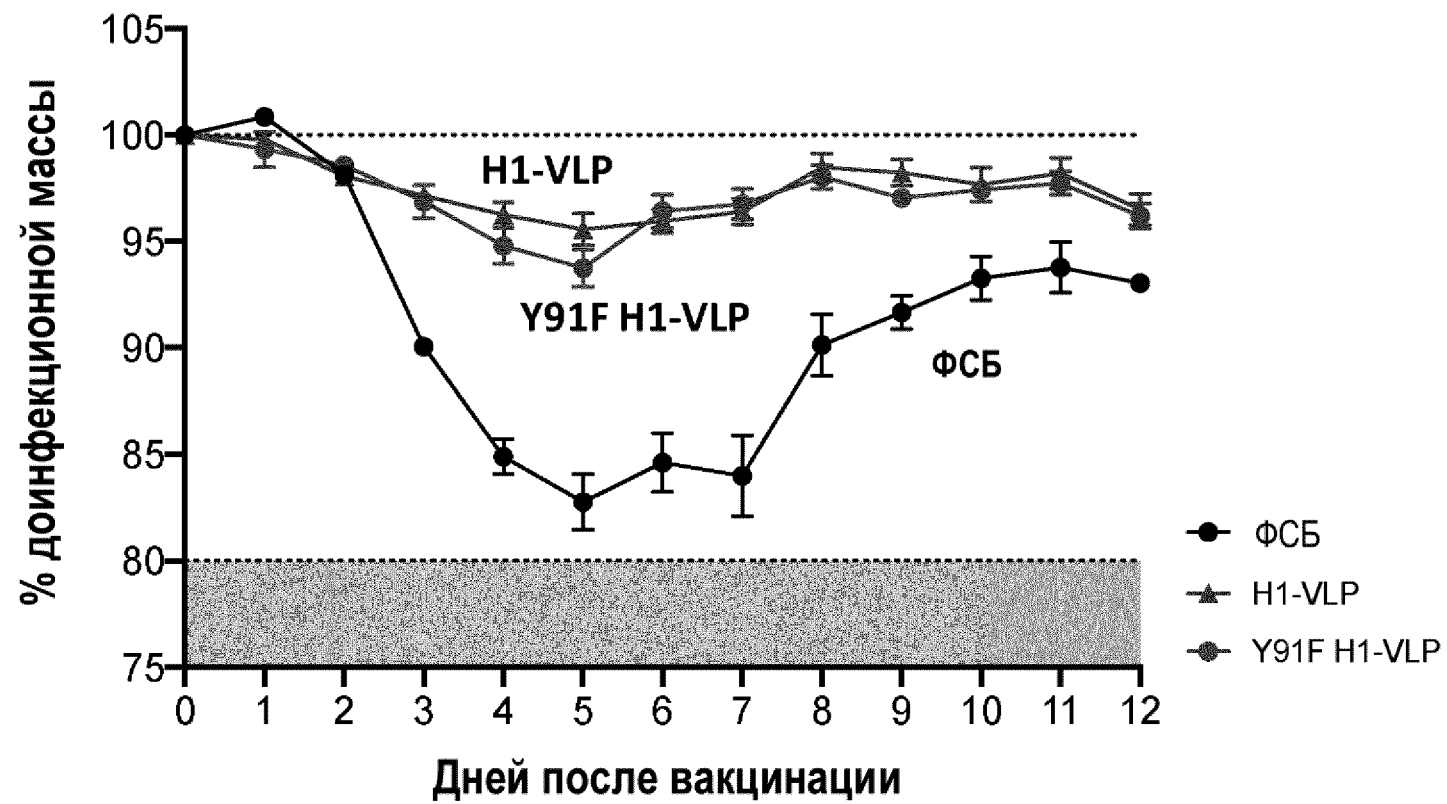
Круговая диаграмма:



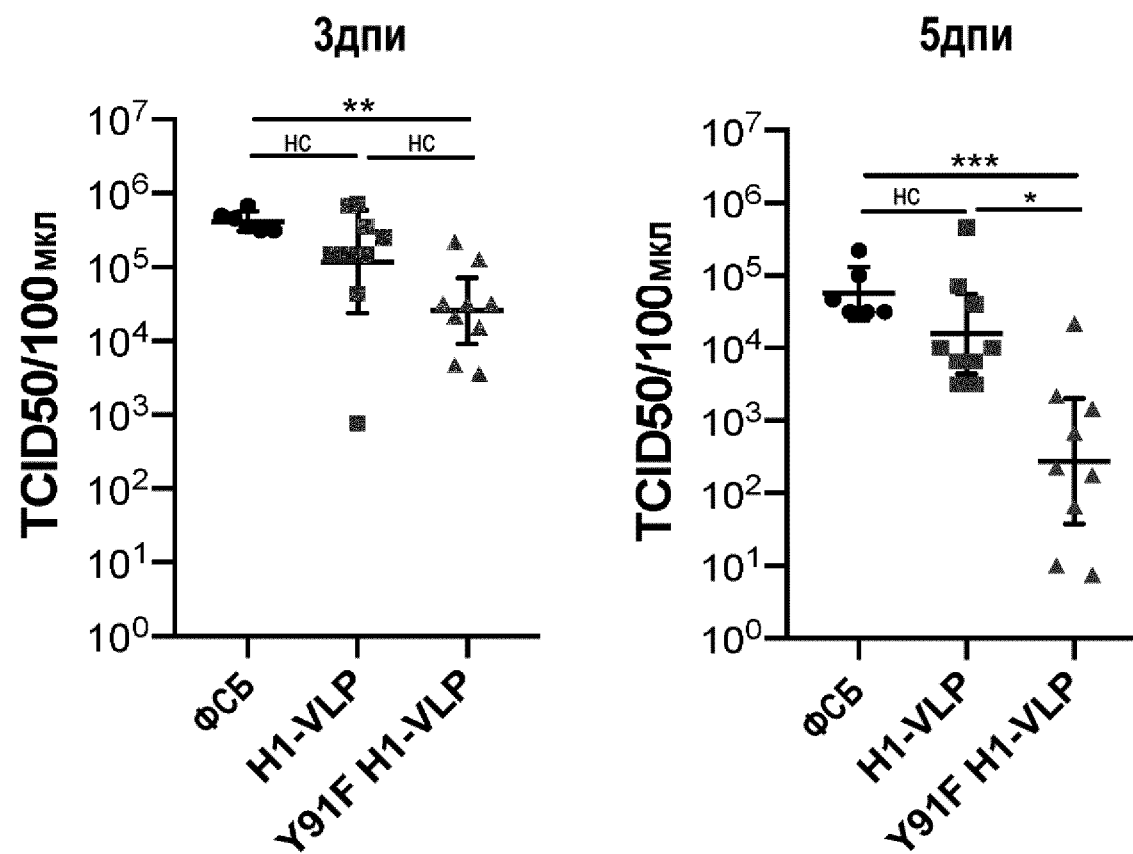
Фиг. 11А



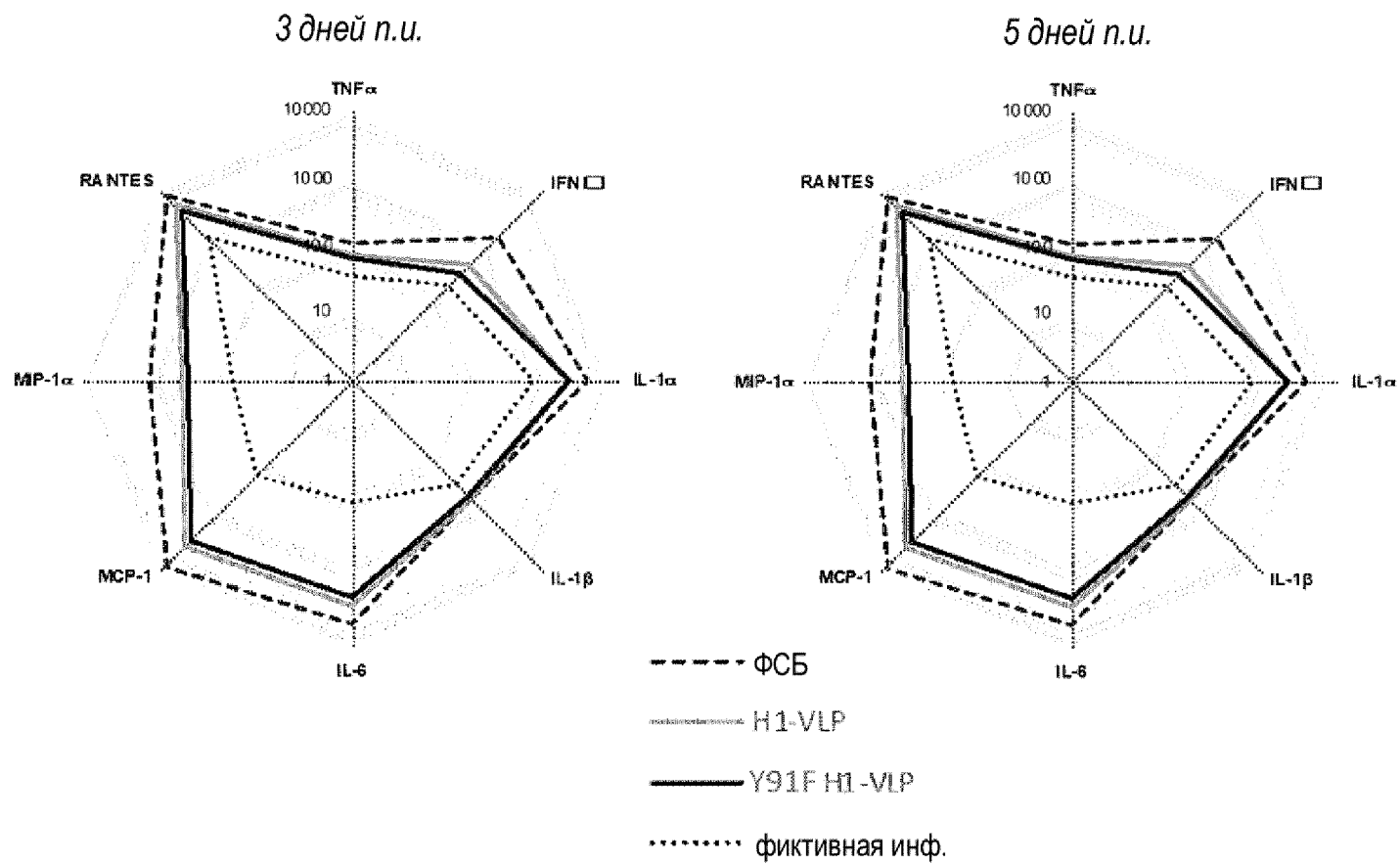
Фиг. 11В



Фиг. 11С

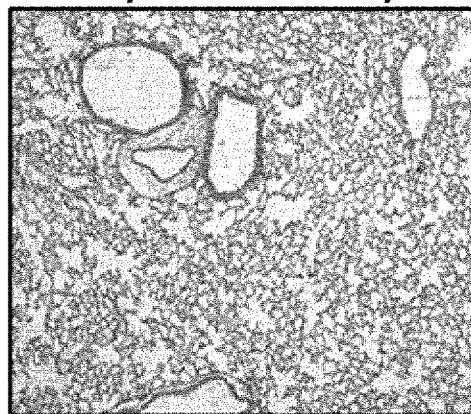


Фиг. 11D

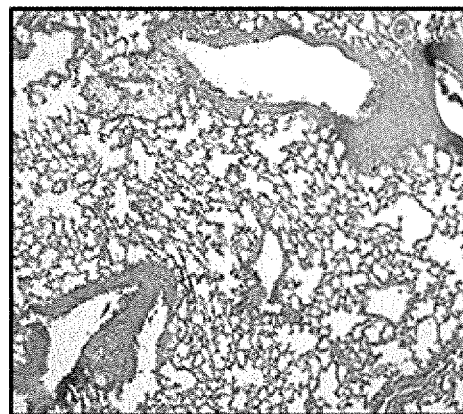


Фиг. 11Е

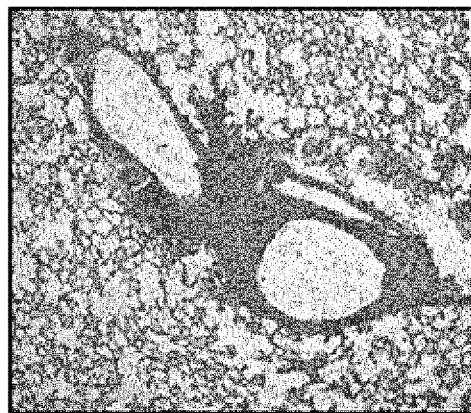
фигтивная инф.



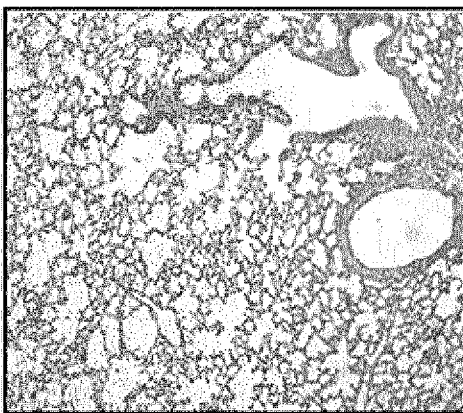
ФСБ



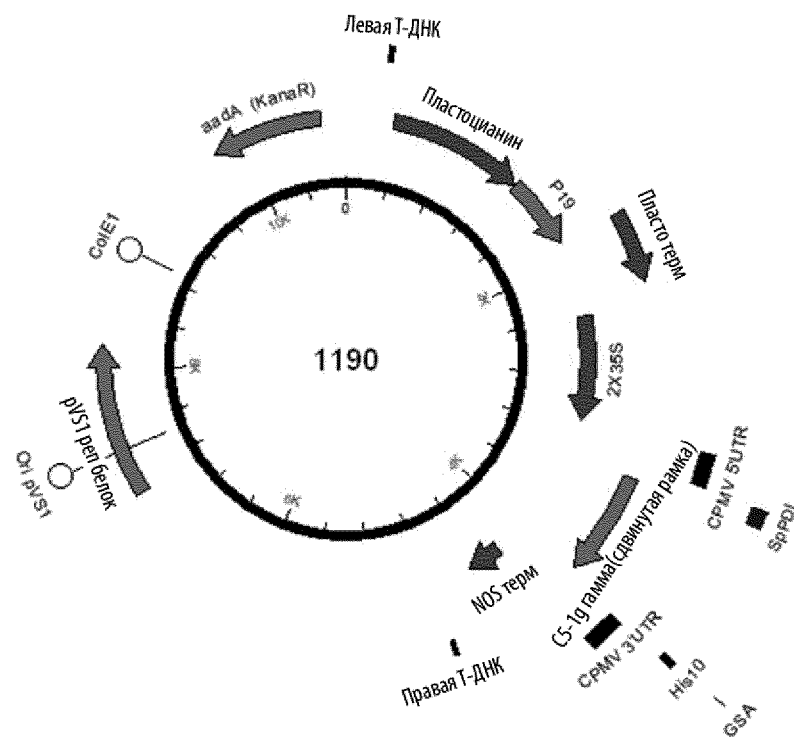
H1-VLP



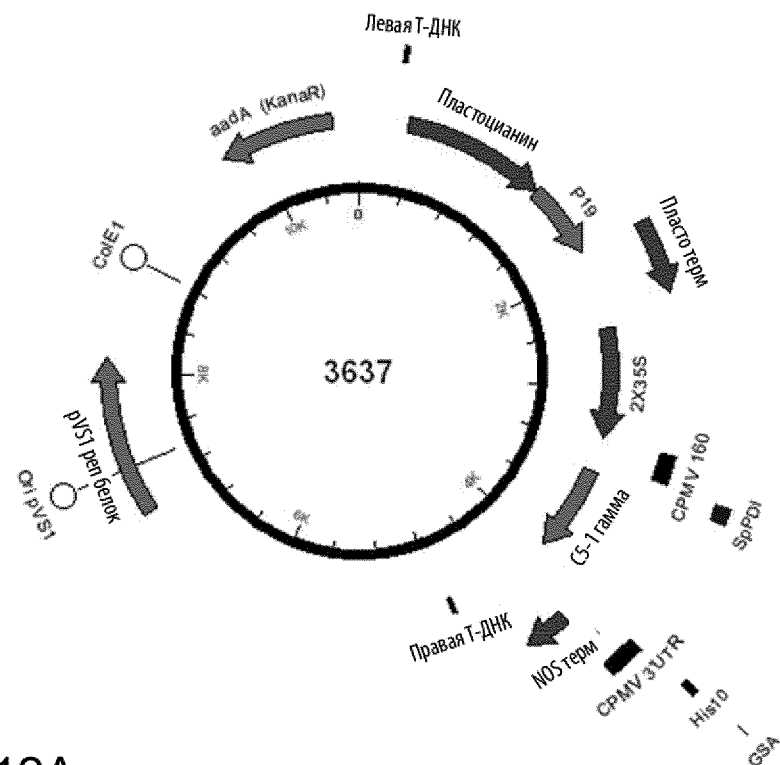
Y91F H1-VLP



Конструкция акцептора 1190

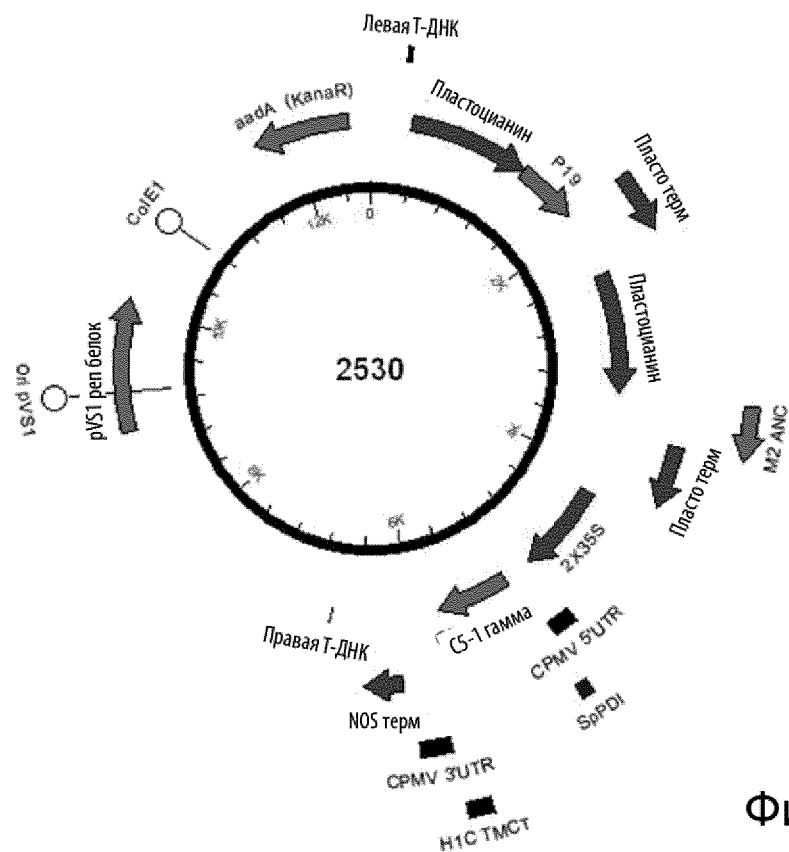


Конструкция акцептора 3637

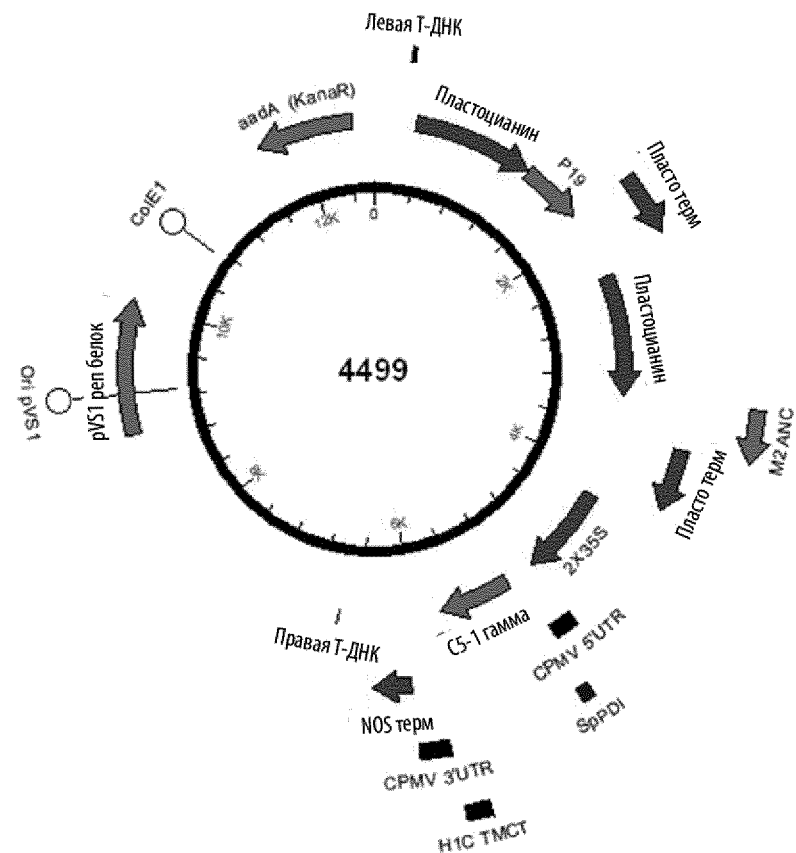


Фиг. 12А

Конструкция акцептора 2530

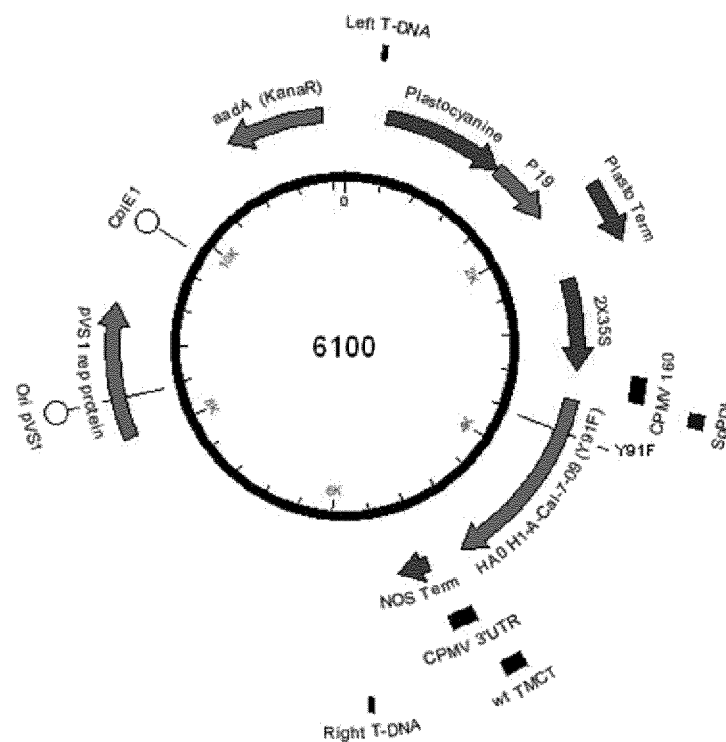
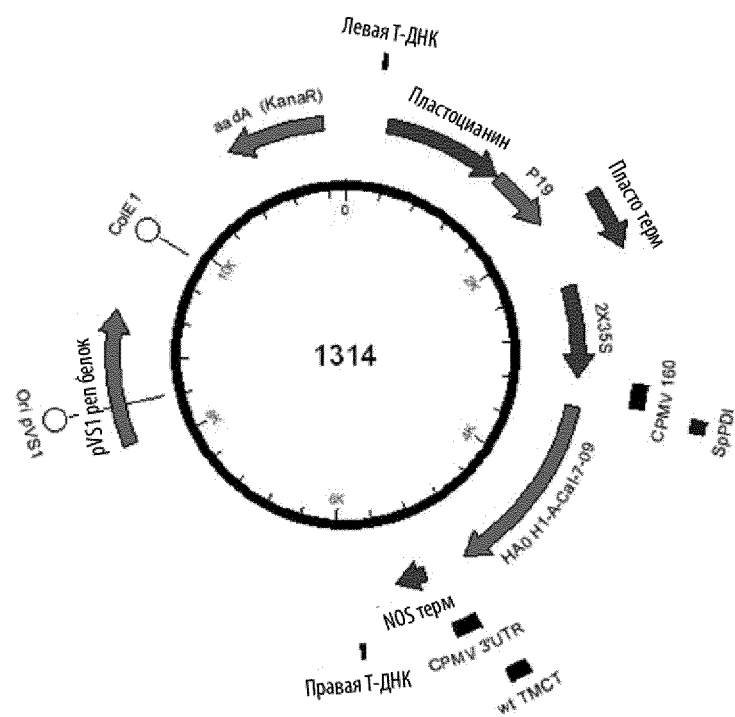


Конструкция акцептора 4499



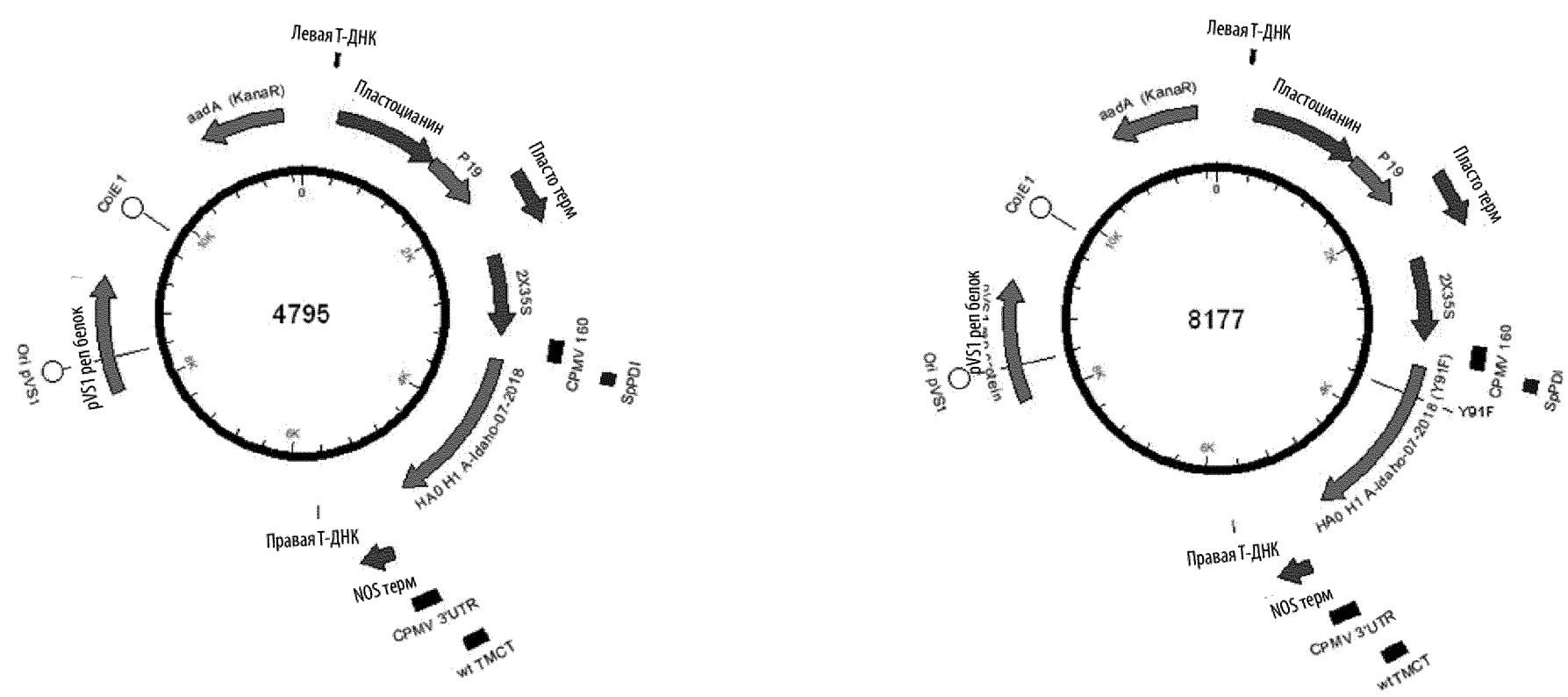
Фиг. 12В

H1 Cal



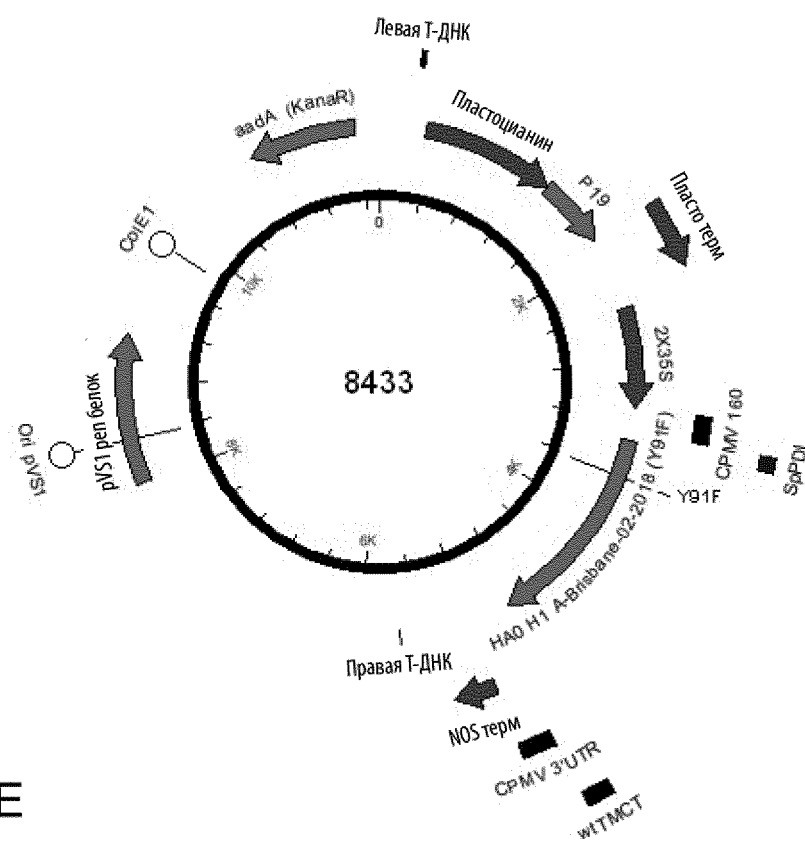
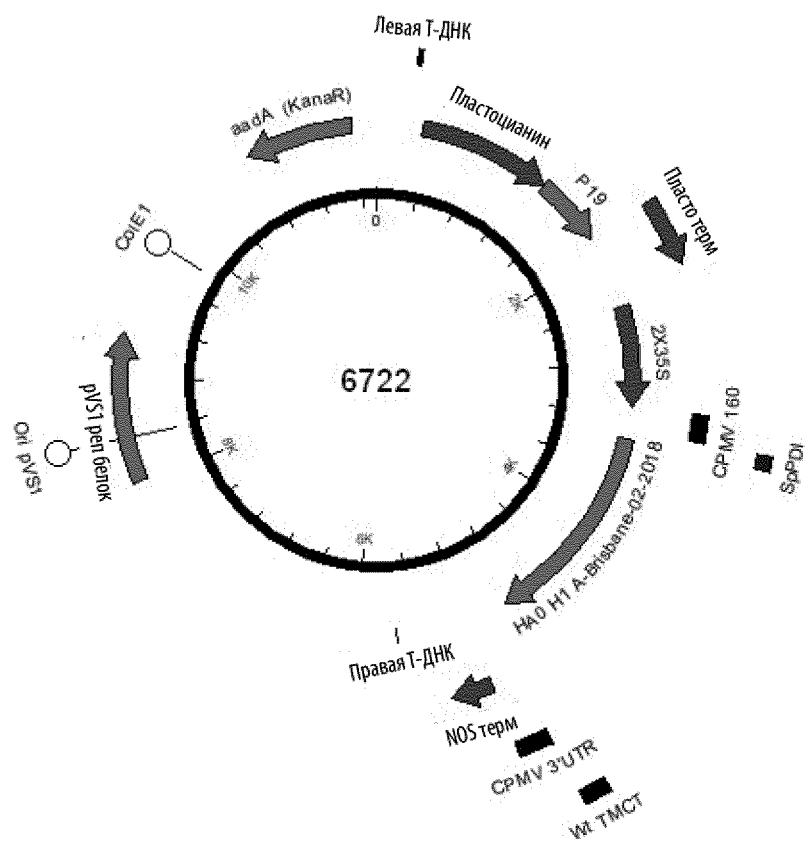
Фиг. 12С

H1 Idaho



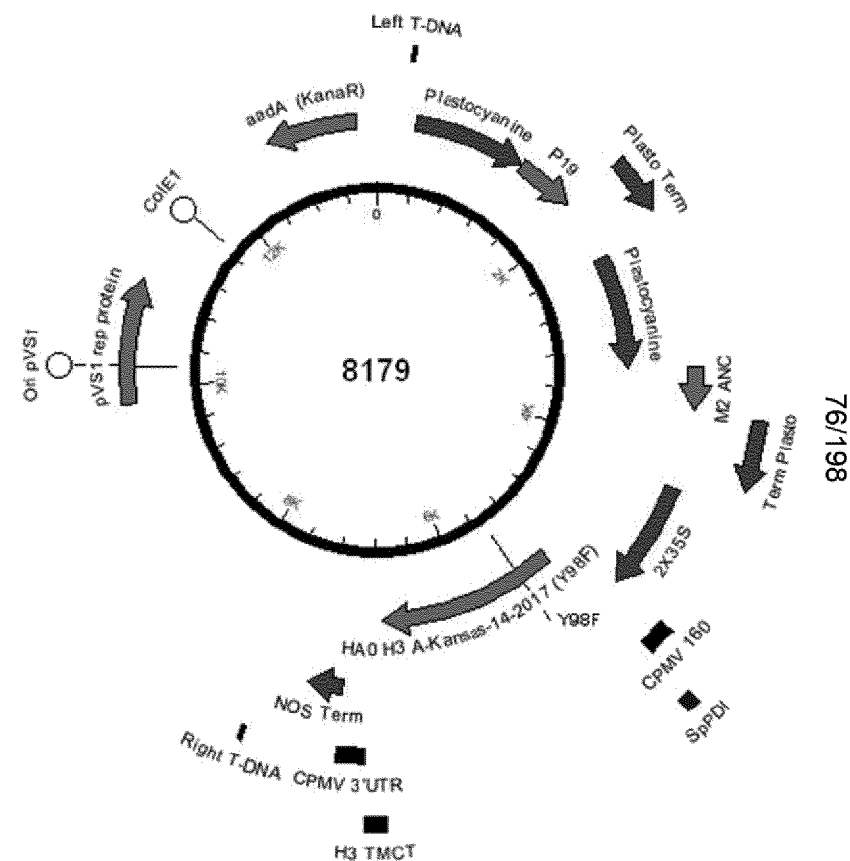
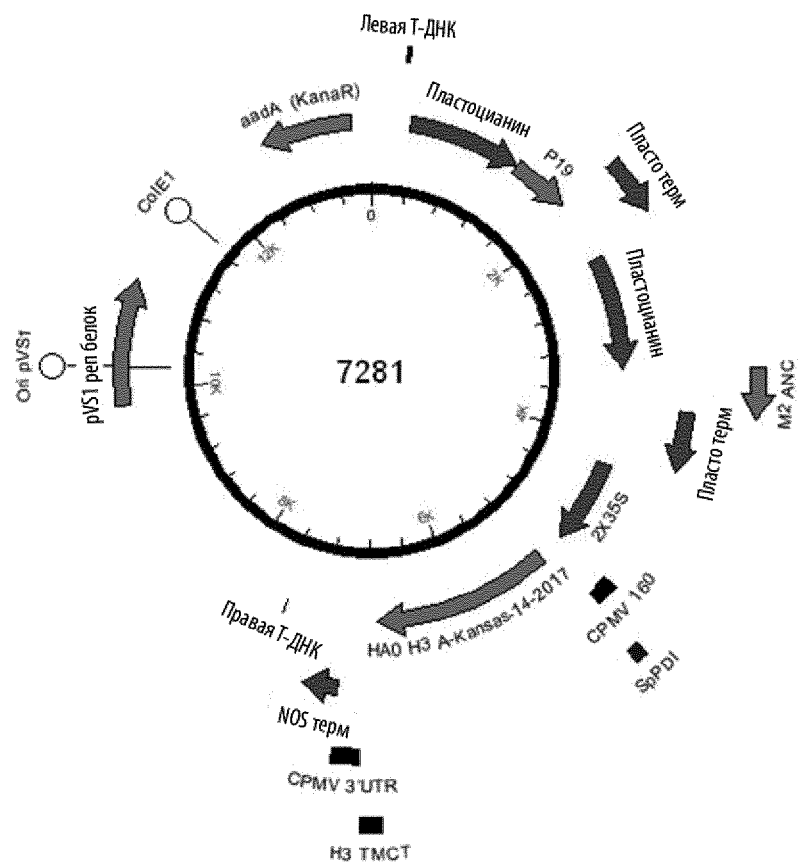
Фиг. 12D

H1 Brisbane



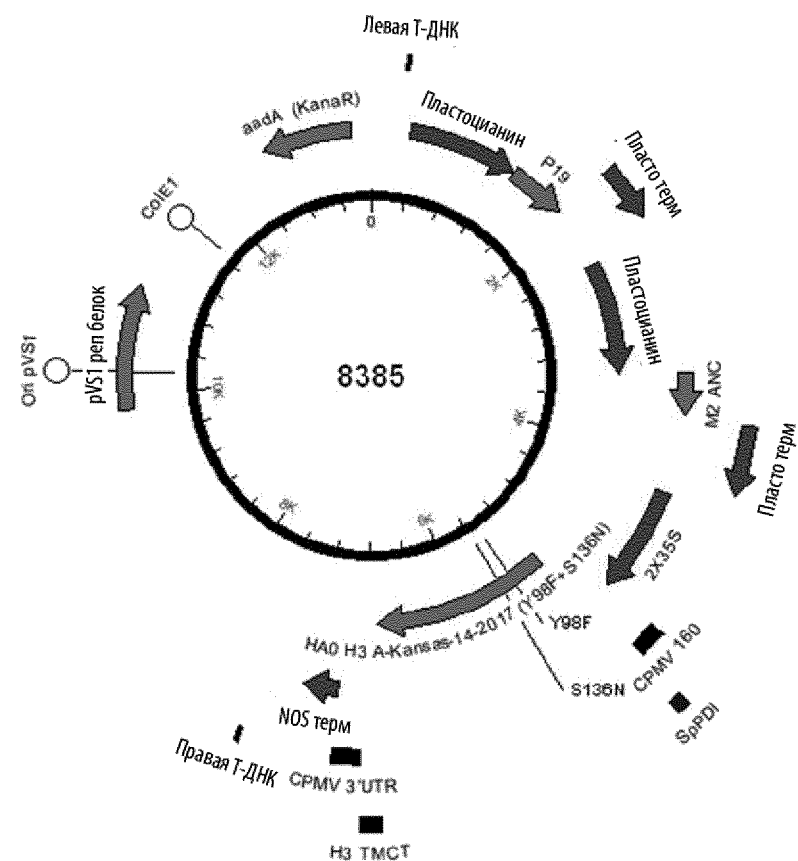
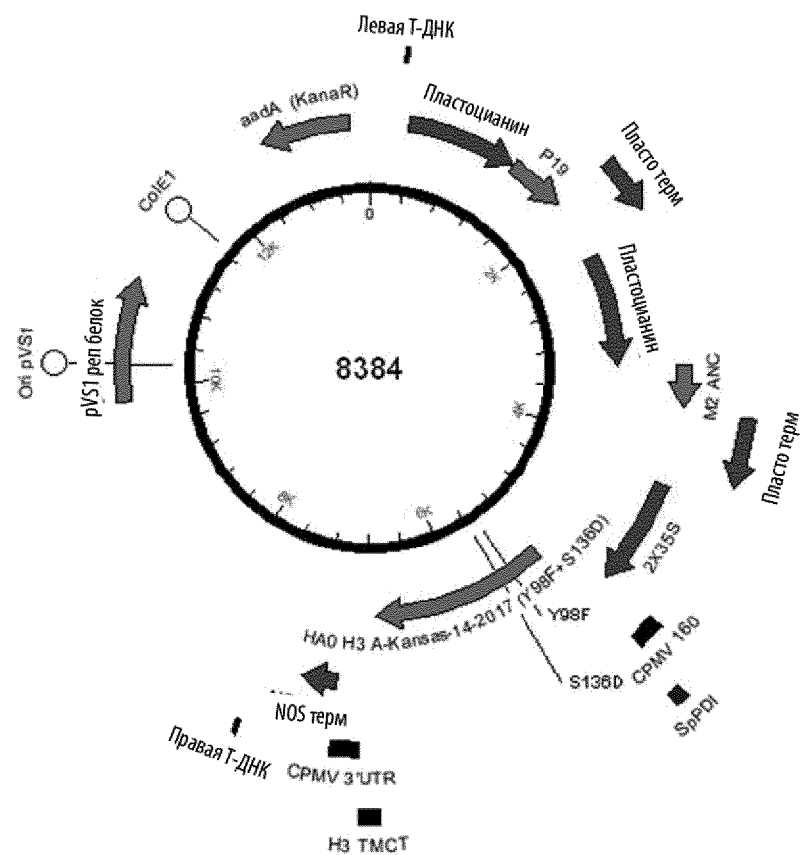
Фиг. 12Е

H3 Kansas



Фиг. 12F

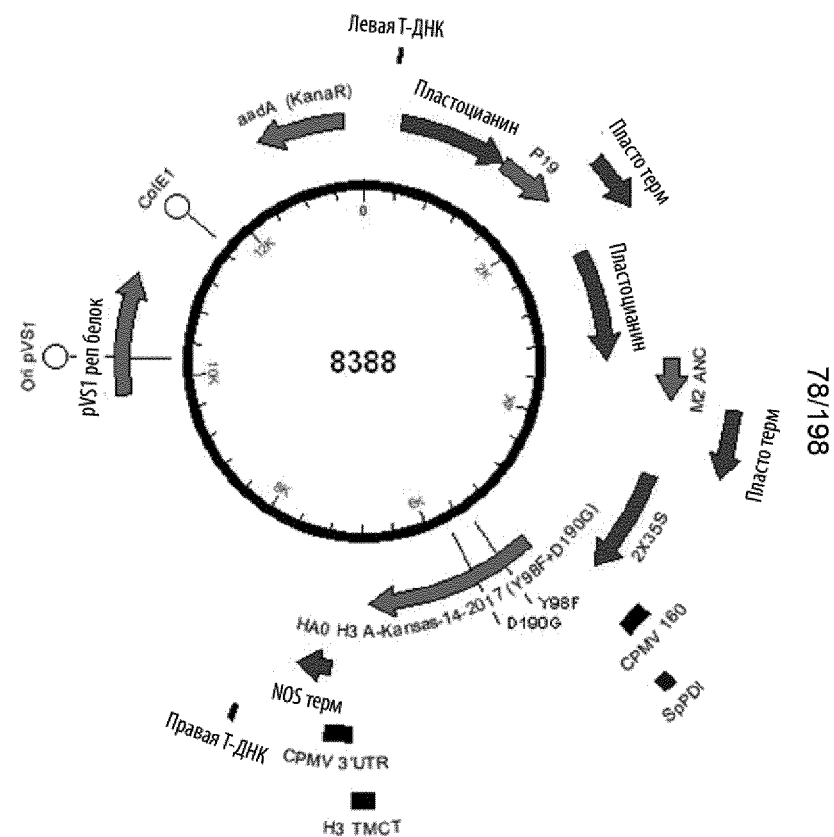
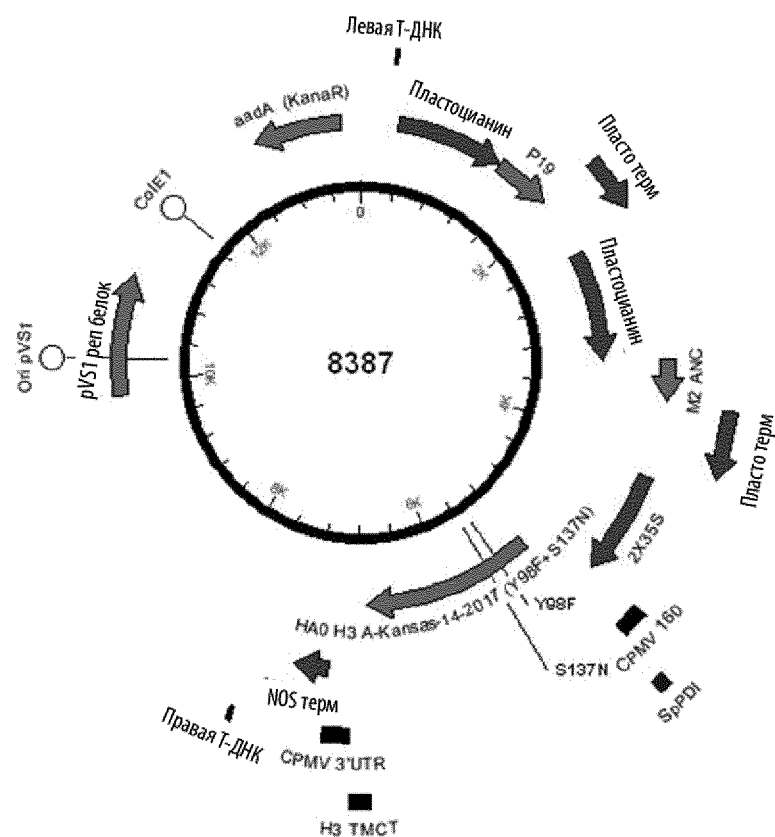
H3 Kansas



77/198

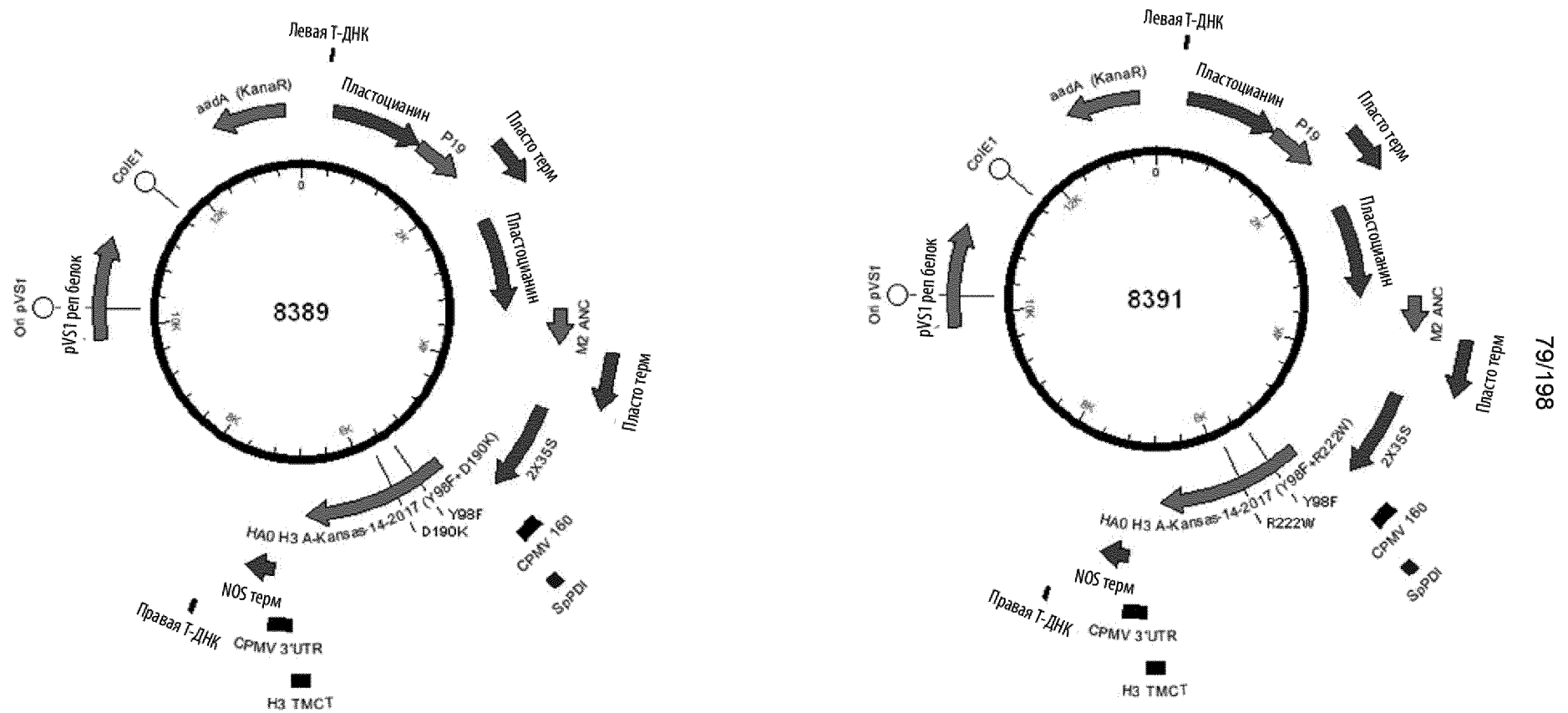
Фиг. 12G

H3 Kansas



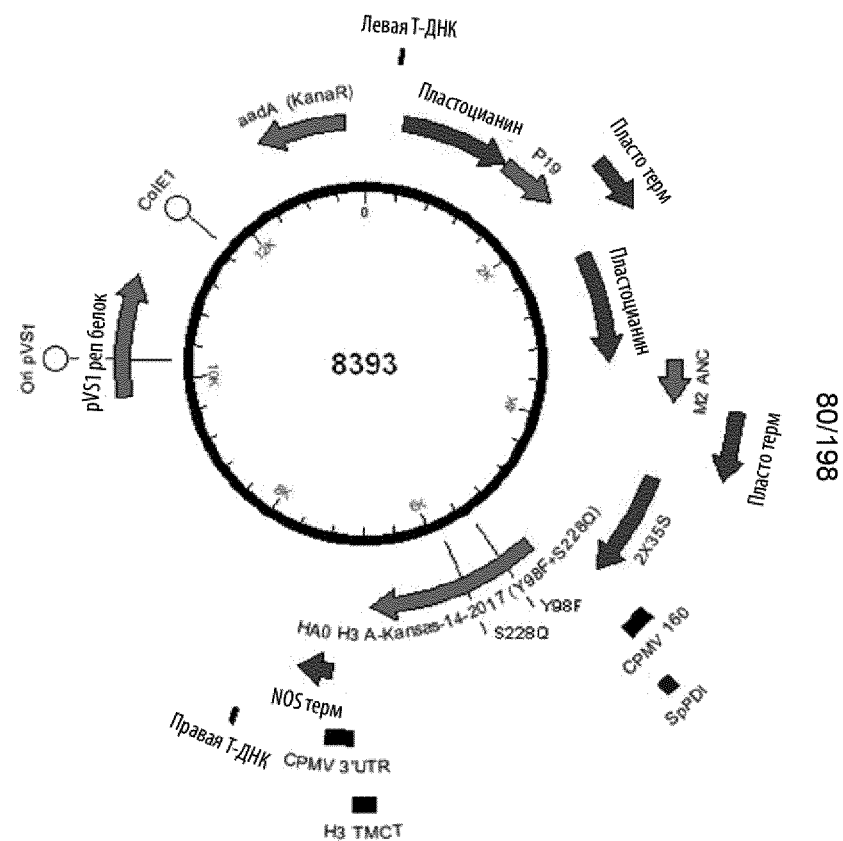
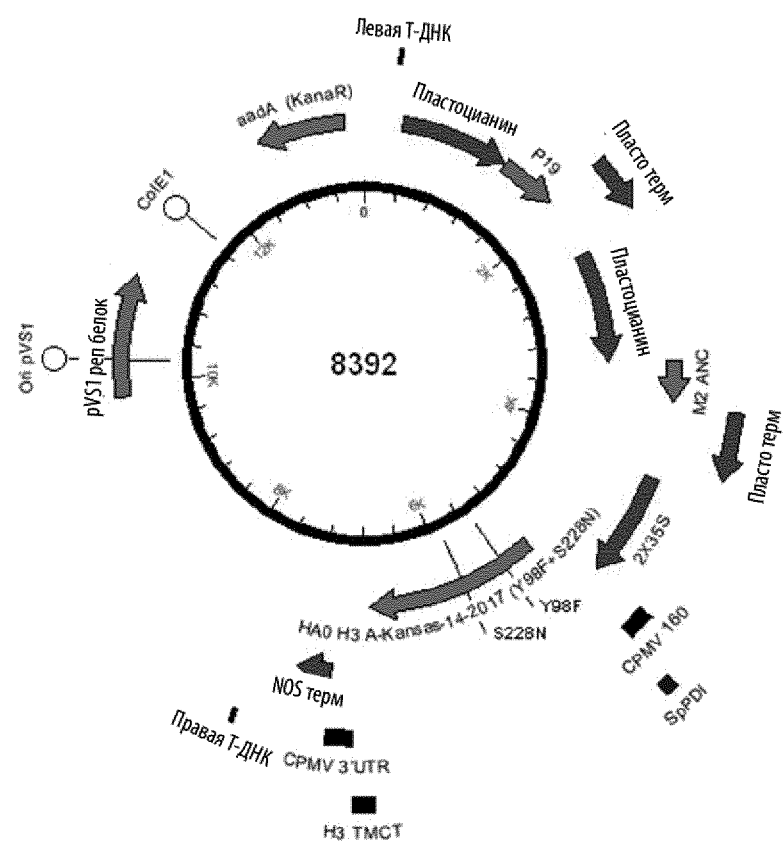
Фиг. 12Н

H3 Kansas



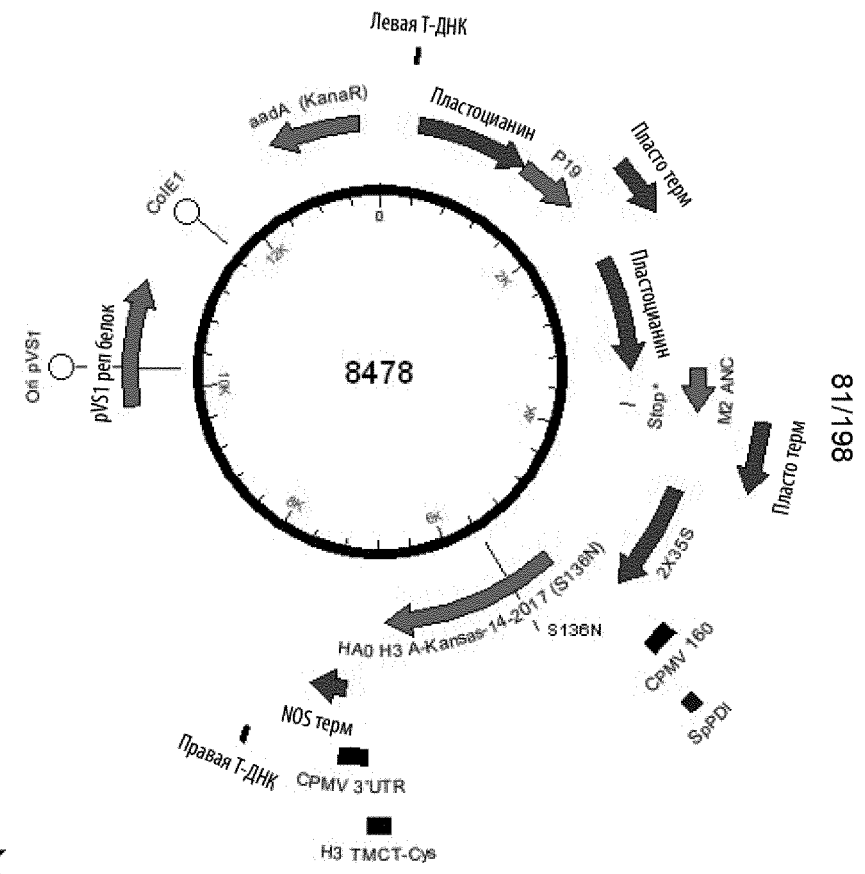
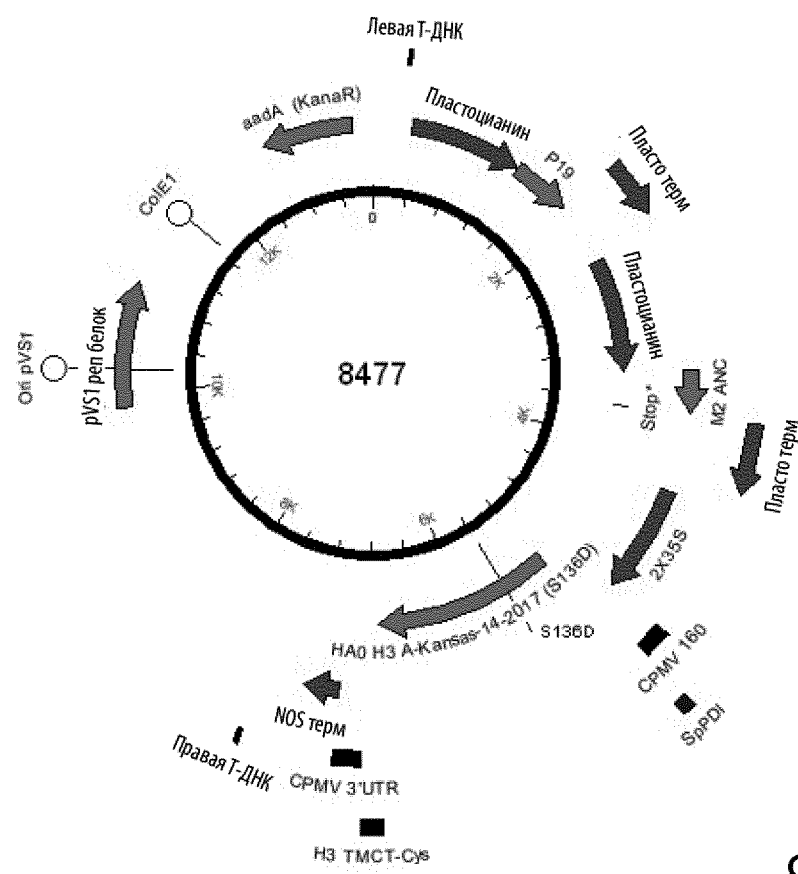
Фиг. 121

H3 Kansas



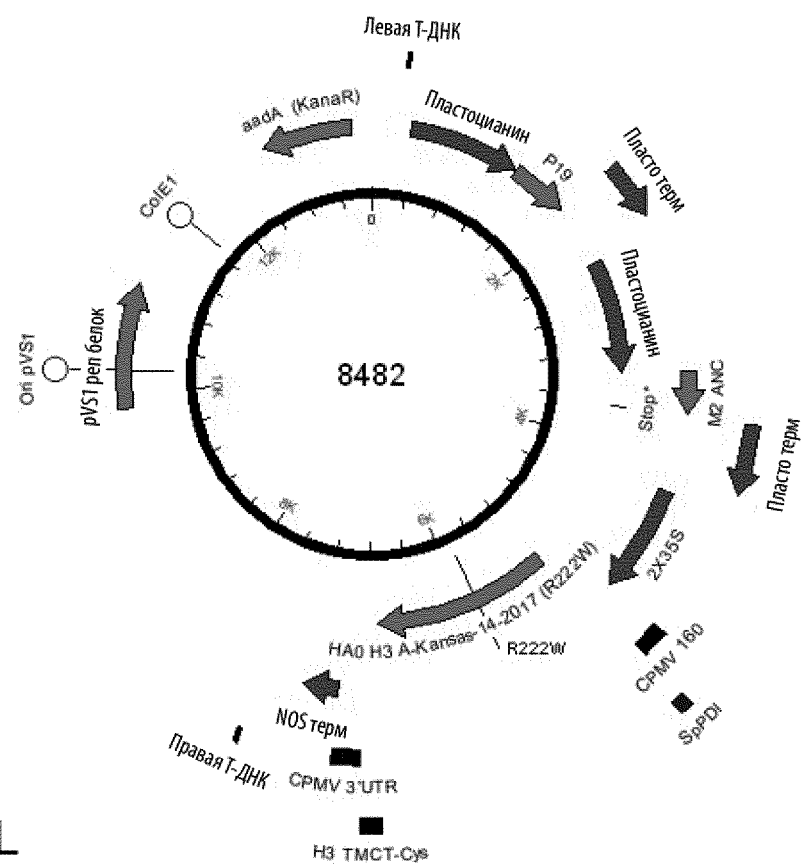
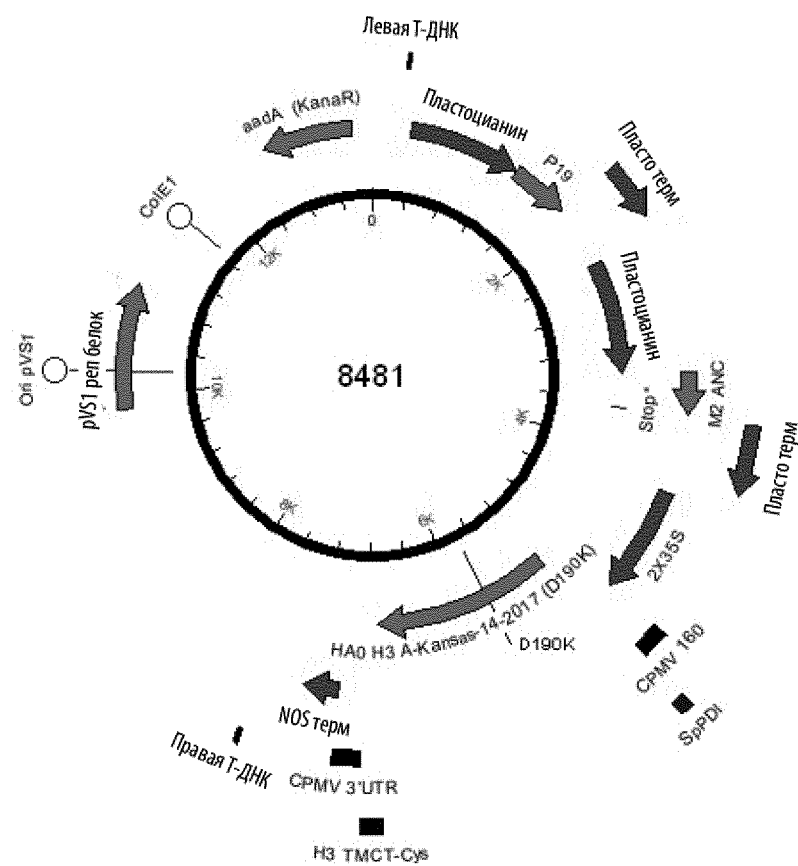
Фиг. 12J

H3 Kansas



Фиг. 12К

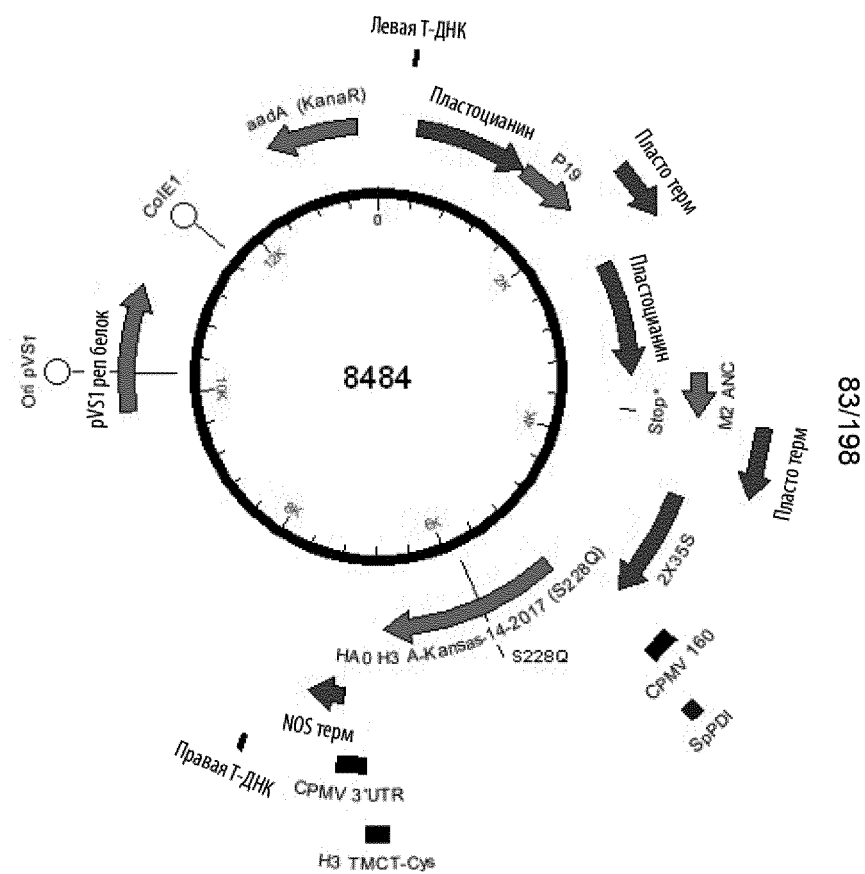
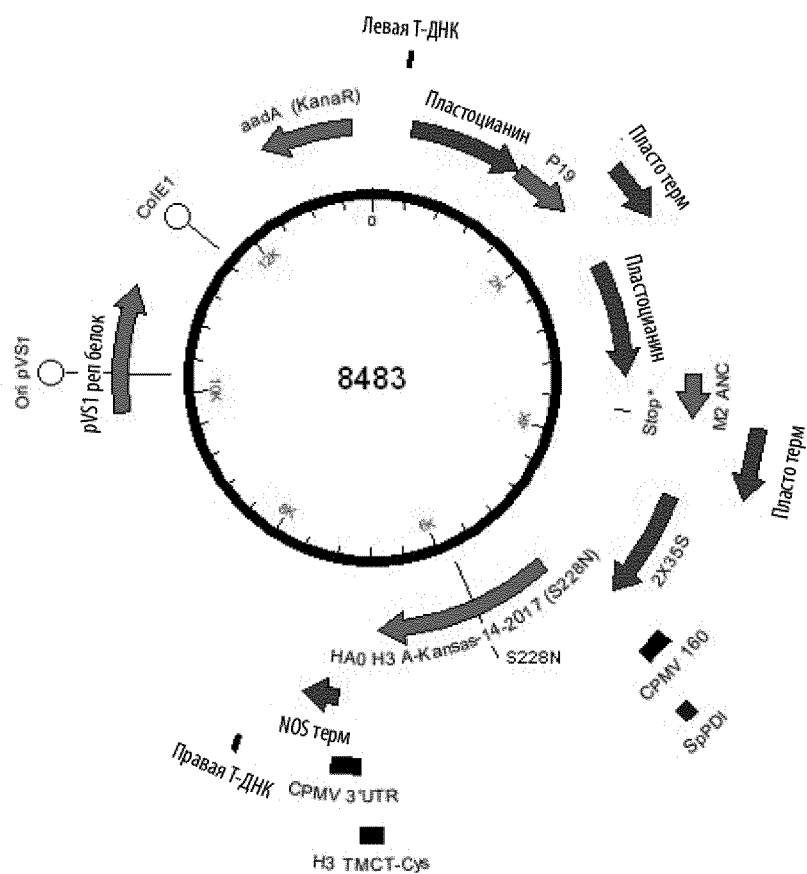
H3 Kansas



82/198

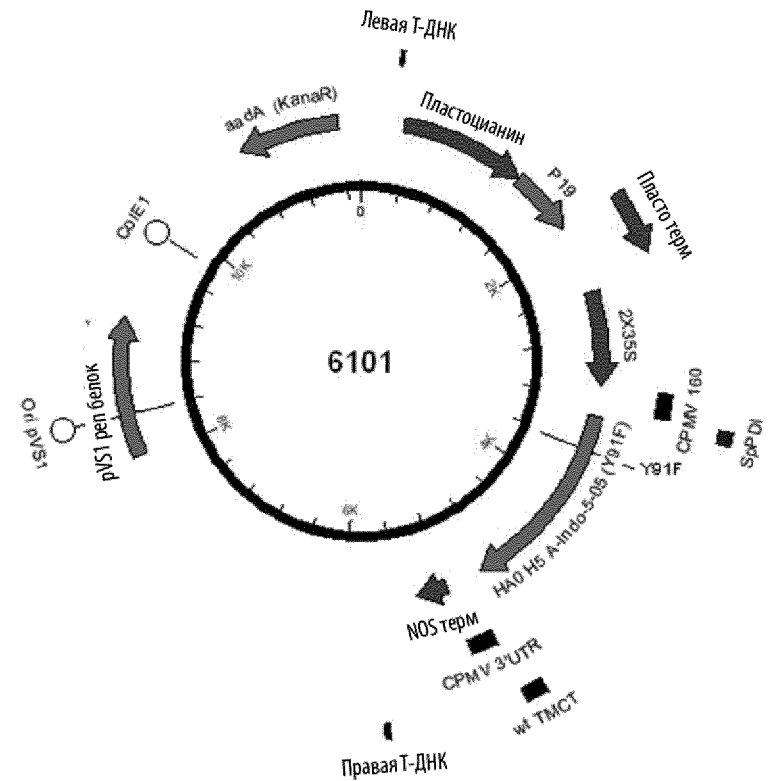
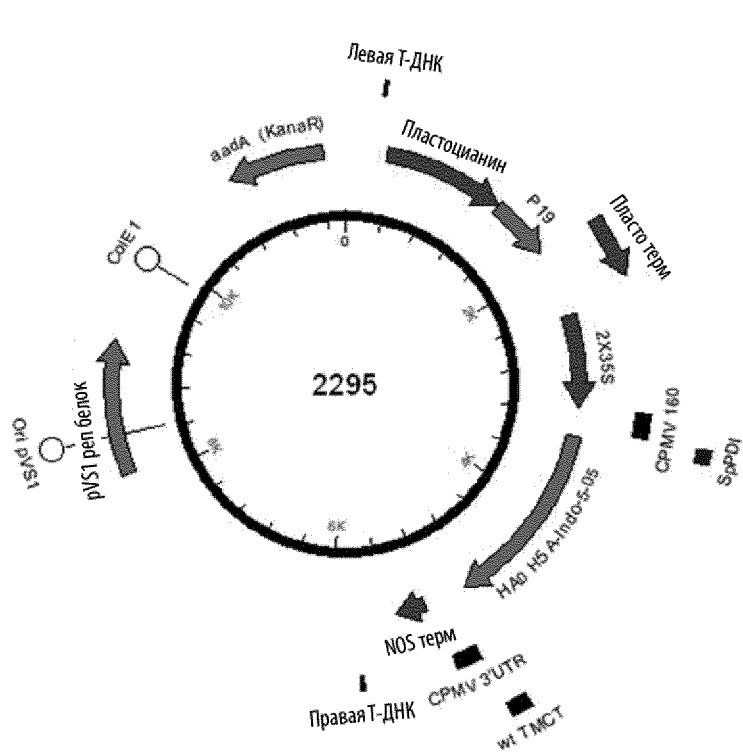
Фиг. 12L

H3 Kansas



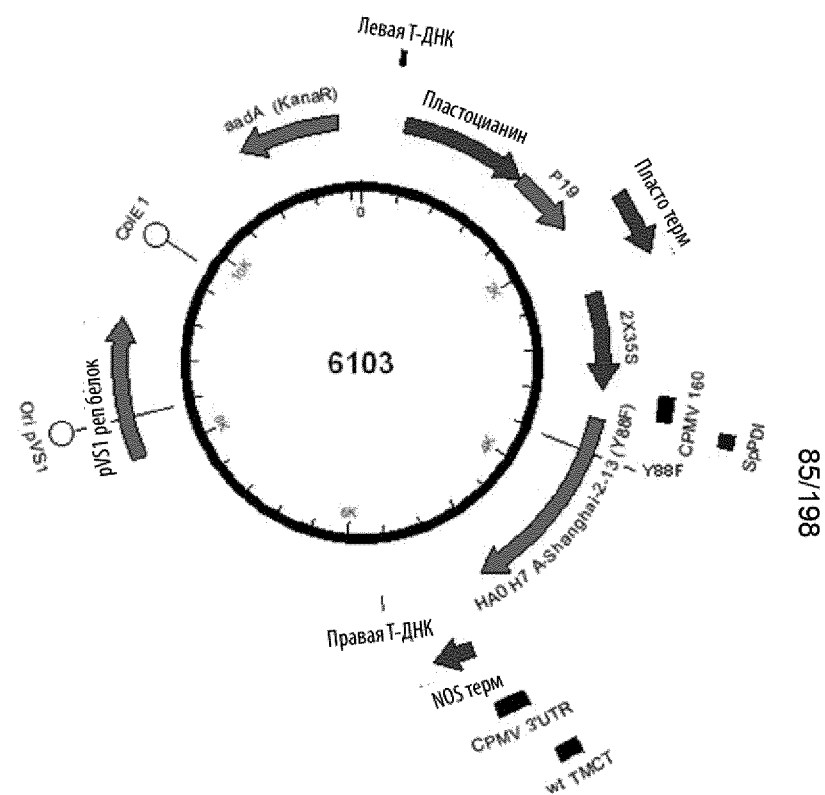
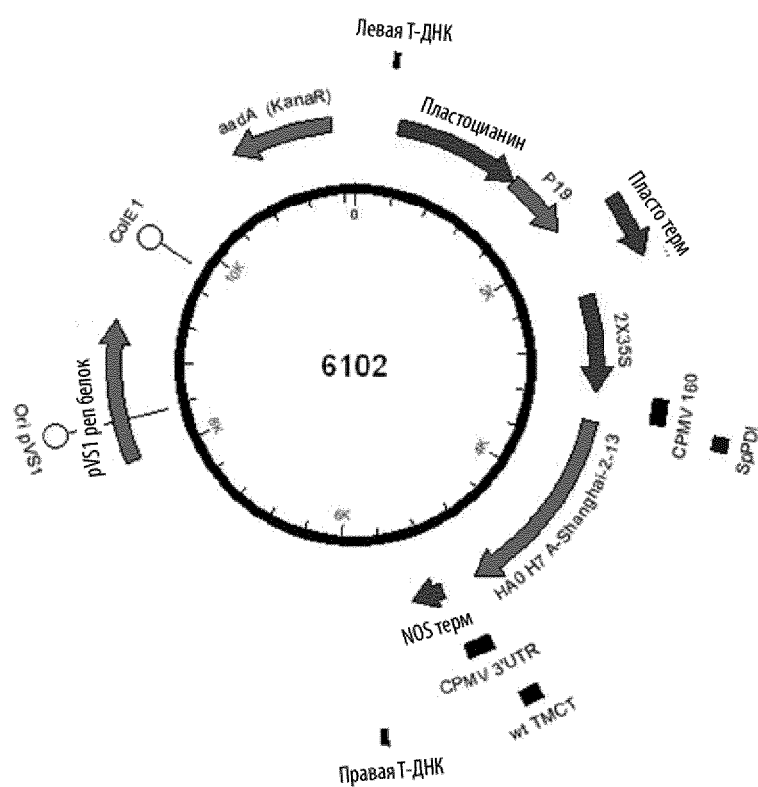
Фиг. 12M

H5 Indonesia



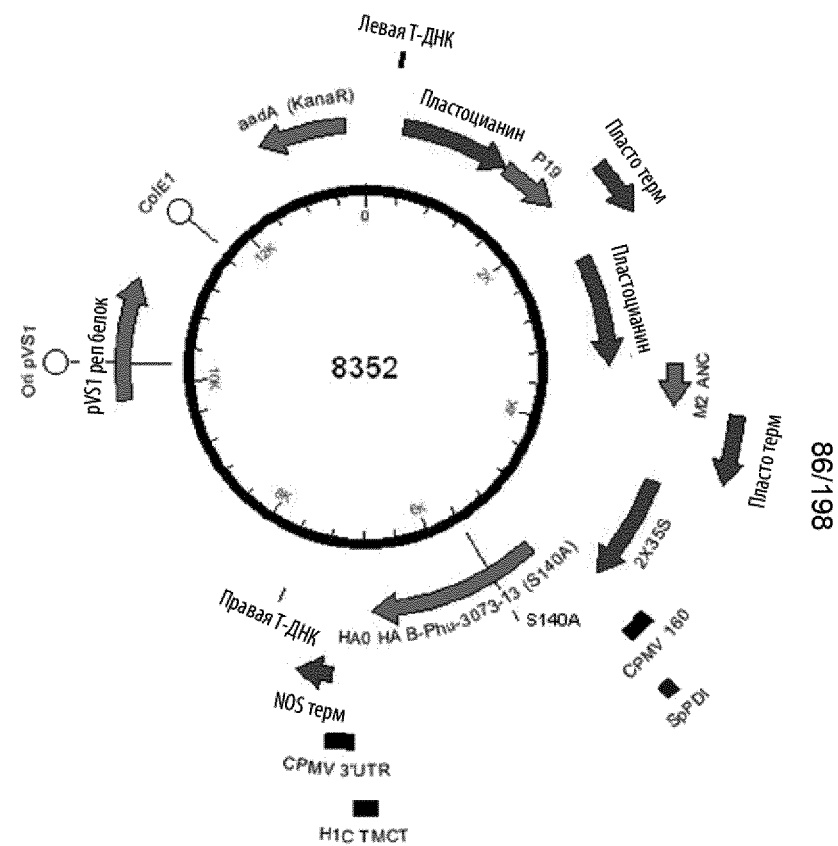
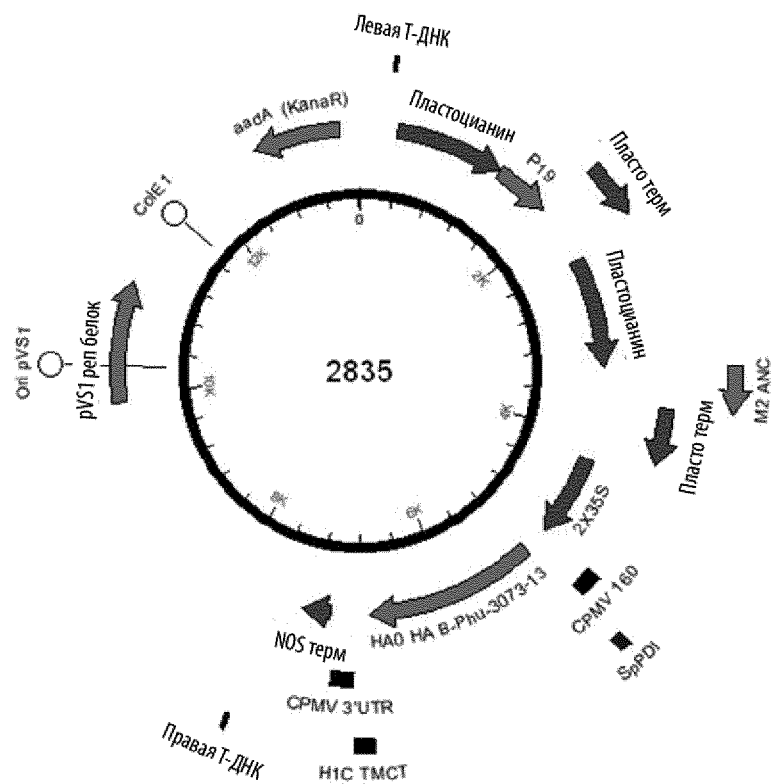
Фиг. 12N

H7 Shanghai



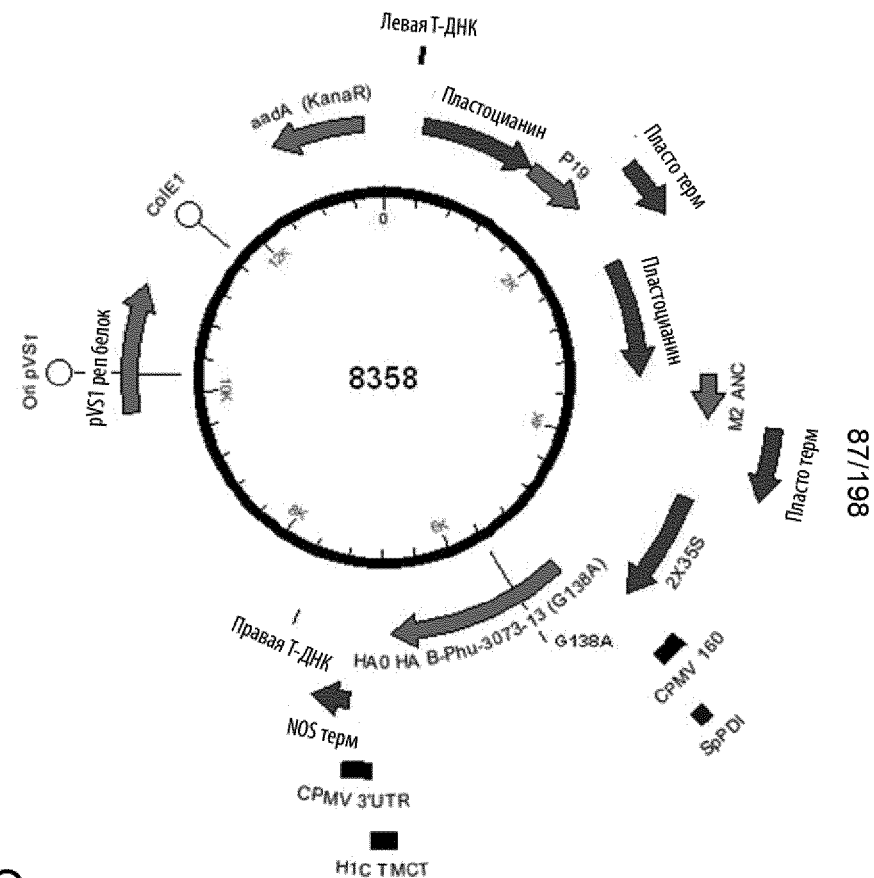
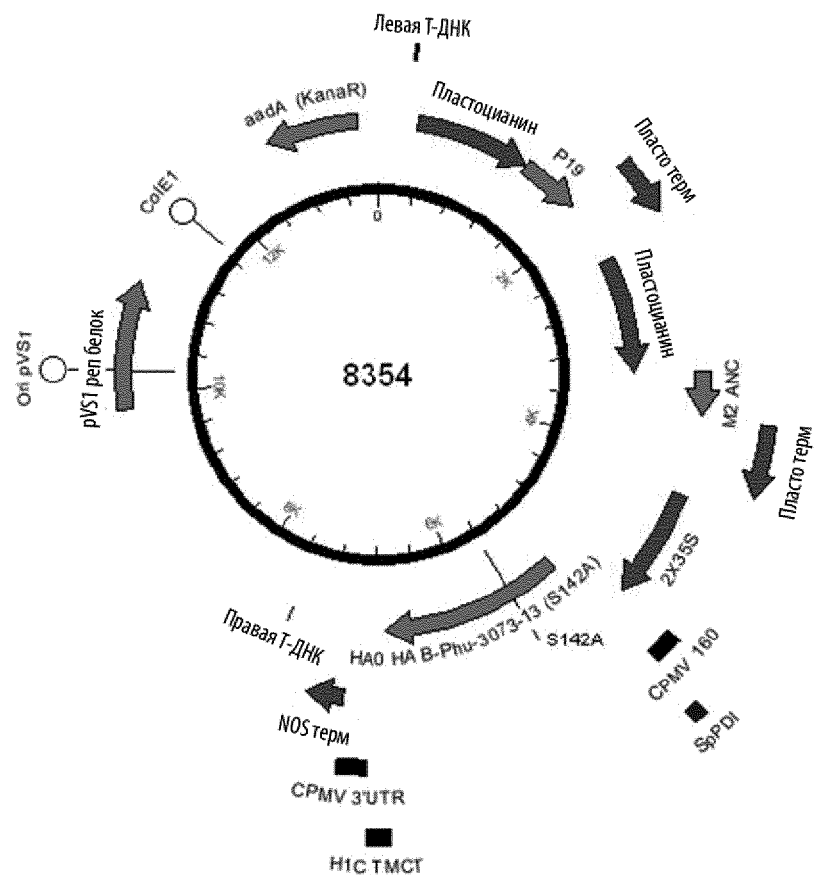
Фиг. 120

B Phuket



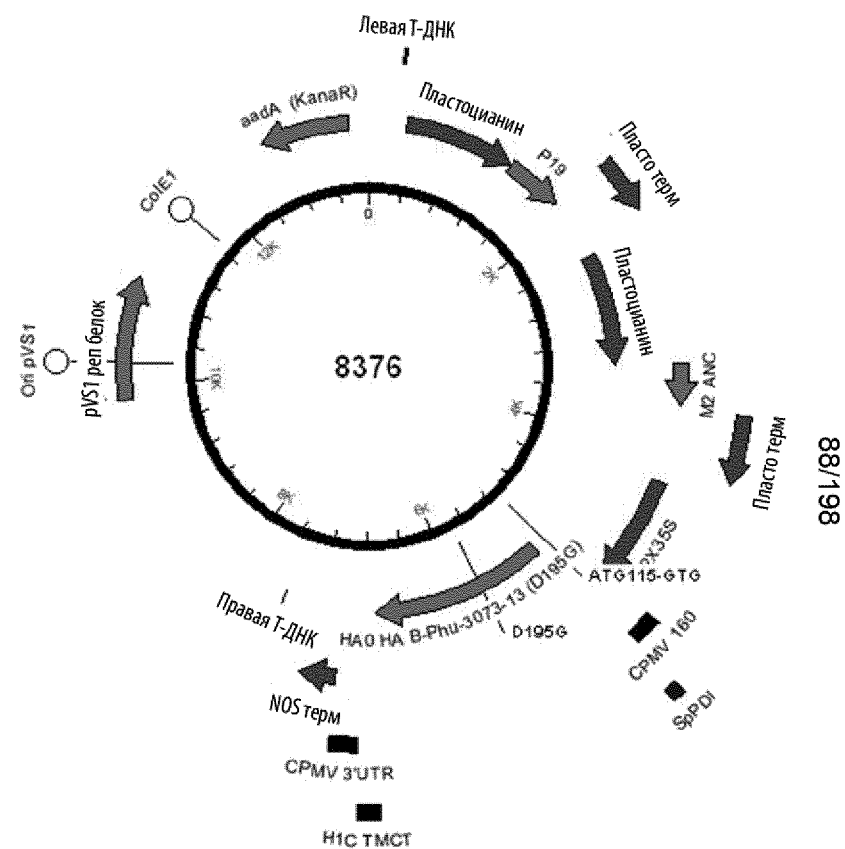
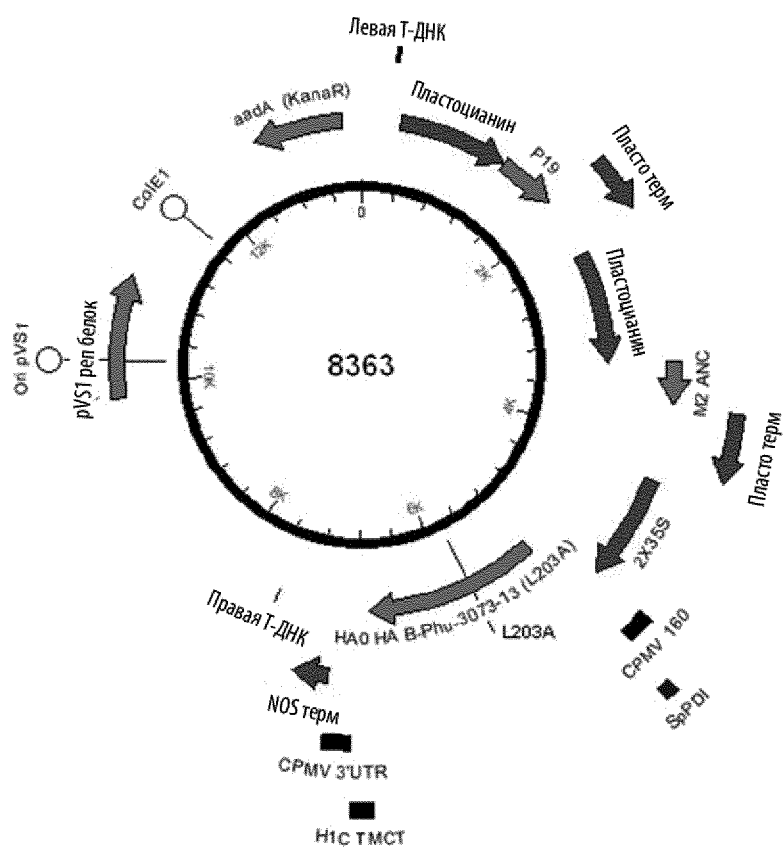
Фиг. 12Р

B Phuket



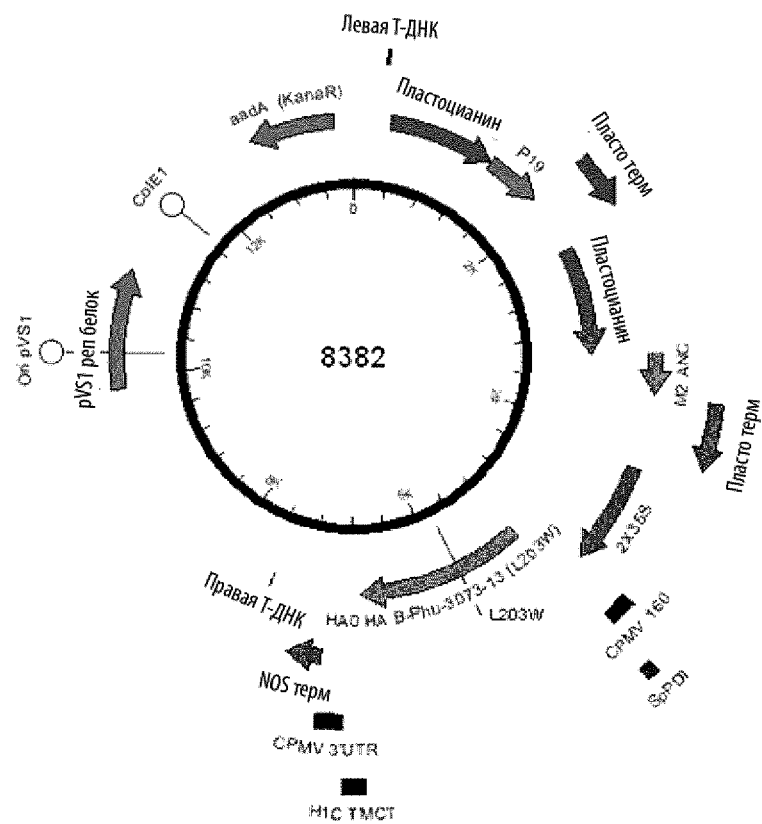
Фиг. 12Q

В Phuket



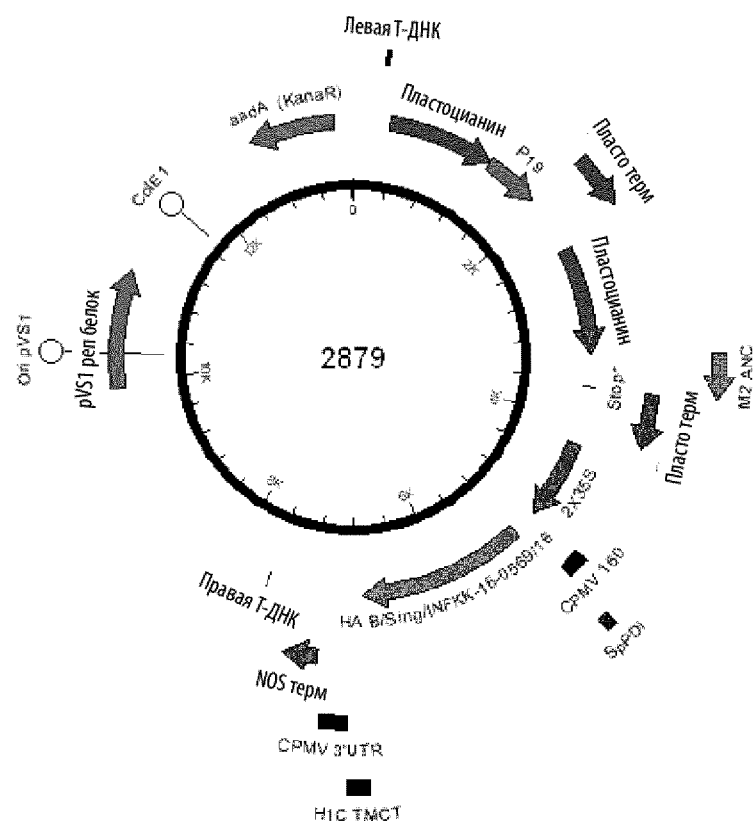
Фиг. 12R

В Phuket

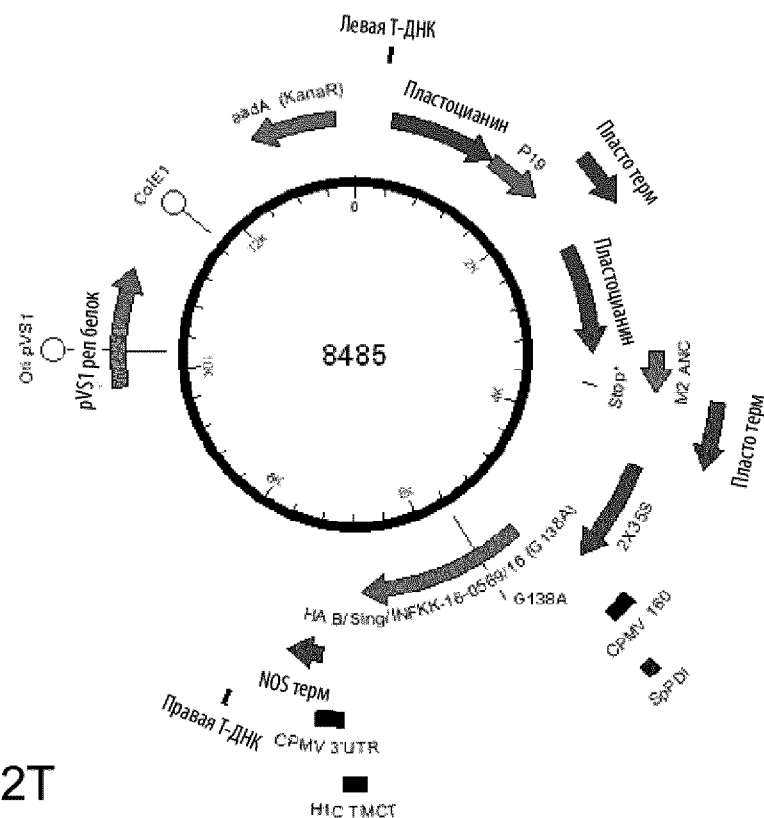


Фиг. 12S

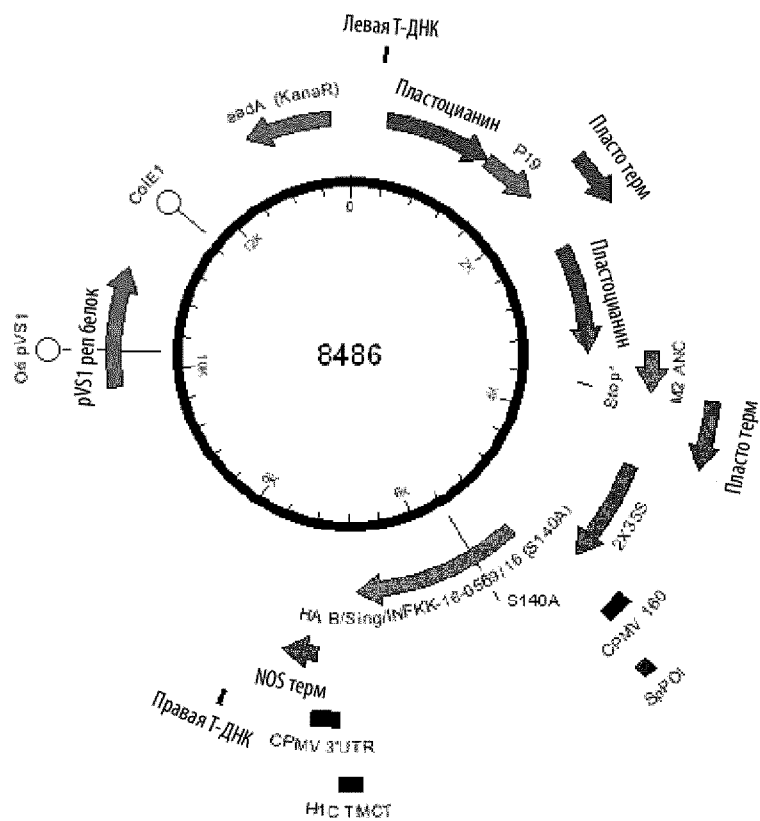
В Singapore



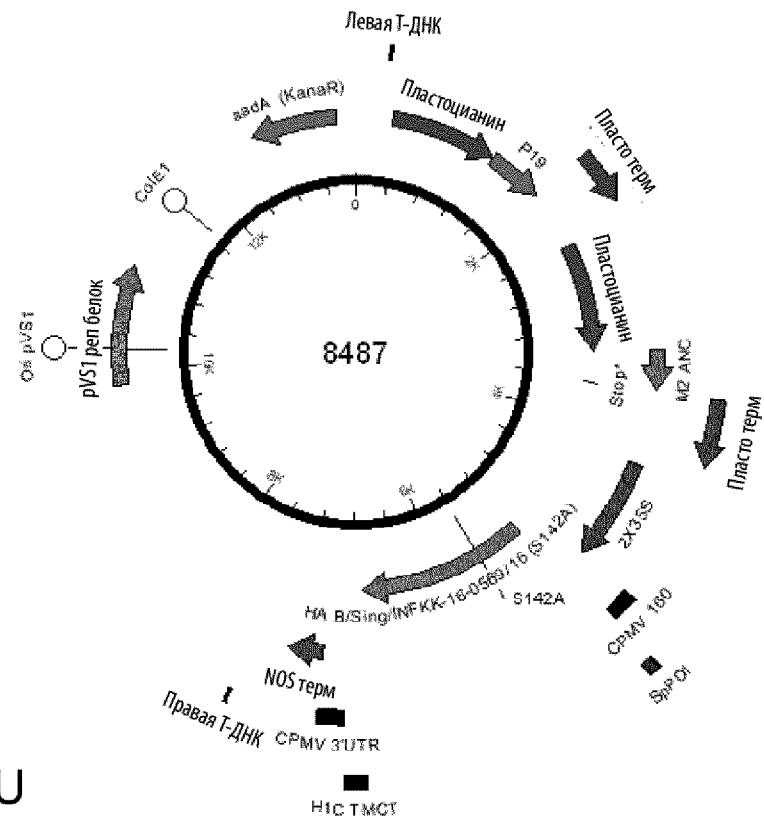
Фиг. 12Т



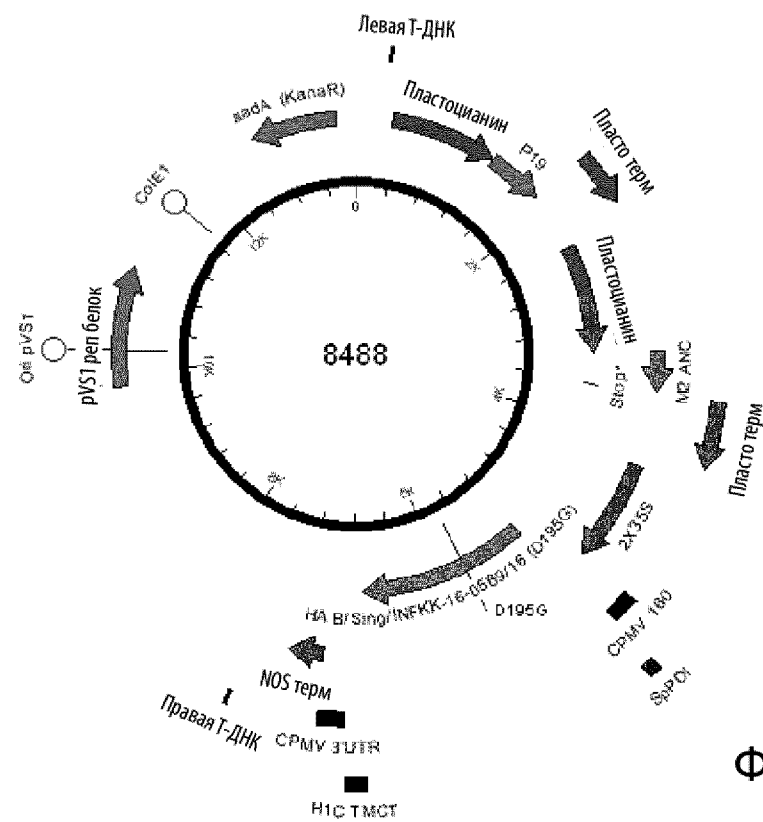
B Singapore



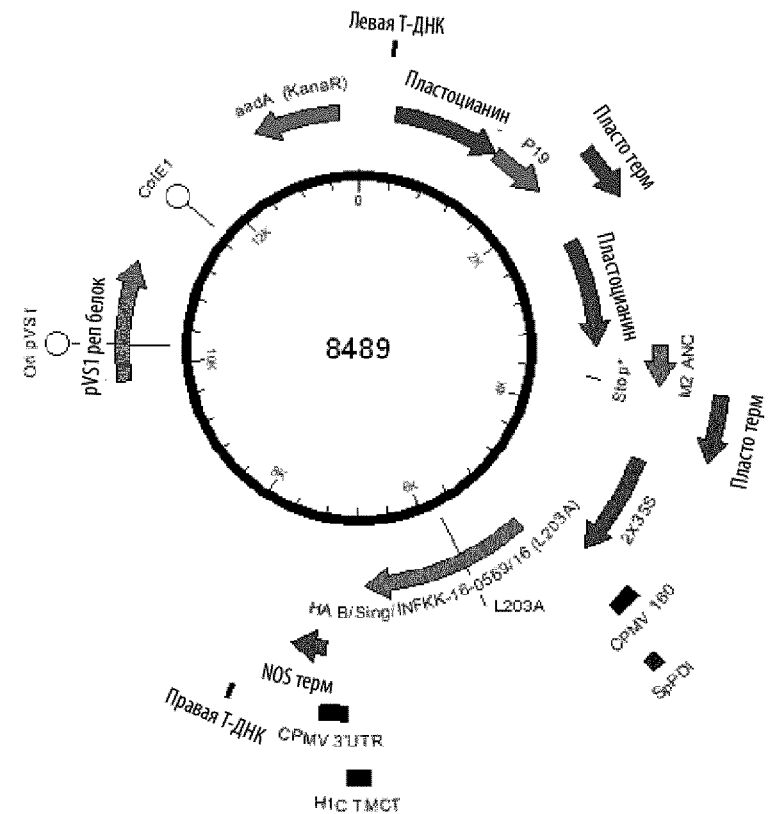
Фиг. 12U



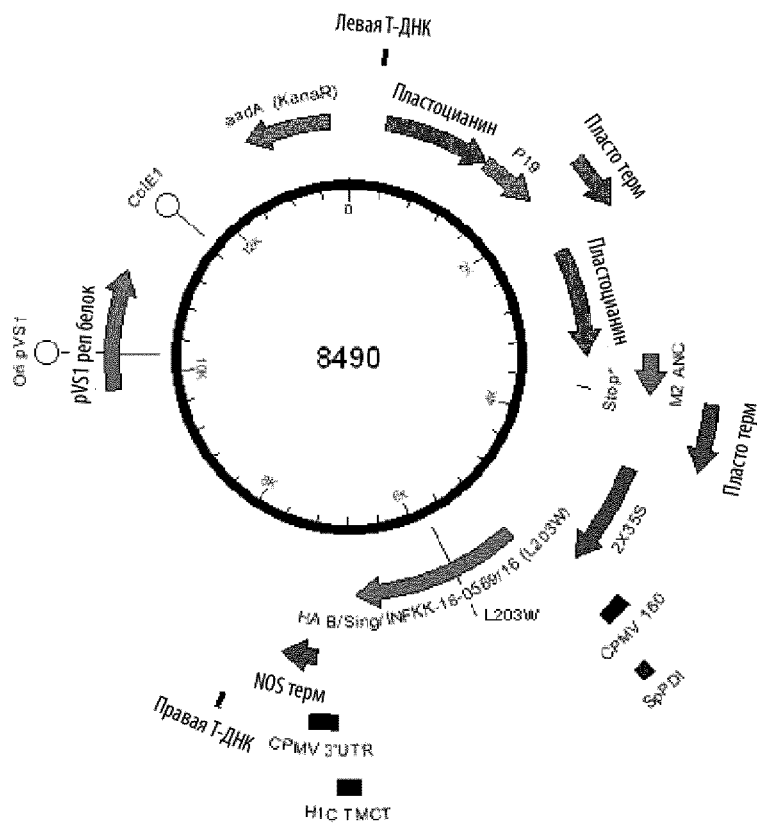
B Singapore



Фиг. 12V

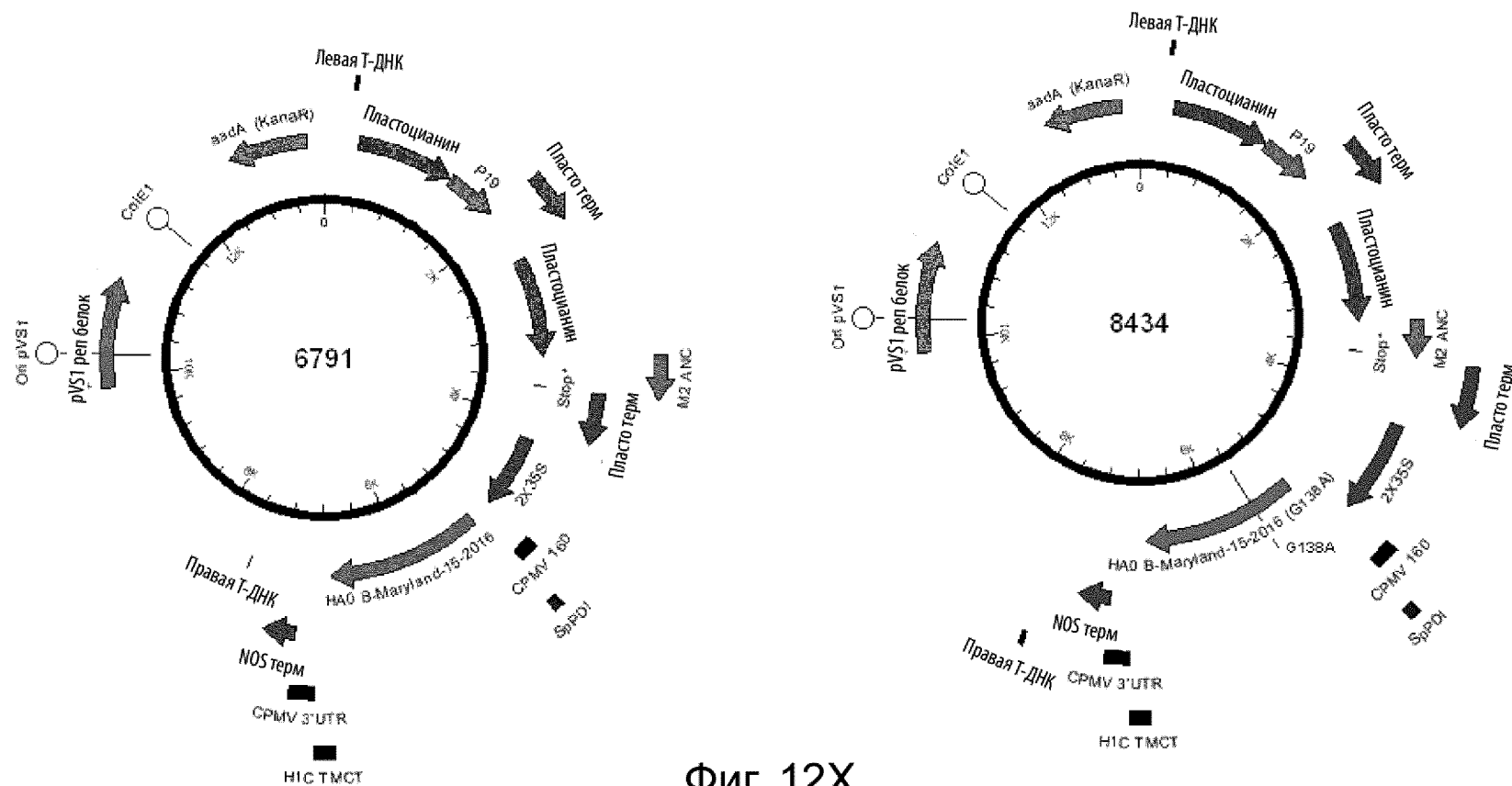


В Singapore



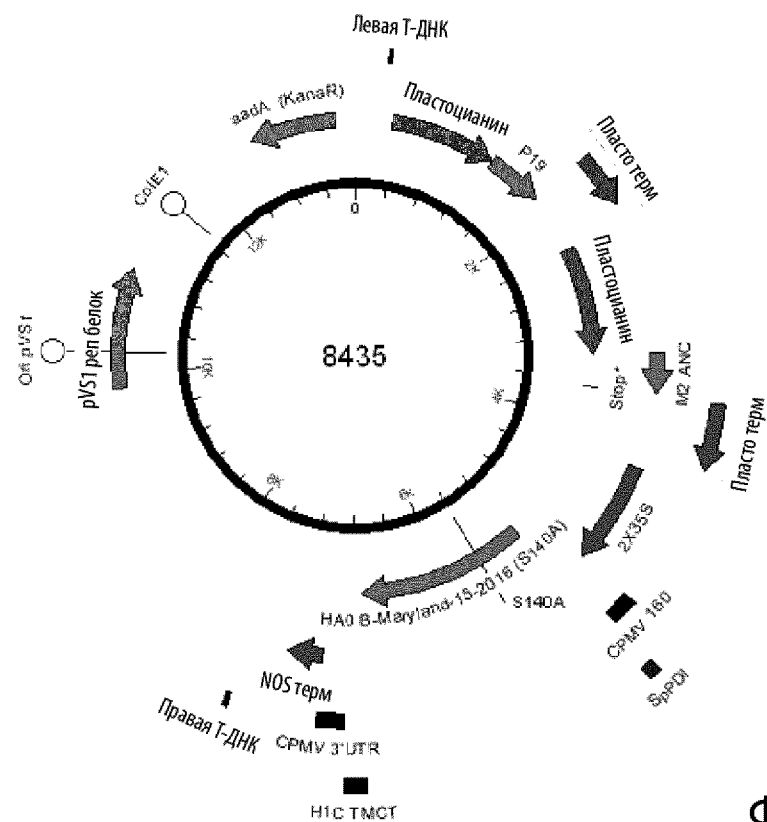
Фиг. 12W

B Maryland

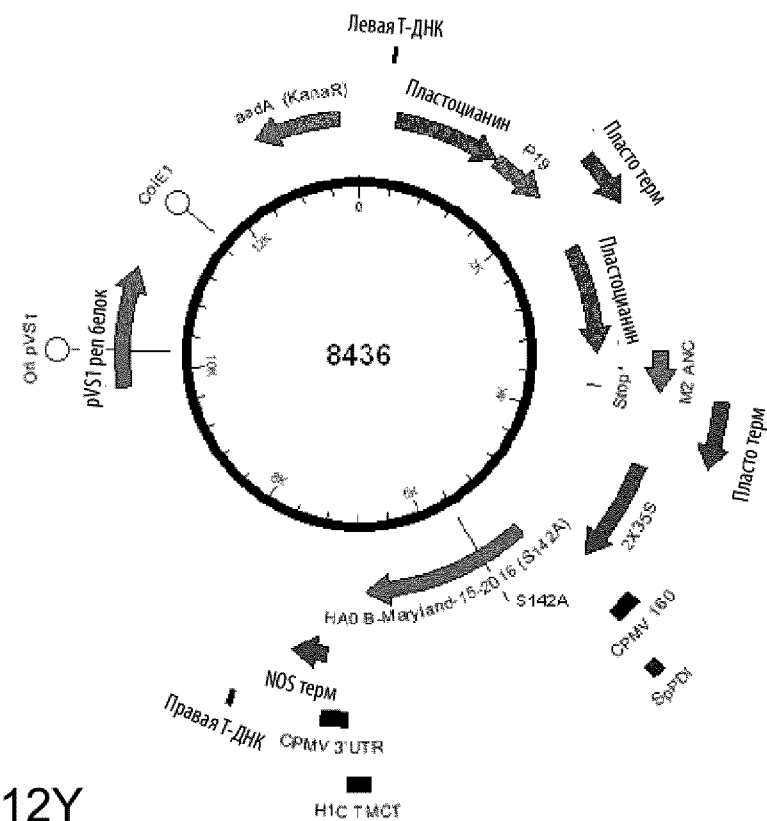


Фиг. 12X

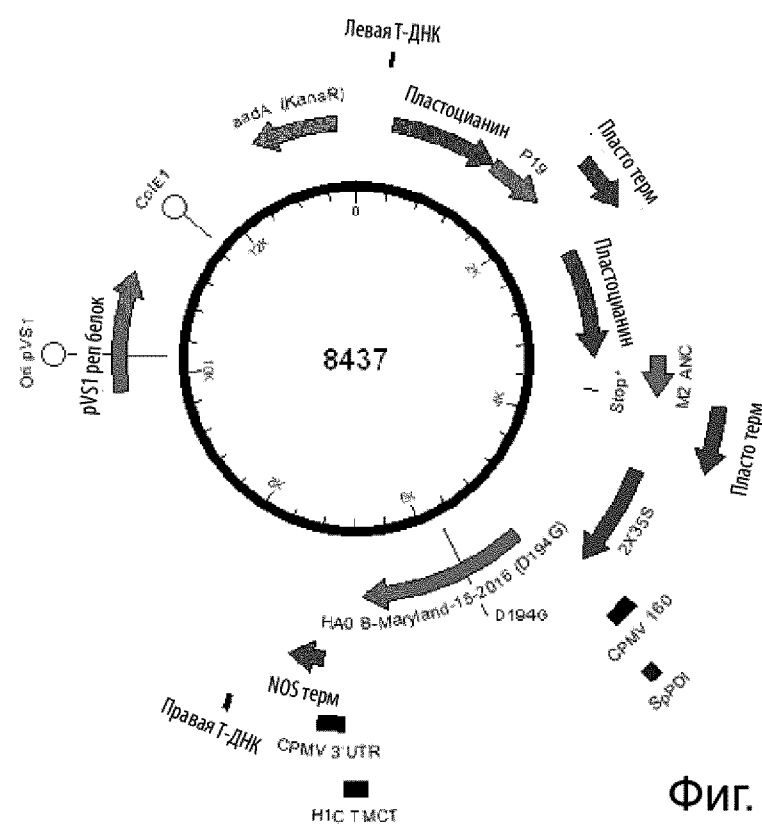
B Maryland



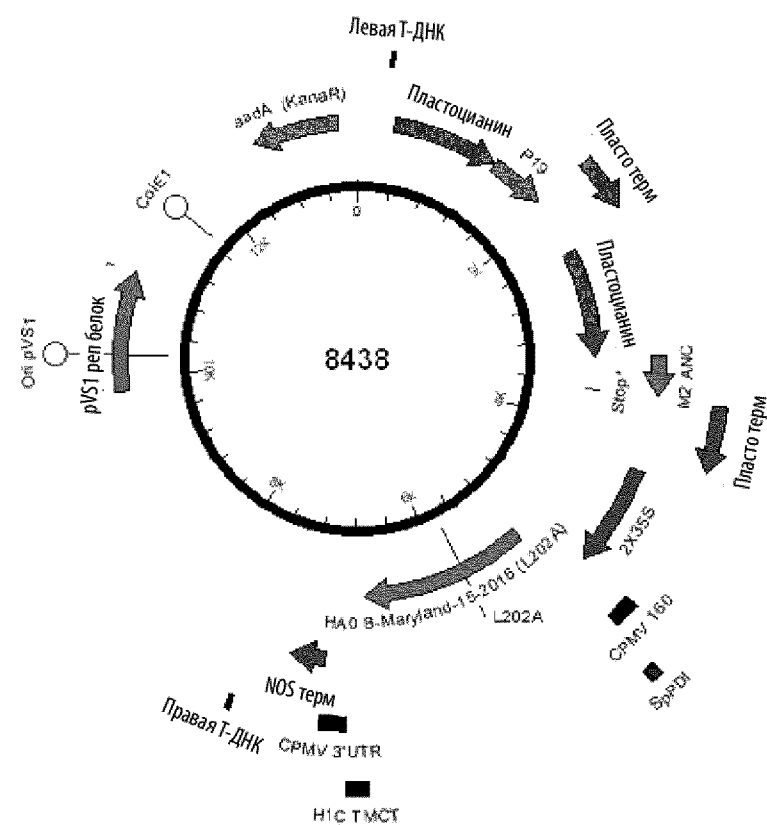
Фиг. 12Y



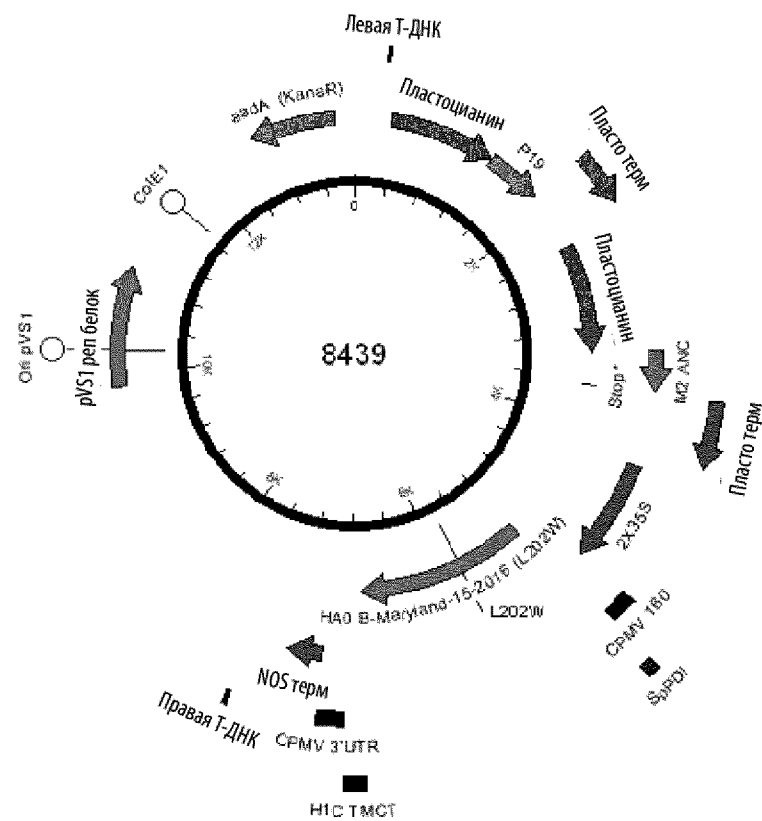
В Maryland



Фиг. 12Z

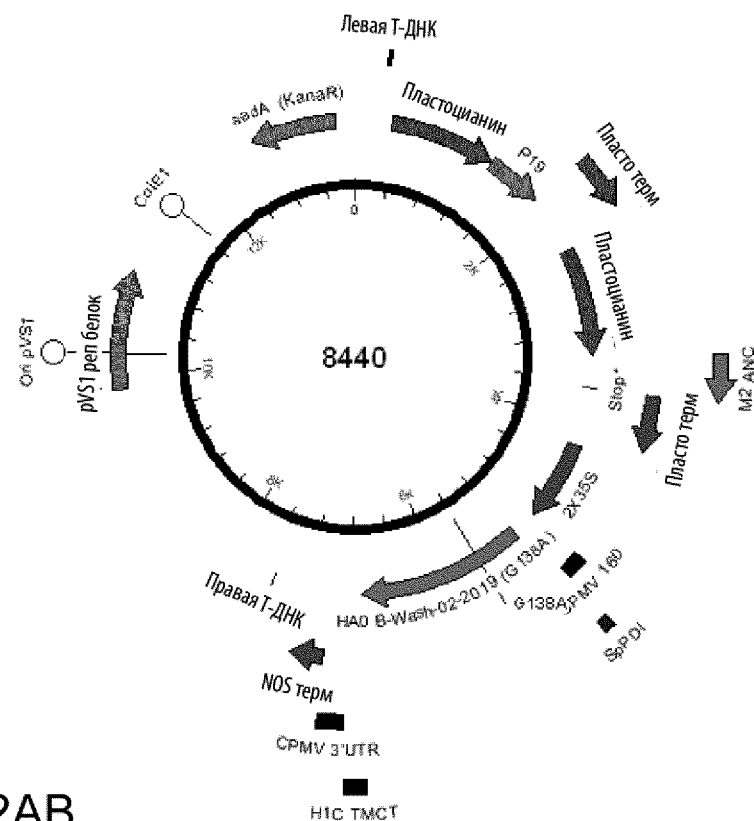
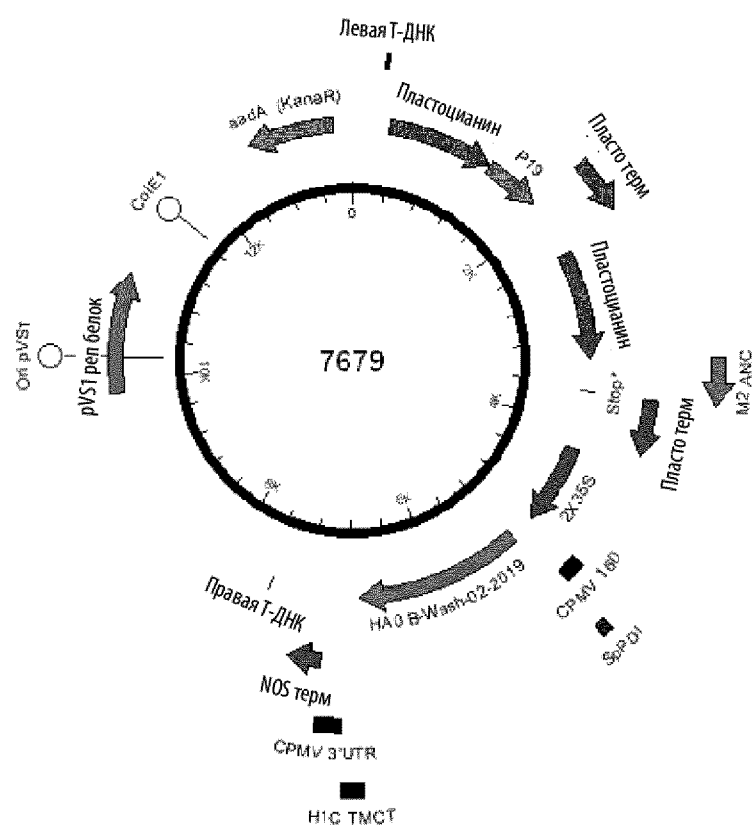


В Maryland



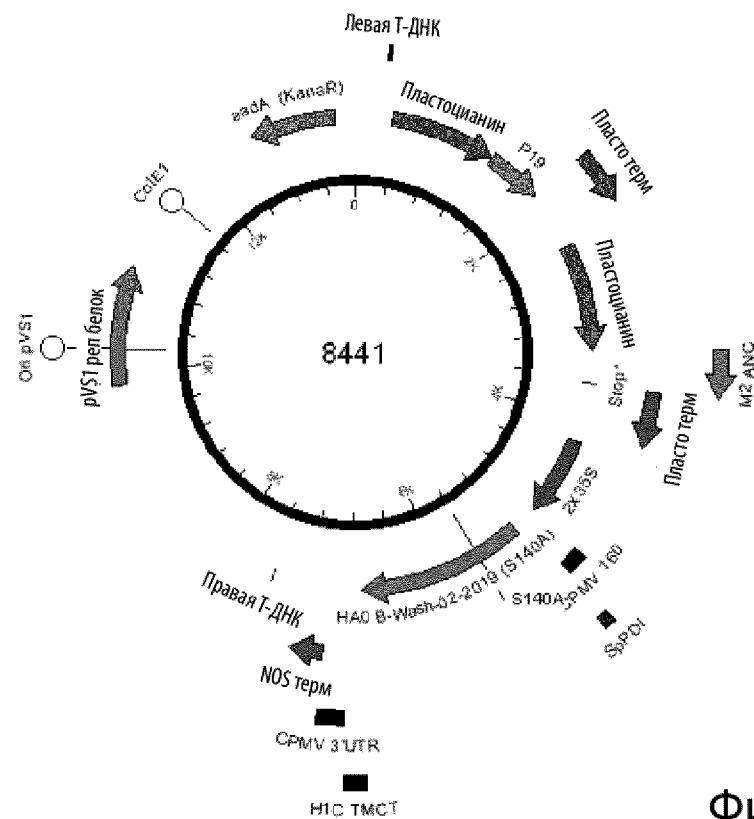
Фиг. 12АА

В Washington

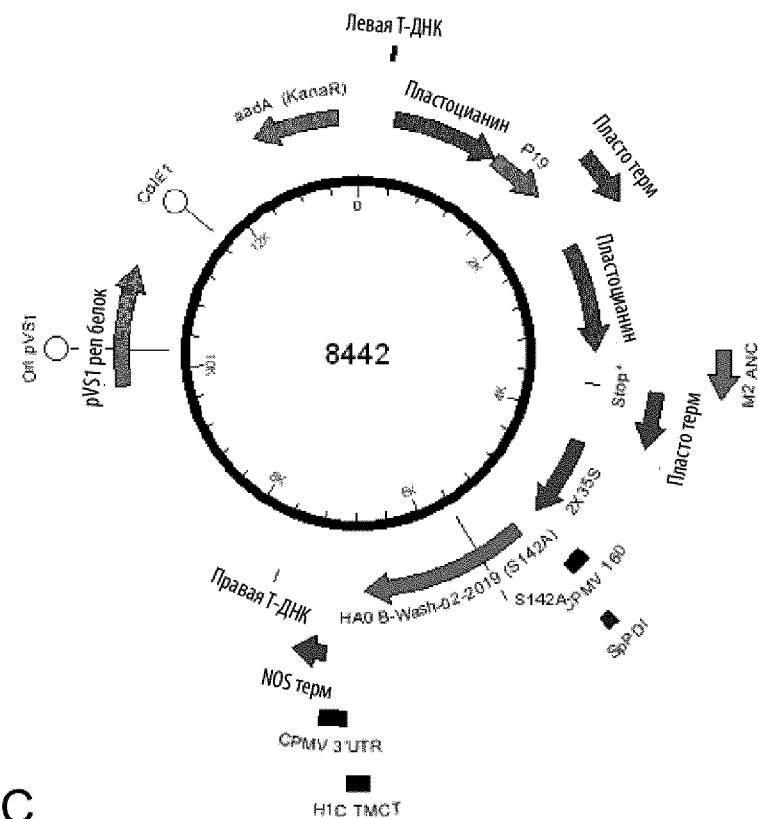


Фиг. 12AB

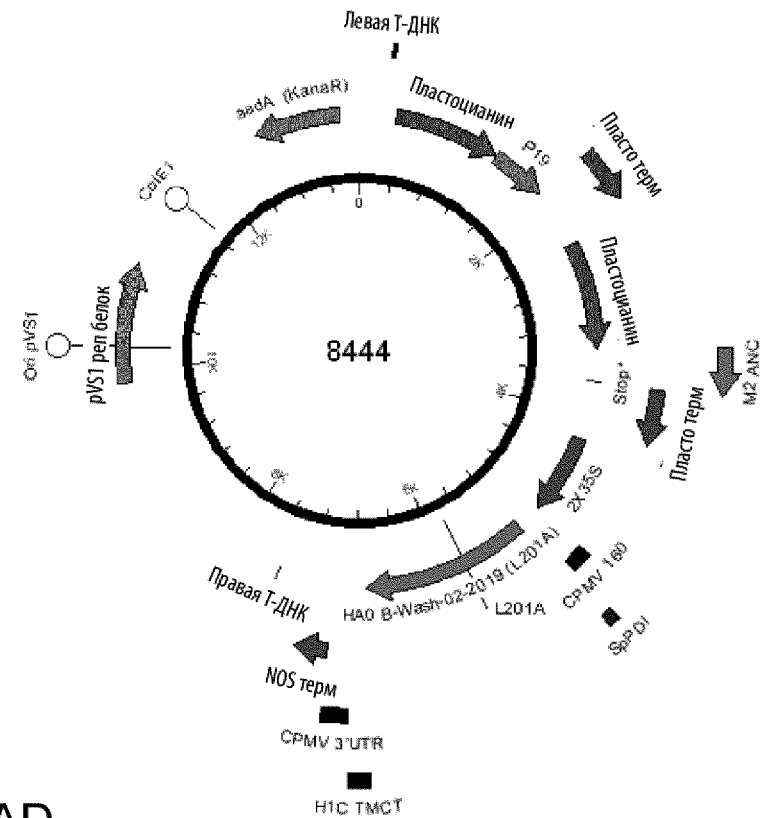
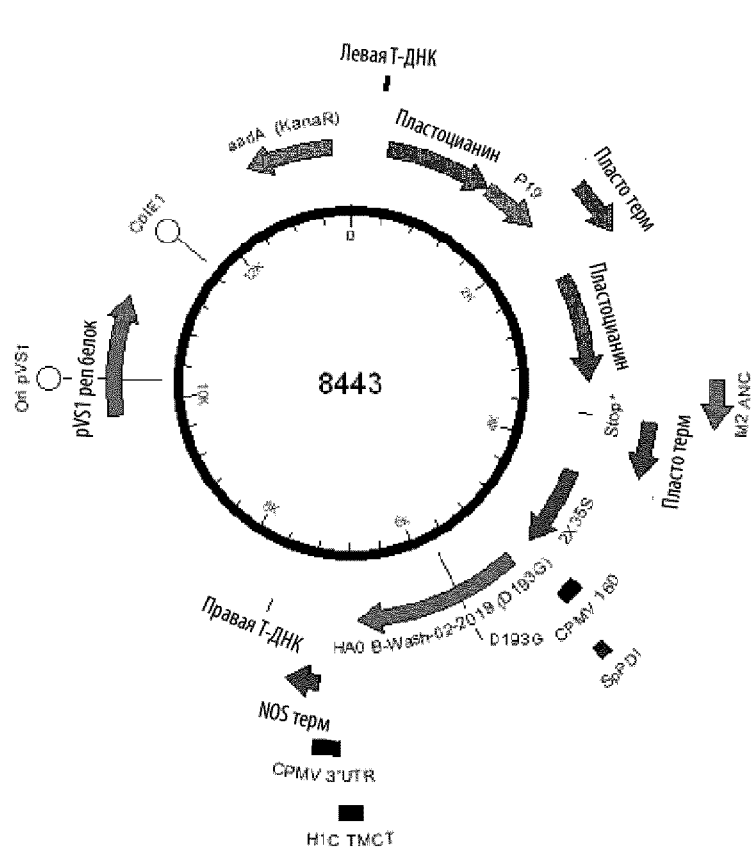
B Washington



Фиг. 12АС

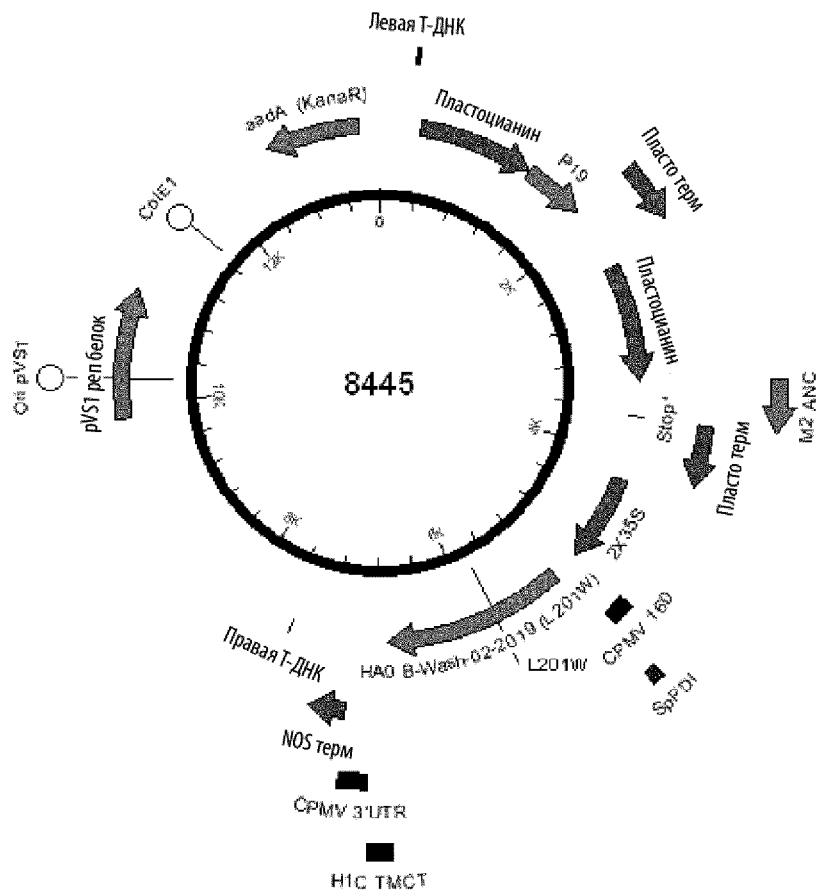


B Washington



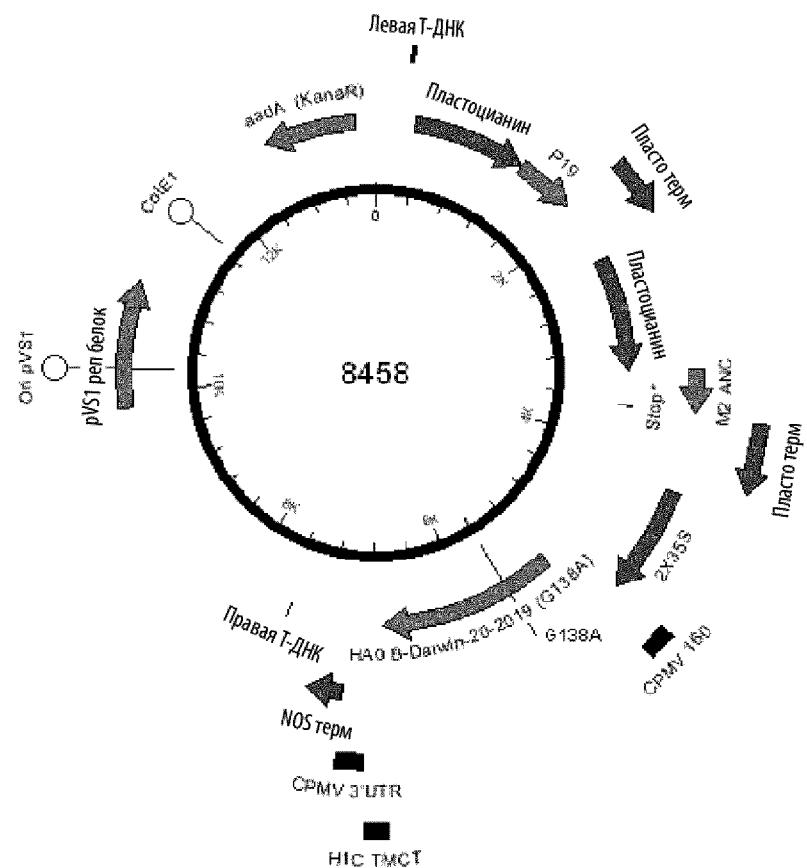
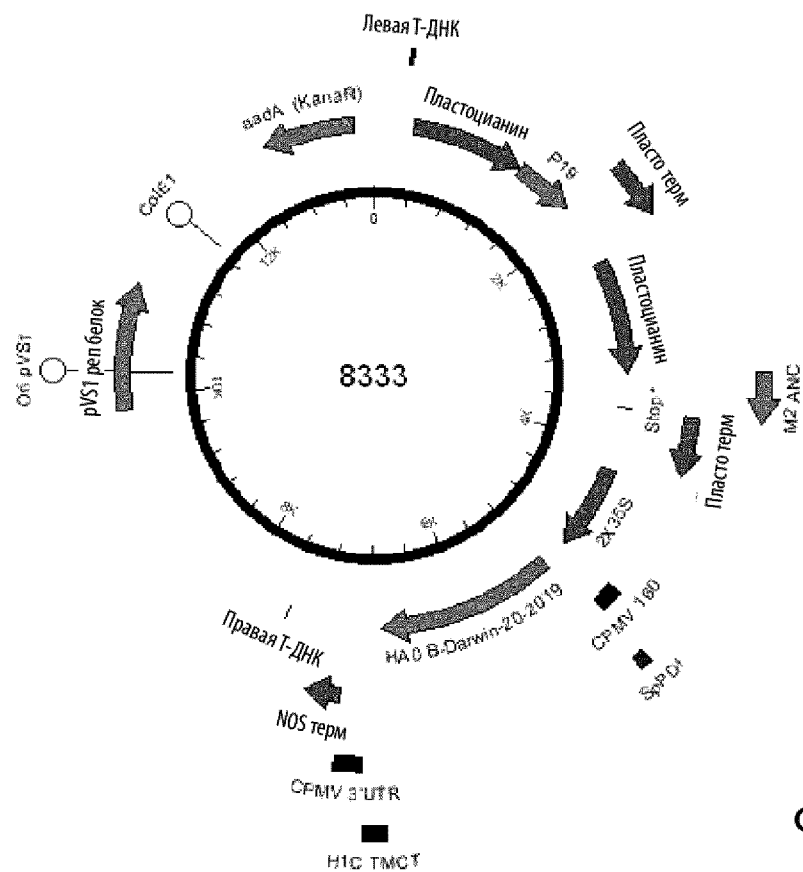
Фиг. 12AD

B Washington



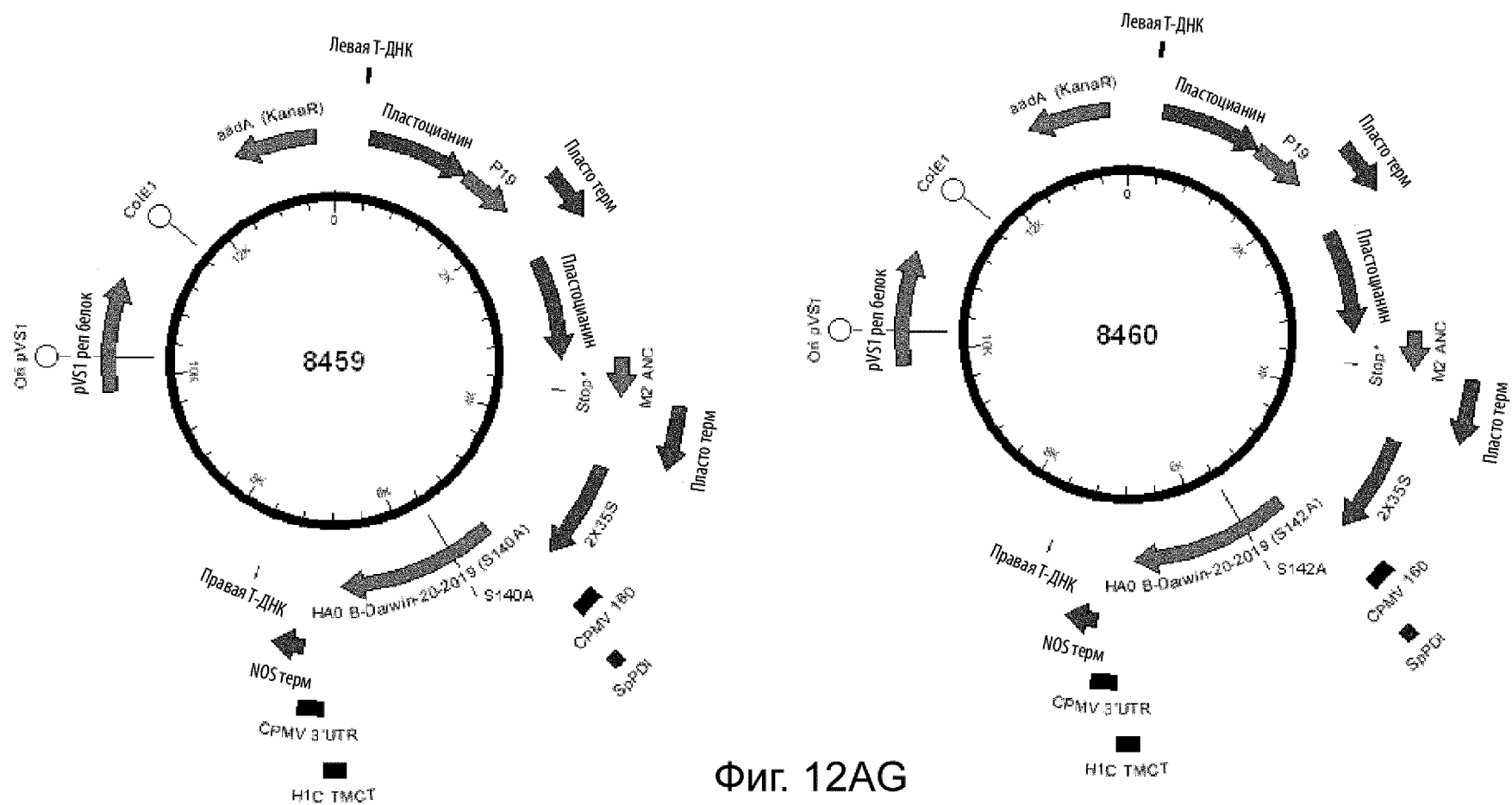
Фиг. 12АЕ

B Darwin

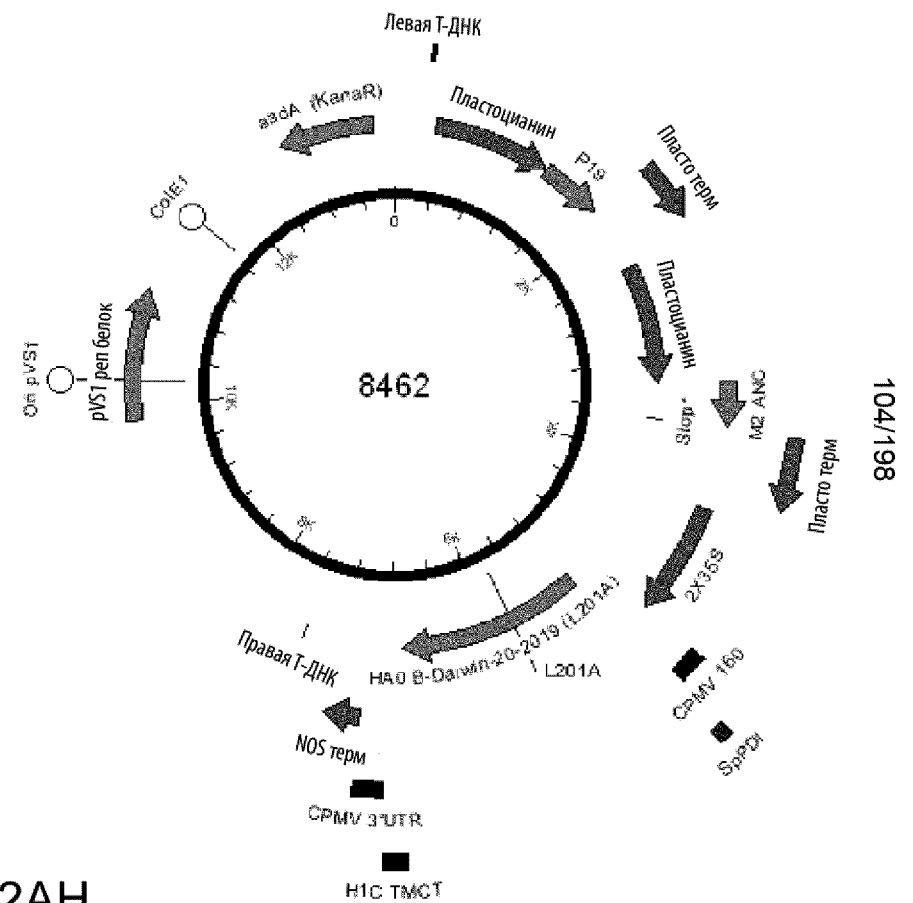
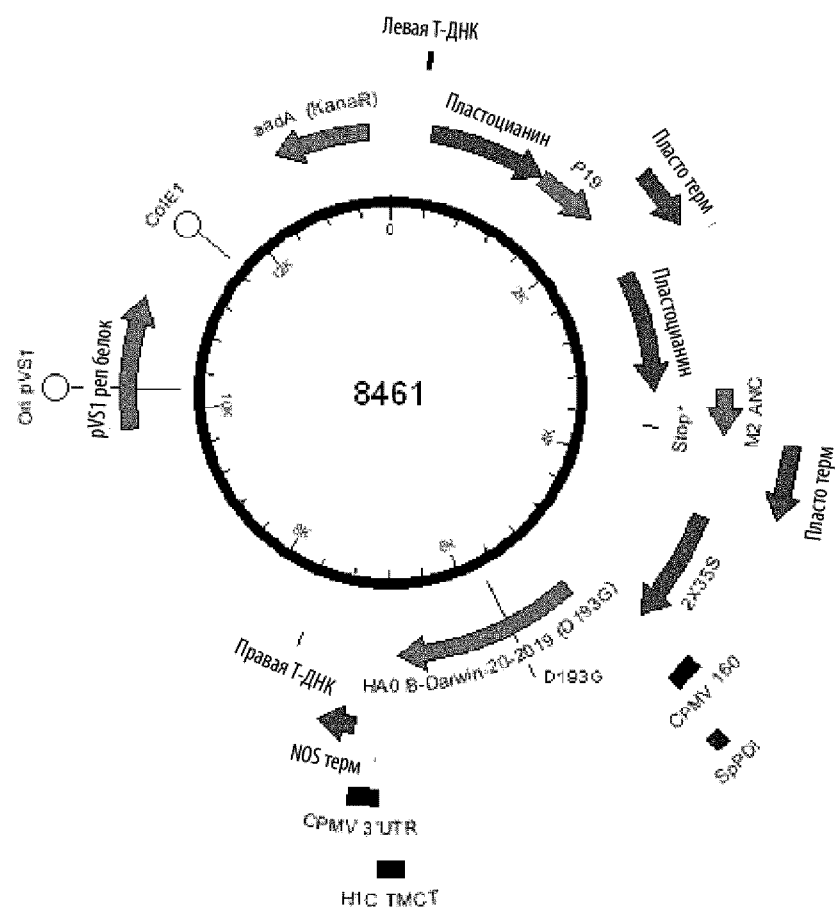


Фиг. 12АФ

B Darwin

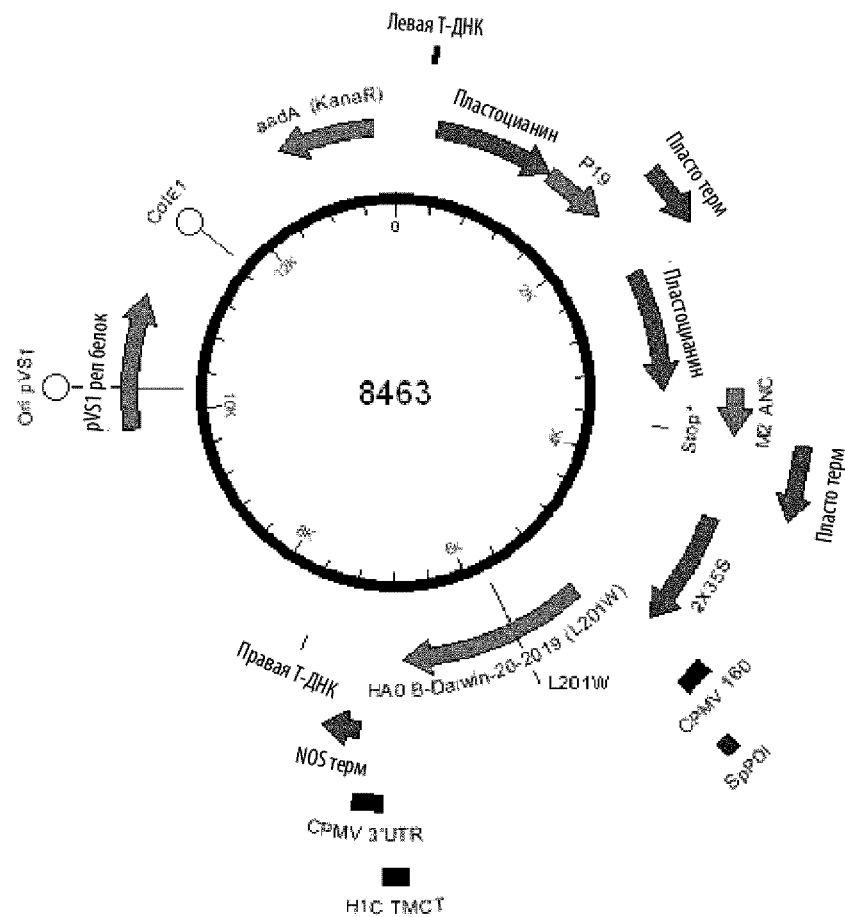


В Darwin



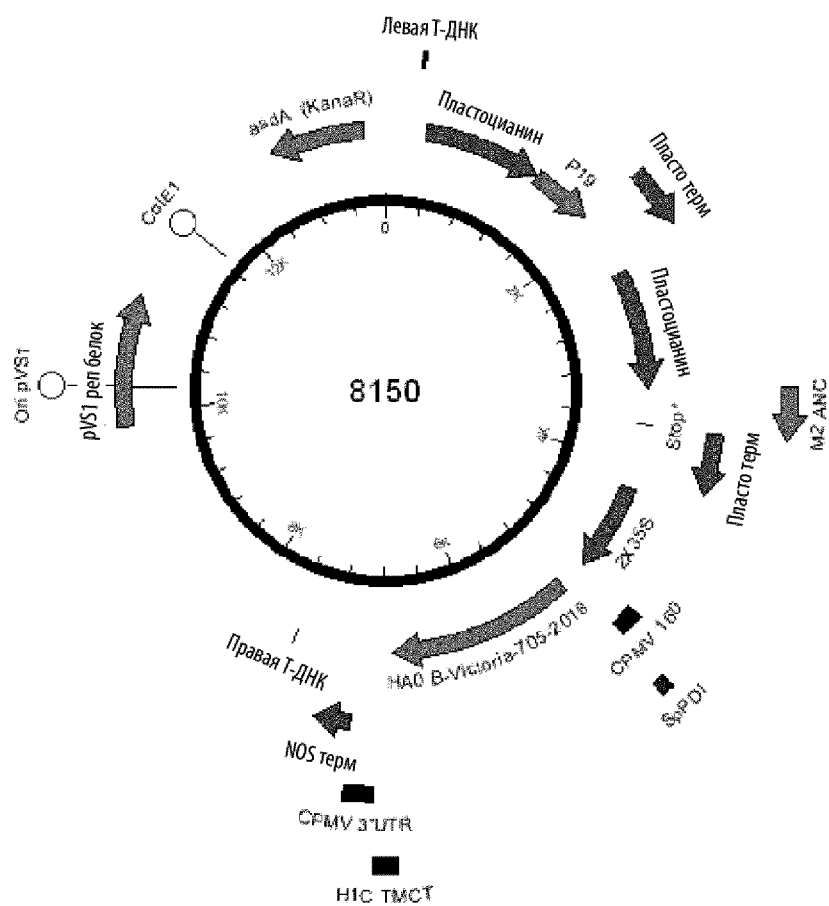
Фиг. 12АН

B Darwin

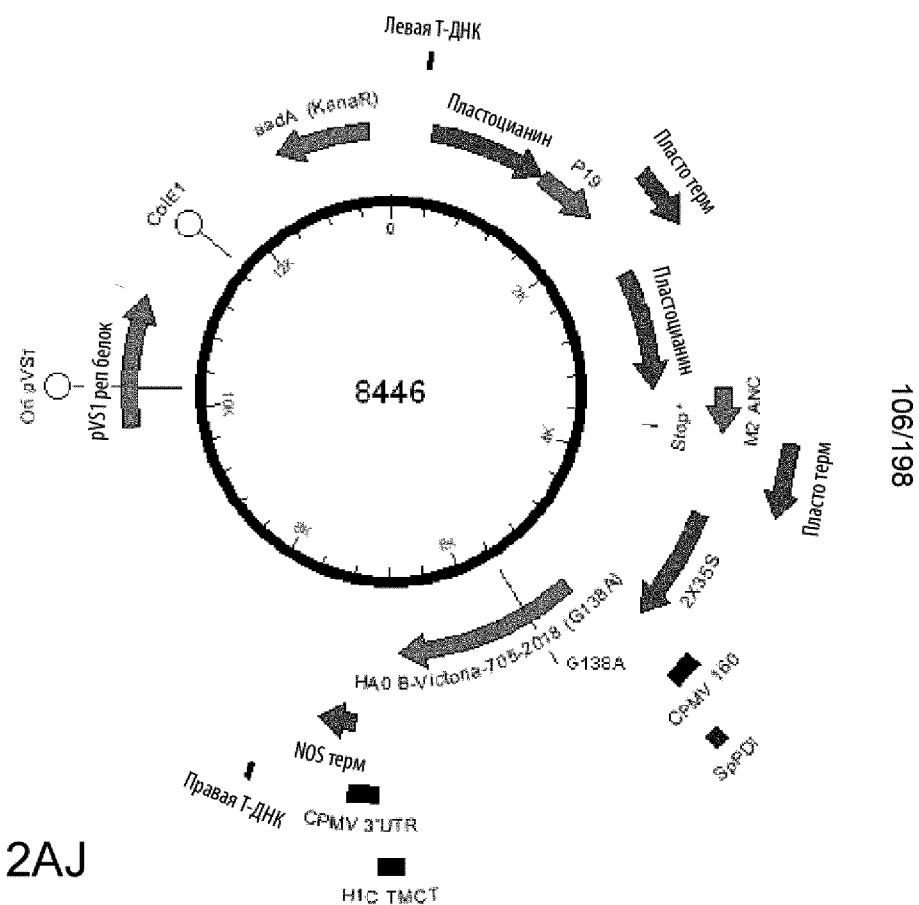


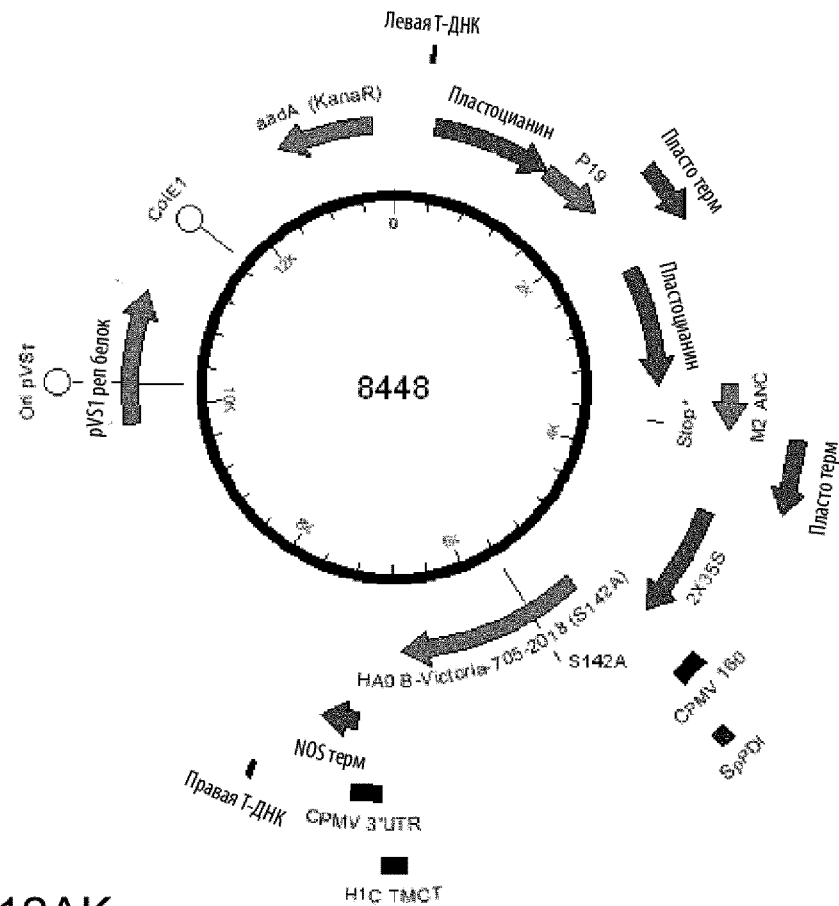
Фиг. 12AI

В Victoria



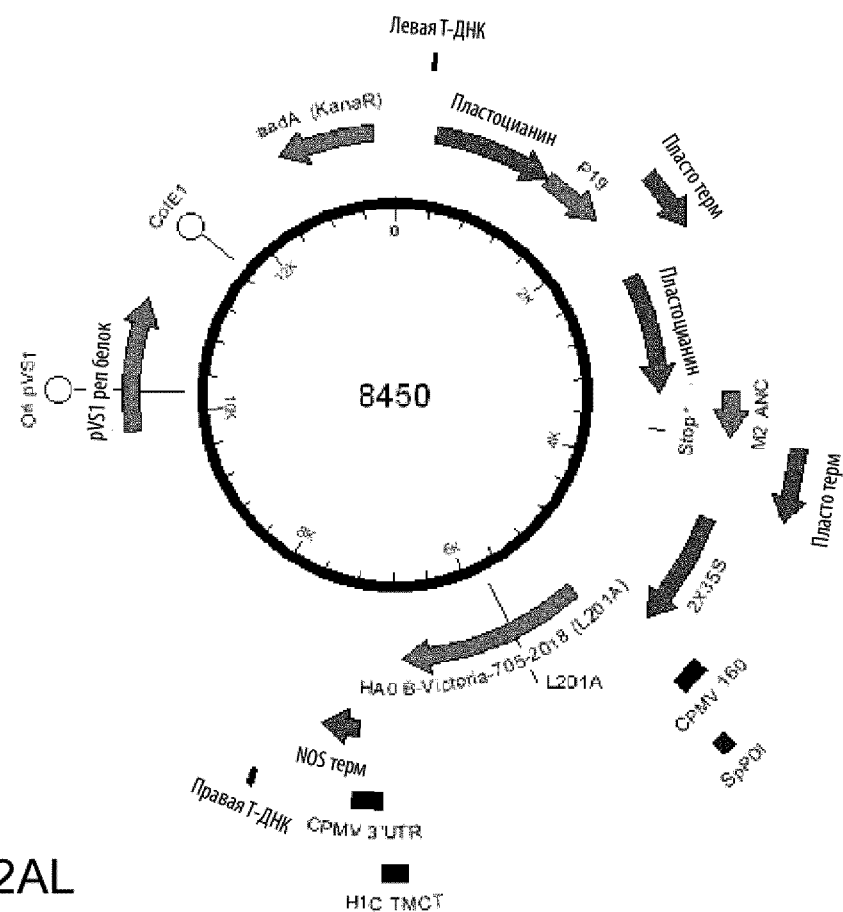
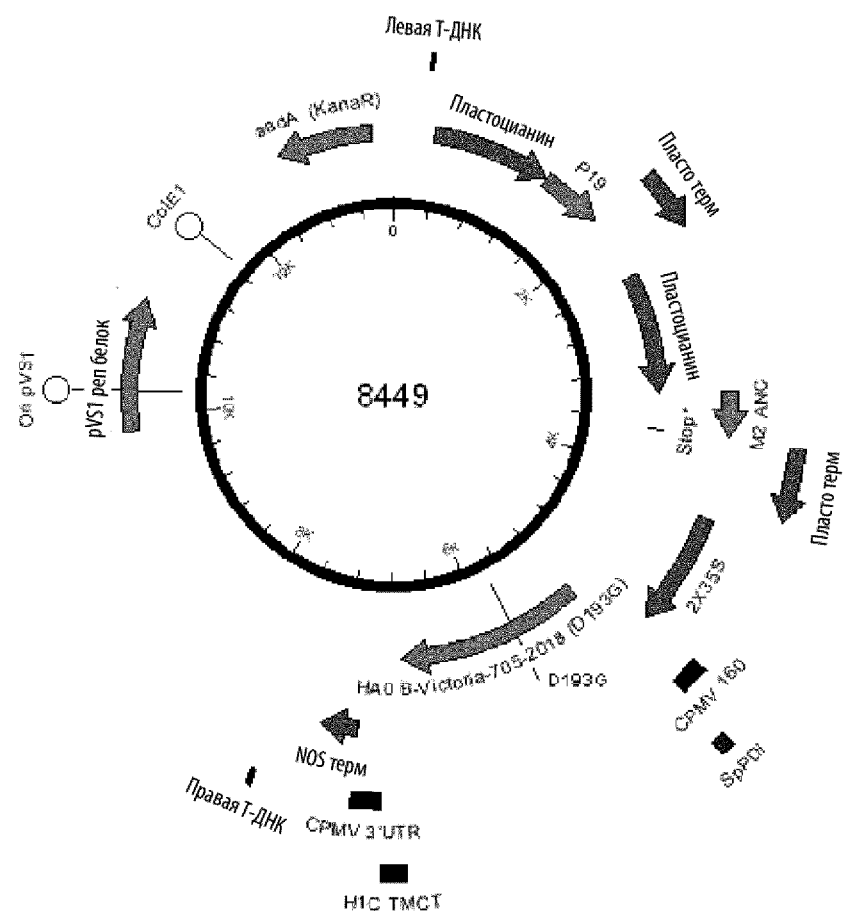
Фиг. 12AJ



[illegible]

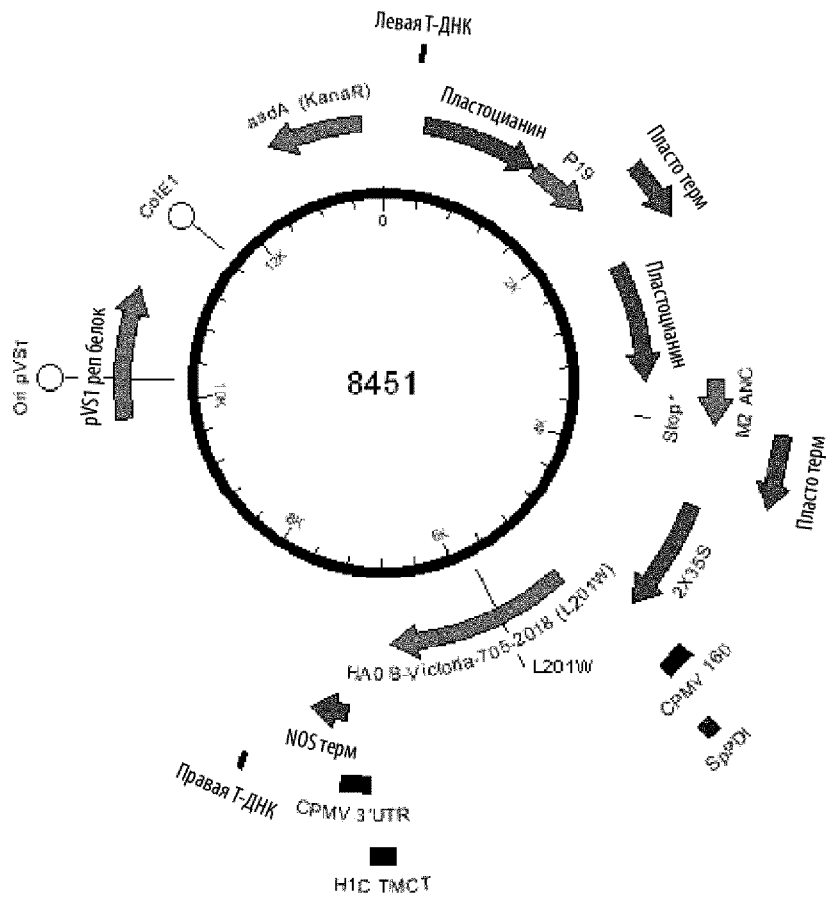
107/198

В Victoria



Фиг. 12AL

B Victoria



Фиг. 12AM

Фиг. 13А

PDI-H1 Cal ДНК (SEQ ID NO: 1)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CTGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAA
 TGTAAACAGTAACACACTCTGTAAACCTTCTAGAAGACAAGCATAACGGGAACTATGCAACTAAGAGGG
 GTAGCCCCATTGCAATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCAC
 TCTCCACAGCAAGCTCATGGTCTTACATTGTGGAACACCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGG
 AGATTTTCATCGATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTCAATTTGAAAGGTTTGAGATA
 TTCCCCAAGACAAGTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCATGCTG
 GAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAA
 ATCCTACATTAATGATAAAAGGGAAAGAAGTCCCTCGTGCTATGGGGCATTACCATCCATCTACTAGTGCT
 GACCAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATGCATATGTTTGTGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAAGT
 TCAAGCCGGAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAATGAACTATTACTGGACACT
 AGTAGAGCCGGGAGACAAAATAACATTGGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTGCGA
 ATGGAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTTCAGATACACCAGTCCACGATTGCAATACAACCTTGTC
 AAACACCCCAAGGGTGCTATAAACACCAGCCTCCCATTTTCAGAATATACATCCGATCACAATTGGAAAATG
 TCCAAAATATGTAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATTCAATCT
 AGAGGACTATTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACG
 GTTATCACCATCAAAATGAGCAGGGGTGAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAGAATGCCATTGA
 CGAGATTACTAACAAAGTAAATTTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTCACAGCAGTAGGTAAAGAG
 TTCAACCACCTGGAAAAAAGAATAGAGAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCCTGGACATTTGGA
 CTTACAATGCCGAAGTGTGGTTCTATTGGAAAATGAAAGAACTTTGGACTACCACGATTCAAATGTGAA
 GAACTTATATGAAAAGGTAAAGAAGCCAGCTAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGGCTGCTTTGAA
 TTTTACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACT
 CAGAGGAAGCAAAATTAAACAGAGAAGAAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGAT
 TTTGGCGATCTATTCAACTGTGCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGG
 ATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 13В

PDI-H1 Cal AA (SEQ ID NO: 2)

MAKNVAI FGLLFSLVLVPSQIFADTLCIGYHANNSTDFTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGLCKLARG
 VAPLHLGKCNIA GWILGNPECESLSTASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWL VKKGNSYPKLSKSYINDKGKEVLVLWGIHHPSTSA
 DQQSLYQNADAYV FVGSSRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAF
 MERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQTPKGAINSTLPEQNIHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNIPSIQS
 RGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKE
 FNLHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFE
 FYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISFW
 MCSNGSLQCRICI

Фиг. 13С

PDI-H1 Cal-Y91F ДНК (SEQ ID NO: 11)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CTGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAA
 TGTAACAGTAACACACTCTGTAAACCTTCTAGAAGACAAGCATAACGGGAACTATGCAAACTAAGAGGG
 GTAGCCCCATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCAC
 TCTCCACAGCAAGCTCATGGTCCTACATTGTGGAAACACCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTTCCCAGG
 AGATTTTCATCGATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTCATCATTTGAAAGGTTTGAGATA
 TTCCCCAAGACAAGTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCATGCTG
 GAGCAAAAAGCTTCTACAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAA
 ATCCTACATTAATGATAAAGGGAAAGAAGTCCTCGTGCTATGGGGCATTCAACCATCCATCTACTAGTGCT
 GACCAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATGCATATGTTTTTGTGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAAGT
 TCAAGCCGGAAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAATGAACTATTACTGGACACT
 AGTAGAGCCGGGAGACAAAATAACATTCGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTTCGCA
 ATGGAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTCAGATACACCAGTCCACGATTGCAATACAACCTTGTC
 AAACACCCAAGGGTGCTATAAACACCAGCCTCCCATTTTCAGAATATACATCCGATCACAATTGGAAAATG
 TCCAAAATATGTAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATTCAATCT
 AGAGGACTATTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACG
 GTTATCACCATCAAAATGAGCAGGGGTTCAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAGAATGCCATTGA
 CGAGATTACTAACAAAGTAAATTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTCACAGCAGTAGGTAAAGAG
 TTCAACCACCTGGAAAAAAGAATAGAGAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCTTGGACATTTGGA
 CTTACAATGCCGAAGTGTGGTTCTATTGGAAAATGAAAGAACTTTGGACTACCACGATTCAAATGTGAA
 GAACTTATATGAAAAGTAAGAAGCCAGCTAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGCTGCTTTGAA
 TTTTACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACT
 CAGAGGAAGCAAAATTAAACAGAGAAGAAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGAT
 TTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGG
 ATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 13D

PDI-H1 Cal-Y91F AA (SEQ ID NO: 12)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGLCKLARG
 VAPLHLGKCNIAGWILGNPECESLSTASSWSYIVETPSSDNGTCFPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWLVKKGNSYPKLSKSYINDKGKEVLVLWGIHHPSTSA
 DQQSLYQNADAYVVFVGSSRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYafa
 MERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQTPKGAINSTLSPFQNIHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNIPSIQS
 RGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSQYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFE
 FYHKCDNTCMESVKNGTIDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISFW
 MCSNGSLQCRICI

Фиг. 13Е

PDI-H1 Idaho ДНК (SEQ ID NO:100)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAA
 TGTAACAGTAACACACTCTGTAAACCTTCTGGAAGACAAGCATAACGGAAAACCTATGCAAACCTAAGAGGG
 GTAGCCCCATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCAC
 TCTCCACAGCAAGATCATGGTCCTACATTGTGGAACATCTAATTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGG
 AGATTTTCATCAATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTCATCATTTGAAAGGTTTGAGATA
 TTCCCCAAGACAAGTTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCACGCTG
 GAGCAAAAAGCTTCTACAAAACCTTGATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTTAACCA
 AACCTACATTAATGATAAAGGGAAGAAGTCCCTCGTGCTGTGGGGCATTCCACCATCCACCCACTACTGCT
 GACCAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATGCATATGTTTGTGGGGACATCAAGATACAGCAAGAAGT
 TCAAGCCGGAAATAGCAACAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAATGAACTATTACTGGACACT
 AGTAGAGCCGGGAGACAAAATAACATTCGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTCACA
 ATGGAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTTCAGATACACCAGTCCACGATTGCAATACAACCTTGTC
 AGACACCCGAGGGTGCTATAAACACCAGCCTCCCATTTTCAGAATGTGCATCCGATCACAATTGGAAAATG
 TCCAAAGTATGTAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATGTTCCGTCTATTCAATCT
 AGAGGCCTATTTCGGGGCCATTGCCGGCTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACG
 GTTATCACCATCAAAATGAGCAGGGGTCAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAAAATGCCATTGA
 CAAGATTACTAACAAAGTAAATTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGGACACAGCAGTGGGTAAAGAG
 TTCAACCACCTGGAAAAAAGAATAGAGAATCTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCCTGGACATTGGA
 CTTACAATGCCGAAGTGTGGTTCTAATGGAAAATGAAAGAACTTTGGACTATCACGATTCAAATGTGAA
 GAACTTGTATGAAAAAGTAAGAAACCAGTTAAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGCTGCTTTGAA
 TTTTACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACT
 CAGAGGAAGCAAAATTAAACAGAGAAAAAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGAT
 TTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGCAATCAGCTTCTGG
 ATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 13F

PDI-H1 Idaho AA (SEQ ID NO:101)

MAKNVAI FGLLFSLVLVPSQIFADTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLCKLRG
 VAPLHLGKCNIA GWILGNPECESLSTARSWSYIVETSNSDNGTCYPGDFINYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWLVKKGNSYPKLNQTYINDKGKEVLVLWGIHHPPTTA
 DQQSLYQNADAYVFVGTSRYSKKFKPEIATRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFT
 MERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQTPEGAINSTLFPQNVHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNVPSIQS
 RGLFGAIA GFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADLKSTQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQDTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLMENERTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGCFE
 FYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISFW
 MCSNGSLQCRICI

Фиг. 13G

PDI-H1 Idaho-Y91F ДНК (SEQ ID NO:104)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAA
 TGTAACAGTAACACACTCTGTTAACCTTCTGGAAGACAAGCATAACGGAAAACATGCAAACTAAGAGGG
 GTAGCCCCATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCAC
 TCTCCACAGCAAGATCATGGTCCTACATTGTGGAACATCTAATTGAGACAATGGAACGTGTTTCCCAGG
 AGATTTTCATCAATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTGCATCATTTGAAAGGTTTGAGATA
 TTCCCCAAGACAAGTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCACGCTG
 GAGCAAAAAGCTTCTACAAAACCTTGATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTTAACCA
 AACCTACATTAATGATAAAGGGAAGAAGTCCTCGTGCTGTGGGGCATTCCACCATCCACCCACTACTGCT
 GACCAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATGCATATGTTTTTGTGGGGACATCAAGATACAGCAAGAAGT
 TCAAGCCGGAATAGCAACAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAATGAACTATTACTGGACACT
 AGTAGAGCCGGGAGACAAAATAACATTCGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTCACA
 ATGGAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTTCAGATACACCAGTCCACGATTGCAATACAACCTTGTC
 AGACACCCGAGGGTGCTATAAACACCAGCCTCCCATTTTCAGAATGTGCATCCGATCACAATTGGAAAATG
 TCCAAAGTATGTAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATGTTCCGTCTATTCAATCT
 AGAGGCCTATTCGGGGCCATTGCCGGCTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACG
 GTTATCACCATCAAAATGAGCAGGGGTCAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAAAATGCCATTGA
 CAAGATTACTAACAAAGTAAATTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGGACACAGCAGTGGGTAAAGAG
 TTCAACCACCTGGAAAAAAGAATAGAGAATCTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCCTGGACATTTGGA
 CTTACAATGCCGAACCTGTTGGTTCTAATGGAAAATGAAAGAACTTTGGACTATCACGATTCAAATGTGAA
 GAACTTGATGAAAAAGTAAGAAACCAGTTAAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGCTGCTTTGAA
 TTTTACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACT
 CAGAGGAAGCAAAATTAAACAGAGAAAAAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGAT
 TTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGG
 ATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 13H

PDI-H1 Idaho-Y91F AA (SEQ ID NO: 105)

MAKNVAI FGLLFSLVLVPSQIFADTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLCKLRG
 VAPLHLGKCNIA GWILGNPECESLSTARSWSYIVETSNSDNGTCFPGDFINYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWLVKKGNSYPKLNQTYINDKGKEVLVLWGIHHPTTA
 DQQSLYQNADAYV FVGTSRYSKKFKPEIATR PKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFT
 MERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQTPEGAIN TSLPFQNVHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNVPSIQS
 RGLFGAIA GFI EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADLKSTQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQDTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLMENERTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGCFE
 FYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVSVSLGAISFW
 MCSNGSLQCRICI

Фиг. 13I

PDI-H1 Brisbane ДНК (SEQ ID NO: 194)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggacacattatgtataggttatcatgcgaacaattcaacagacactgtagacacagtactagaaaagaa
 tgtaacagtaacacactctgttaaccttctggaagacaagcataacggaaaactatgcaaactaggcggg
 gtagccccattgcatttggtgaaatgtaacattgctggctggatcctgggaaatccagagtgtgaatcac
 tctccacagcaagatcatggtcctacattgtggaacatctaattcagacaatggaacgtgttaccagg
 agatttcatcaattatgaggagctaagagagcaattgagctcagtgatcatcatttgaaaggtttgagata
 tccccaaagacaagttcatggcccaatcatgactcgaacaaaggtgtaacggcagcatgtcctcacgctg
 gagcaaaaagcttctacaaaaacttgatatggctaggttaaaaaaggaaattcatacccaaagcttaacca
 aacctacattaatgataaagggaagaagtcctcgctgtgtggggcattcaccatccaccactactgct
 gaccaacaaagtctctatcagaatgcagatgcataatgttttctgtggggacatcaagatacagcaagaag
 tcaagccggaaatagcaacaagacccaaagtgagggatcaagaaggagaatgaactattactggacact
 agtagagccgggagacaaaaataacattcgaagcaactggaatctagtgggtaccgagatatgcattcaca
 atggaaagaatgctggatctggtattatcatttcagatacaccagtcacgattgcaatacaacttgctc
 agacagccgaggggtgctataaacaccagcctcccatttcagaatgtgcatccgggtgacaattggaaaatg
 tccaaagtatgtaaaaagcacaaaattgagactggccacaggattgaggaatgttccgtctattcaatct
 agaggectattcggggccattgcccgttcattgaaggggggtggacagggatggtagatggatggtagc
 gttatcaccatcaaaatgagcaggggtcaggatatgcagccgacctgaagagcacacaaaatgccattga
 caagattactaacaagtaaatctgttattgaaaagatgaatacacaggacacagcagtgggtaagag
 ttcaaccacctggaaaaaagaatagagaatctaaataaaaaagttgatgatgggttctctggacatttgg
 cttacaatgccgaactgttggttctaatggaaaatgaaagaactttggactatcacgattcaaatgtgaa
 gaacttgtagtaaaaaagtaagaaaccagttaaaaaacaatgccaaggaaattggaaacggctgctttgaa
 ttttaccacaaatgcgataacacgtgcatggaaagtgtcaaaaatgggacttatgactacccaaaatact
 cagaggaagcaaaattaaacagagaaaaaatagatggggtaaaagctggaatcaacaaggatttaccagat
 tttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctcctgggggcaatcagcttctgg
 atgtgctctaatgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 13J

PDI-H1 Brisbane AA (SEQ ID NO: 195)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLCKLGG
 VAPLHLGKCNIAWILGNPECESLSTARSWSYIVETSNSDNGTCYPGDFINYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWLVKKGNSYPKLNQTYINDKGKEVLVLWGIHHPTTA
 DQQSLYQNADAYVFVGTSRYSKKFKPEIATRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYFT
 MERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQTAEGAINSLPFQNVHPVTIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNVPSIQS
 RGLFGAIAAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADLKSTQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQDTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLMENERTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGCFE
 FYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVSVSLGAISFW
 MCSNGSLQCRICI

Фиг. 13K

PDI-H1 Brisbane Y98F ДНК (SEQ ID NO: 196)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggacacattatgtataggttatcatgcgaacaattcaacagacactgtagacacagtactagaaaagaa
 tgtaacagtaacacactctgttaaccttctggaagacaagcataacggaaaactatgcaaactaggcggg
 gtagccccattgcatttggttaaatgtaacattgctggctggatcctgggaaatccagagtgtgaatcac
 tctccacagcaagatcatggtcctacattgtggaaacatctaattcagacaatggaacgtgtttcccagg
 agatttcatcaattatgaggagctaagagagcaattgagctcagtgatcatttgaaagggttgagata
 ttccccaaagacaagttcatggcccaatcatgactcgaacaaagggtgtaacggcagcatgtcctcacgctg
 gagcaaaaagcttctacaaaaacttgatatggctaggttaaaaaaggaaattcatacccaaagcttaacca
 aacctacattaatgataaagggaagaagtccctcgctgtgtggggcattcaccatccaccactactgct
 gaccaacaaagtctctatcagaatgcagatgcataatgtttttgtggggacatcaagatacagcaagaagt
 tcaagccggaaatagcaacaagacccaaagtgagggatcaagaaggagaatgaactattactggacact
 agtagagccgggagacaaaaataacattcgaagcaactggaaatctagtgggtaccgagatatgcattcaca
 atggaaagaaatgctggatctgggtattatcatttcagatacaccagtcacgattgcaatacaacttgct
 agacagccgaggggtgctataaacaccagcctcccatttcagaatgtgcatccggtgacaattggaaaatg
 tccaaagtatgtaaaaagcacaaaattgagactggccacaggattgaggaatgttccgtctattcaatct
 agaggcctattcggggccattgccggcttcattgaaggggggtggacagggatggtagatggatggtagc
 gttatcaccatcaaaatgagcaggggtcaggatatgcagccgacctgaagagcacacaaaatgccattga
 caagattactaacaagtaaatctgttattgaaaagatgaatacacaggacacagcagtgggtaagag
 ttcaaccacctggaaaaaagaatagagaatctaaataaaaaagttgatgatgggttctctggacatttggg
 cttacaatgccgaactgttggttctaatggaaaatgaaagaactttggactatcacgattcaaatgtgaa
 gaacttgtagtaaaaagtaagaaaccagttaaaaaacaatgccaaggaaattggaaacggctgctttgaa
 ttttaccacaaatgcgataacacgtgcatggaaagtgtcaaaaatgggacttatgactacccaaaatact
 cagaggaagcaaaattaaacagagaaaaaatagatggggtaaagctggaatcaacaaggatttaccagat
 tttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagcttctgg
 atgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 13L

PDI-H1 Brisbane Y98F AA (SEQ ID NO: 197)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKLCKLGG
 VAPLHLGKCNIAGWILGNPECESLSTARSWSYIVETSNSDNGTCFFGDFINYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKTSSWPNHDSNKGVTAACPHAGAKSFYKNLIWLVKKGNSYPKLNQTYINDKGKEVLVLWGIHHPTTA
 DQQSLYQNADAYVFVGTSRYSKKFKPEIATRPFKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFT
 MERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQTAEGAINSTLFPQNVHPVTIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNVPSIQS
 RGLFGAIAAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADLKSTQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQDTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLMENERTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGCFE
 FYHKCDNTCMESVKNGTIDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVSVSLGAISFW
 MCSNGSLQCRICI

Фиг. 14А

PDI-H3 Kan ДНК (SEQ ID NO:60)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAATAAGAAATGGGACCTTTTTTGTGTAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCCTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAAACGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAGAAGCC
 AACAAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCAACATACAAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14В

PDI-H3 Kan AA (SEQ ID NO: 61)

MAKNVAI FGLLF SLLVLVPSQIF AQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNE SFNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRISIIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFECTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMG SIRNGTYDHNVRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14С

PDI-H3 Kan-Y98F ДНК (SEQ ID NO: 64)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAAACGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAAACTGTTTGAAAAACAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAAGTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCCCTTGCCATATCATCCCTTGTAAGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14D

PDI-H3 Kan-Y98F AA (SEQ ID NO: 65)

MAKNVAIFGLLFSLLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNEFNNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRIISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFECTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RN GTYDHN VYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14Е

PDI-H3 Kan-Y98F, S136D ДНК (SEQ ID NO: 68)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTTGTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAGACTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACCGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14F

PDI-H3 Kan- Y98F, S136D AA (SEQ ID NO: 69)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERNKAYSNCFFPDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNESEFNWAGVTQNGTDSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRSISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFEKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RNGTYDHNVRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14G

PDI-H3 Kan- Y98F, S136N ДНК (SEQ ID NO: 72)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACGACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGAAAACAAGC
 CTACAGCAACTGTTTTCCCTTATGATGTGCCGATTATGCCTCCCTTAGGTCAGTGTGCCTCATCCGGC
 AACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAACTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAAACGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCCACCACCCGGT
 ACGGACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCC
 AACAAAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTGAGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCTGGAGAACCAACATACAAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTAAGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14H

PDI-H3 Kan- Y98F, S136N AA (SEQ ID NO: 73)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNEFNNWAGVTQNGTNSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRI SIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTSEMKNLFEKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14I

PDI-H3 Kan- Y98F, S137N ДНК (SEQ ID NO: 76)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTTGTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTAACTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACCGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTAAGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14J

PDI-H3 Kan- Y98F, S137N AA (SEQ ID NO: 77)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERNKAYSNCFFPDVDPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNESEFNWAGVTQNGTSNSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRSISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFEKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSVLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14K

PDI-H3 Kan- Y98F, D190G ДНК (SEQ ID NO: 80)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAATCCCTGGAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAATAAGAAATGGGACCTTTTGTGTTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCAGTGTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGGCCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCC
 AACAAAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAATAACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTAACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAAGTAGAAGGGAGAATTGAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGTCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAAGTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTGTACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14L

PDI-H3 Kan- Y98F, D190G AA (SEQ ID NO: 81)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFEVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNEFNVAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKGQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRIISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14М

PDI-H3 Kan- Y98F, D190K ДНК (SEQ ID NO: 84)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTTGTGTAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACCGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGAAGCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATCCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTGAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACCGCGGAGCTTCTTGTGTCCTTGAGAGAACCAACATACAAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAAGTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14N

PDI-H3 Kan- Y98F, D190K AA (SEQ ID NO: 85)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTTITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFEVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNESEFNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKKQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRSISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNORITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFEKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14О

PDI-H3 Kan- Y98F, R222W ДНК (SEQ ID NO: 88)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACCGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCTGGATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTGAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGTCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAAGTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTAAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14Р

PDI-H3 Kan- Y98F, R222W AA (SEQ ID NO: 89)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFEVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNESEFNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPWIRDIPSRSISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14Q

PDI-H3 Kan- Y98F, S228N ДНК (SEQ ID NO: 92)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACCGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAACAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATCCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTGAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACCGCGGAGCTTCTTGTGTCCTGGAGAACCAACATACAAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAAGTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14R

PDI-H3 Kan- Y98F, S228N AA (SEQ ID NO: 93)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTTITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFEVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNESEFNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPNRISIIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFECTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14S

PDI-H3 Kan- Y98F, S228Q ДНК (SEQ ID NO: 96)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGCAAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGG
 AACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCC
 TCAATAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTC
 TATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGAAACAAAGC
 CTACAGCAACTGTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGC
 ACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCA
 TAAGGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGC
 ATTAACCGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGT
 ACGGACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCC
 AACAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTCAGAGAATAAGCATCTA
 TTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGT
 TACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTG
 AATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAATGTAAACAGGATCACATACGG
 GGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGA
 CAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTT
 GGTACGGCTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGC
 AATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAA
 AAAGAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTGAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATC
 TCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGTCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGA
 AATGAACAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGT
 TTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAAGTTATGACCACAACG
 TATACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGA
 TTGGATCCTATGGATTTCTTTGCCATATCATCCCTTGTACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATG
 TGGGCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGA

Фиг. 14T

PDI-H3 Kan- Y98F, S228Q AA (SEQ ID NO: 97)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFEVERNKAYSNCFPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNESEFNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPQRISIIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSI RNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14U

PDI-H3 Kan-S136D ДНК (SEQ ID NO: 111)

atggcgaaaaacggttgcgatcccccggttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
aacgatagtgaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
tcaataggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
tattgggagaccctcagtgatggctttcaaaataagaaatgggacctttttgttgaacgaaacaaagc
ctacagcaactgttacccttatgatgtgcccggattatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
acactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcactcaaaacggaacagactcttcttgca
taaggggatctaagagtagtttcttttagtagattaaattgggtgaccttaaaactccaaatacccagc
attaaacgtgactatgccaaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttgggggggttcaccacccgggt
acggacaaggaccaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctacaaaaagaagcc
aacaagctgtaatcccgaatatcggtatctagaccacagaataagggtatccctagcagaataagcatcta
ttggacaatagtaaaacccgggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctaggggt
tacttcaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcaccattggcaaatgcaagtctg
aatgcatactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaaatgtaaacaggatcacatacgg
ggcctgtcccagatatgttaagcaaagcactctgaaattggcaacagggaatgcgaaatgtaccagagaga
caaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatggttgggagggaatgggtggatgggt
ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
aagaattctcagaagtagaagggagaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
tctgggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaatacataattgatctaactgactcaga
aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgagggaaaatgctgaggatattgggcaatggttgt
ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
tatacagggatgaagcattaacaaccgggttcagatcaaggagttgagctgaagtcagggtacaaaga
ttggatcctatggatttctttgccatatcatcccttgactgttagttgctttgttgggggttcatcatg
tgggcctgccaaaagggaacattaggtgcaacatttgcatttga

Фиг. 14V

PDI-H3 Kan-S136D AA (SEQ ID NO: 112)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
TLEFNNESEFNWAGVTQNGTDSSCIRGSKSSFFSRLNLWLHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRSISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFEKTKQLRENAEDMGNGC
FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14W

PDI-H3 Kan-S136N ДНК (SEQ ID NO: 113)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
 aacgatagtgaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
 tcaataggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
 tattgggagaccctcagtgatggctttcaaaataagaaatgggacctttttgttgaacgaaacaaagc
 ctacagcaactgttacccttatgatgtgcccggattatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
 aactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcaactcaaaacgggaacaaactcttcttgca
 taaggggatctaagagtagtttcttttagtagattaaattgggttgaccacttaaactccaaataccagc
 attaaacgtgactatgccaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttgggggggttcaccaccgggt
 acggacaaggaccaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctaccaaagaagcc
 aacaagctgtaatcccgaatatcggtatctagaccagaataagggatatccctagcagaataagcatcta
 ttggacaatagtaaaacggggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctaggggt
 tacttcaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcaccattggcaaatgcaagtctg
 aatgcatcactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaaatgtaaacaggatcacatacgg
 ggctgtcccagatatgttaagcaaagcactctgaaattggcaacagggaatgcgaaatgtaccagagaga
 caaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatggttgggagggaatggtggatggtt
 ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
 aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
 aaagaattctcagaagtagaagggagaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
 tctggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaacatacaattgatctaactgactcaga
 aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgagggaaaatgctgaggatattgggcaatggttgt
 ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
 tatacagggatgaagcattaacaaccggttccagatcaaggagttgagctgaagtcagggtacaaaga
 ttggatcctatggatttcttttcccatatcatcccttgtagttgctttgttgggggttcatcatg
 tgggcctgccaaaagggaacattaggtgcaacatttgcatttga

Фиг. 14X

PDI-H3 Kan-S136N AA (SEQ ID NO: 114)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNEFVWAGVTQNGTNSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRSIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNORITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFHRHQNSEGRQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFEKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14Y

PDI-H3 Kan-D190K ДНК (SEQ ID NO: 115)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattggtttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
 aacgatagtgaaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
 tcaataggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
 tattgggagaccctcagtgatggcgttttcaaaataagaaatgggaccttttgttgaaacgaaacaaagc
 ctacagcaactgttacccttatgatgtgcccgttatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
 aactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcactcaaaacggaacaagttcttcttgca
 taaggggatctaagagtagtttctttagtagattaaattggttgaccacttaaactccaaataccagc
 attaaacgtgactatgccaaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttgggggggttcaccaccgggt
 acggacaagaagcaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctacaaaagaagcc
 aacaagctgtaatcccgaatatcggatctagaccagaataagggatatccctagcagaataagcatcta
 ttggacaatagtaaaacccgggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctaggggt
 tacttcaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcaccattggcaaatgcaagtctg
 aatgcatcactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaatgtaaacaggatcacatacgg
 ggctgtcccagatatgttaagcaaagcactctgaaattggcaacaggaatgcgaaatgtaccagagaga
 caaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatggttgggaggaatggtggatggtt
 ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
 aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
 aaagaattctcagaagtagaaggaggaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
 tctggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaacatacaattgatctaactgactcaga
 aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgagggaaaatgctgaggatatgggcaatggttgt
 ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
 tatacagggatgaagcattaaacaaccgggtccagatcaaggagttgagctgaagtcagggtacaaaga
 ttggatcctatggatttcttccatcatcccttgactgttagttgctttgttgggggttcacatcatg
 tgggcctgccaaaagggaacattaggtgcaacatttgcaattga

Фиг. 14Z

PDI-H3 Kan-D190K AA (SEQ ID NO: 116)

MAKNVAIFGLLEFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
 SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
 TLEFNNEFNNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNLWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
 TDKKQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPSRIISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
 YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
 KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFKTKKQLRENAEDMGNGC
 FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
 WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14АА

PDI-H3 Kan-R222W ДНК (SEQ ID NO: 117)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
aacgatagtgaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
tcaatagggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
tattgggagaccctcagtgatggctttcaaaataagaaatgggaccttttgttgaaacgaaacaaagc
ctacagcaactgttaccccttatgatgtgcccggattatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
acactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcactcaaaacggaacaagttcttcttgca
taaggggatctaagagtagtttcttttagtagattaaattgggttgacctacttaaactccaaataccagc
attaaacgtgactatgccaaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttgggggggttcaccaccgggt
acggacaaggaccaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctacaaaagaagcc
aacaagctgtaatcccgaatatcggtctagaccctggataagggatatccctagcagaataagcatcta
ttggacaatagtaaaaccgggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctaggggt
tacttcaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcacccattggcaaatgcaagtctg
aatgcatcactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaaatgtaaacaggatcacatacgg
ggcctgtcccagatatgttaagcaaaagcactctgaaattggcaacaggaatgcgaaatgtaccagagaga
caaaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatgggttgggaggaatggtggatgggt
ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
aaagaattctcagaagtagaagggagaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
tctgggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaacatacaattgatctaactgactcaga
aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgaggggaaaatgctgaggatatgggcaatgggtgt
ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
tatacagggatgaagcattaaacaaccgggtccagatcaagggagttgagctgaagtcaagggtacaaaga
ttggatcctatggatttcttttgccatatcatcccttgtagttgctttgttgggggttcacatcatg
tgggcctgccaacagggaacattaggtgcaacatttgcatattga

Фиг. 14АВ

PDI-H3 Kan-R222W AA (SEQ ID NO: 118)

MAKNVAIFGLLESLLVLPVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
TLEFNNEFNFNAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPWIRDIPSRISIIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFEKTKKQLRENAEDMGNGC
FKIYHKCDNACMGSIIRNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14AC

PDI-H3 Kan-S228N ДНК (SEQ ID NO: 119)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
aacgatagtgaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
tcaataggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
tattgggagaccctcagtgatggctttcaaaataagaaatgggacctttttgttgaaacgaaacaaagc
ctacagcaactgttaccccttatgatgtgccgattatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
acactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcactcaaaacggaacaagttcttcttgca
taaggggatctaagagtagtttcttttagtagattaaattgggtgaccacttaaaactccaaataccagc
attaaacgtgactatgccaaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttgggggggttcaccaccgggt
acggacaaggaccaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctacaaaagaagcc
aacaagctgtaatcccgaatatcggatctagaccacagaataagggatattccctaacagaataagcatcta
ttggacaatagtaaaacccgggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctaggggt
tacttcaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcaccatttggaatgcaagctctg
aatgcatcactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaaatgtaaacaggatcacatacgg
ggcctgtcccagatatgttaagcaaagcactctgaaattggcaacagggaatgcgaaatgtaccagagaga
caaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatggttgggagggaatggtggatggtt
ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
aagaattctcagaagtagaagggagaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
tctggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaacatacaattgatctaactgactcaga
aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgagggaaaatgctgaggatattgggcaatggttgt
ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
tatacagggatgaagcattaaacaaccggttcagatcaagggagttgagctgaagttaggttacaaaga
ttggatcctatggatttcccttgccatatcatcccttgtagttgcttgggttgggggttcacatg
tggcctgccaagggaacattaggtgcaacatttgcatttga

Фиг. 14AD

PDI-H3 Kan-S228N AA (SEQ ID NO: 120)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTTITNDRIEVTNATELVQNS
SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
TLEFNNESEFNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPNRISYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
YFKIRSGKSSIMRSDAFIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNORITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFEKTKQLRENAEDMGNGC
FKIYHKCDNACMGSIKNGTYDHNVRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
WACQKGNIRCNICI

Фиг. 14АЕ

PDI-H3 Kan-S228Q ДНК (SEQ ID NO: 121)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattggtttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
aacgatagtgaaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
tcaataggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
tattgggagaccctcagtgatggcgttttcaaaataagaaatgggaccttttgttgaaacgaaacaaagc
ctacagcaactgttaccttatgatgtgcccgttatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
acactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcactcaaaacggaacaagttcttcttgca
taaggggatctaagagtagtttctttagtagattaaattggttgaccacttaaactccaaataccagc
attaaacgtgactatgccaaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttgggggggttcaccaccgggt
acggacaaggaccaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctacaaaagaagcc
aacaagctgtaatcccgaatatcggatctagaccagaataagggatatccctcagagaataagcatcta
ttggacaatagtaaaacccgggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctagggt
tacttcaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcaccattggcaaatgcaagtctg
aatgcatcactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaatgtaaacaggatcacatacgg
ggcctgtcccagatatgttaagcaaagcactctgaaattggcaacaggaatgcgaaatgtaccagagaga
caaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatggttgggaggaatggtggatggtt
ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
aaagaattctcagaagtagaagggaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
tctggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaacatacaattgatctaactgactcaga
aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgagggaatgctgaggatatgggcaatggttgt
ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
tatacagggatgaagcattaaacaaccgggtccagatcaaggagttgagctgaagtcagggtacaaaga
ttggatcctatggatttcctttgccatatcatccctgtactgttagttgctttgttgggttcacatg
tgggcctgccaaaagggaacattaggtgcaacatttgcatttga

Фиг. 14АF

PDI-H3 Kan-S228Q AA (SEQ ID NO: 122)

MAKNVAIFGLLEFSLVLVPSQIFAQKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIITNDRIEVTNATELVQNS
SIGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKWDLFVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSG
TLEFNNEFNNWAGVTQNGTSSSCIRGSKSSFFSRLNLWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPG
TDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGSRPRIRDIPQRISIIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRG
YFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLARVIGKTNEKFHQIE
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFKTKKQLRENAEDMGNGC
FKIYHKCDNACMGSI RNNGTYDHNVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISSLVLLVALLGFIM
WACQKGNIRCNICI

Фиг. 15А

PDI-H7 Shan ДНК (SEQ ID NO: 20)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGACAAAATCTGCCTCGGACATCATGCCGTGTCAAACGGAACCAAAGTAAACACATTAAGTAAAGAGG
 AGTGGAAGTCGTCAATGCAACTGAAACAGTGGAACGAACAAACATCCCCAGGATCTGCTCAAAAGGGAAA
 AGGACAGTTGACCTCGGTCAATGTGGACTCCTGGGGACAATCACTGGACCACCTCAATGTGACCAATTCC
 TAGAATTTTCAGCCGATTTAATTATTGAGAGGCGAGAAGGAAGTGATGTCTGTTATCCTGGGAAATTCGT
 GAATGAAGAAGCTCTGAGGCAAATTCTCAGAGAATCAGGCGGAATTGACAAGGAAGCAATGGGATTACACA
 TACAGTGGAATAAGAACTAATGGAGCAACCAAGTGCATGTAGGAGATCAGGATCTTCATTCTATGCAGAAA
 TGAAATGGCTCCTGTCAAACACAGATAATGCTGCATTCCCGCAGATGACTAAGTCATATAAAAAATACAAG
 AAAAAGCCCAGCTCTAATAGTATGGGGGATCCATCATTCGGTATCAACTGCAGAGCAAACCAAGCTATAT
 GGGAGTGGAACAAACTGGTGACAGTTGGGAGTTCTAATTATCAACAATCTTTTGTACCGAGTCCAGGAG
 CGAGACCACAAGTTAATGGTCTGTCTGGAAGAATTGACTTTCATTGGCTAATGCTAAATCCCAATGATAC
 AGTCACTTTCAGTTTCAATGGGGCTTTCATAGCTCCAGACCGTGCAAGCTTCCTGAGAGGAAAATCTATG
 GGAATCCAGAGTGAGTACAGGTTGATGCCAATTGTGAAGGGGACTGCTATCATAGTGGAGGGACAATAA
 TAAGTAACTTGCCATTTTCAGAACATAGATAGCAGGGCAGTTGGAAAATGTCCGAGATATGTTAAGCAAAG
 GAGTCTGCTGCTAGCAACAGGGATGAAGAATGTTCTGAGATTCCAAAGGGAAGAGGCCTATTTGGTGCT
 ATAGCGGGTTTCATTGAAAATGGATGGGAAGGCCTAATTGATGGTTGGTATGGTTTCAGACACCAGAATG
 CACAGGGAGAGGGAAGTCTGCAGATTACAAAAGCACTCAATCGGCAATTGATCAAATAACAGGAAAATT
 AAACCGGCTTATAGAAAAAACCAACCAACAATTTGAGTTGATCGACAATGAATTCATGAGGTAGAGAAG
 CAAATCGGTAATGTGATAAATTGGACCAGAGATTCTATAACAGAAGTGTGGTCATACAATGCTGAACTCT
 TGGTAGCAATGGAGAACCAGCATAACAATTGATCTGGCTGATTGAGAAATGGACAACTGTACGAACGAGT
 GAAAAGACAGCTGAGAGAGAATGCTGAAGAAGATGGCACTGGTTGCTTTGAAATATTTACAAAGTGTGAT
 GATGACTGTATGGCCAGTATTAGAAATAACACCTATGATCACAGCAAATACAGGGAAGAGGCAATGCAAA
 ATAGAATACAGATTGACCCAGTCAAACCTAAGCAGCGGCTACAAAGATGTGATACTTTGGTTTAGCTTCGG
 GGCATCATGTTTCATACTTCTAGCCATTGTAATGGGCCTTGTCTTCATATGTGTAAAGAATGGAAACATG
 CGGTGCACTATTTGTATATAA

Фиг. 15В

PDI-H7 Shan AA (SEQ ID NO: 21)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADKICLGHHAVSNGTKVNTLTERGVEVVNATETVERTNIPRICSKGK
 RTVDLGQCGLLGTITGPPQCDQFLEFSADLIIERREGSDVCYPGKFVNEEALRQILRESGGIDKEAMGFT
 YSGIRTNGATSACRRSGSSFYAEMKWLLSNTDNAAFPMQTKSYKNTRKSPALIVWGIHHSVSTAEQTKLY
 GSGNKLVTVGSSNYQQSFVPSPGARPQVNGLSGRIDFWHLMLNPNDVTFTSFNGAFIAPDRASFLRGKSM
 GIQSGVQVDANCEGDCYHSGGTIISNLPFQNIIDSRVKGCPRYVKQRSLLLATGMKNVPEIPKGRGLFGA
 IAGFIENGWEGLIDGWYGFRHQNAQEGGTAADYKSTQSAIDQITGKLNRLIEKTNQQFELIDNEFNEVEK
 QIGNVINWTRDSITEVWSYNAELLVAMENQHTIDLADSEMDKLYERVKRQLRENAEEDGTGCFEIFHKCD
 DDCMASIRNNTYDHSKYREEAMQNRIQIDPVKLSSGYKDVILWFSFGASCFILLAIVMGLVFICVKNGNM
 RCTICI

Фиг. 15C

PDI-H7 Shan-Y88F ДНК (SEQ ID NO: 25)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGACAAAATCTGCCTCGGACATCATGCCGTGTCAAACGGAACCAAAGTAAACACATTAACCTGAAAGAGG
 AGTGGAAGTCGTCAATGCAACTGAAACAGTGGAACGAACAAACATCCCCAGGATCTGCTCAAAAGGGAAA
 AGGACAGTTGACCTCGGTCAATGTGGACTCCTGGGGACAATCACTGGACCACCTCAATGTGACCAATTCC
 TAGAATTTTTCAGCCGATTTAATTATTGAGAGGCGAGAAGGAAGTGATGTCTGTTTCCCTGGGAAATTCGT
 GAATGAAGAAGCTCTGAGGCAAATTCTCAGAGAATCAGGCGGAATTGACAAGGAAGCAATGGGATTACACA
 TACAGTGGAATAAGAACTAATGGAGCAACCAGTGCATGTAGGAGATCAGGATCTTCATTCTATGCAGAAA
 TGAATGGCTCCTGTCAAACACAGATAATGCTGCATTCCCGCAGATGACTAAGTCATATAAAAATACAAG
 AAAAAGCCCAGCTCTAATAGTATGGGGGATCCATCATTCCGTATCAACTGCAGAGCAAACCAAGCTATAT
 GGGAGTGGAAACAAACTGGTGACAGTTGGGAGTTCTAATTATCAACAATCTTTTGTACCGAGTCCAGGAG
 CGAGACCACAAGTTAATGGTCTGTCTGGAAGAATTGACTTTCATTGGCTAATGCTAAATCCCATGATAC
 AGTCACTTTCAGTTTCAATGGGGCTTTCATAGCTCCAGACCGTGCAAGCTTCCTGAGAGGAAAATCTATG
 GGAATCCAGAGTGGAGTACAGGTTGATGCCAATTGTGAAGGGGACTGCTATCATAGTGGAGGGACAATAA
 TAAGTAACTTGCCATTTTCAGAACATAGATAGCAGGGCAGTTGGAAAATGTCCGAGATATGTTAAGCAAAG
 GAGTCTGCTGCTAGCAACAGGGATGAAGAATGTTCTGAGATTCCAAAGGGAAGAGGCCTATTTGGTGCT
 ATAGCGGGTTTCATTGAAAATGGATGGGAAGGCCTAATTGATGGTTGGTATGGTTTCAGACACCAGAATG
 CACAGGGAGAGGGAACTGCTGCAGATTACAAAAGCACTCAATCGGCAATTGATCAAATAACAGGAAAATT
 AAACCGGCTTATAGAAAAAACCAACCAACAATTTGAGTTGATCGACAATGAATTCAATGAGGTAGAGAAG
 CAAATCGGTAAATGTGATAAATTGGACCAGAGATTCTATAACAGAAGTGTGGTCATACAATGCTGAACTCT
 TGGTAGCAATGGAGAACCAGCATACAATTGATCTGGCTGATTGAGAAATGGACAAACTGTACGAACGAGT
 GAAAAGACAGCTGAGAGAGAATGCTGAAGAAGATGGCACTGGTTGCTTTGAAATATTTTACAAGTGTGAT
 GATGACTGTATGGCCAGTATTAGAAATAACACCTATGATCACAGCAAATACAGGGAAGAGGCAATGCAAA
 ATAGAATACAGATTGACCCAGTCAAACCTAAGCAGCGGCTACAAAGATGTGATACTTTGGTTTAGCTTCGG
 GGCATCATGTTTCATACTTCTAGCCATTGTAATGGGCCTTGTCTTCATATGTGTAAAGAATGGAAACATG
 CGGTGCACTATTTGTATATAA

Фиг. 15D

PDI-H7 Shan-Y88F AA (SEQ ID NO: 26)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADKICLGHHAVSNGTKVNTLTERGVEVVNATETVERTNIPRICSKGK
 RTVDLGQCGLLGITITGPPQCDQFLEFSADLIERREGSDVCFPGKFVNEEALRQILRESGGIDKEAMGFT
 YSGIRTNGATSACRRSGSSFYAEMKWLLSNTDNAAFPQMTKSYKNTRKSPALIVWGIHHSVSTAEQTKLY
 GSGNKLVTVGSSNYQQSFVPSPGARPQVNLGSLGRIDFHWLMLNPNDTVTFSFNGAFIAPDRASFLRGKSM
 GIQSGVQVDANCEGDCYHSGGTIIISNLPFQNIIDSRVKGCPRYVKQRSLLLATGMKNVPEIPKGRGLFGA
 IAGFIENGWEGLIDGWYGFRHQNAQGEGTAADYKSTQSAIDQITGKLNRLIEKTNQQFELIDNEFNEVEK
 QIGNVINWTRDSITEVWSYNAELLVAMENQHTIDLADSEMDKLYERVKRQLRENAEEDGTGCFEIFHKCD
 DDCMASIRNNTYDHSKYREEAMQNRIQIDPVKLSSGYKDVILWFSFGASCFILLAIVMGLVFICVKNNGM
 RCTICI

Фиг. 15Е

PDI-H5 Indo ДНК (SEQ ID NO: 198)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattggtttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 ccgatcagattttgcatgtgttaccatgcaaacaattcaacagagcaggttgacacaatcatggaaaagaa
 cgttactgttacacatgccccagacatactggaaaagacacacaacgggaagctctgcgatctagatgga
 gtgaagcctctaattttaagagattgtagtgtagctggatggctcctcggaacccaatgtgtgacgaat
 tcatcaatgtaccggaatggtcttacatagtgagagaaggccaatccaaccaatgacctctgttaccagg
 gagtttcaacgactatgaagaactgaaacacctattgagcagaataaaccattttgagaaaattcaaattc
 atccccaaaagtctcttggtccgatcatgaagcctcatcaggagtttagctcagcatgtccatacctgggaa
 gtccctccttttttagaaatgtggtatggcttatcaaaaagaacagtacatacccaacaataaagaaaag
 ctacaataataccaaccaagaggatcttttggtactgtggggaattcaccatcctaataatgatgcggcagag
 cagacaaggctatatcaaaacccaaccacctatatttccattgggacatcaacactaaaccagagattgg
 taccaaaaatagctactagatccaaagtaaaccgggcaaagtggaggatggagttcttctggacaatttt
 aaaacctaataatgatgcaatcaacttcgagagtaatggaaatttcattgctccagaatatgcatacaaaatt
 gtcaagaaaggggactcagcaattatgaaaagtgaattggaatatggtaactgcaacaccaagtgtcaaa
 ctccaatgggggcgataaaactctagtatgccattccacaacatacacctctcaccatcggggaatgcc
 caaatatgtgaaatcaaacagattagtccttgcaacagggtcagaaatagccctcaaagagagagcaga
 agaaaaaagagaggactatttgagctatagcaggttttatagaggaggatggcagggaatggtagatg
 gttggtatgggtaccaccatagcaatgagcaggggagtggttacgctgcagacaaagaatccactcaaaa
 ggcaatagatggagtcaccaataagggtcaactcaatcattgacaaaatgaacactcagtttgaggccgtt
 ggaagggaatttaataacttagaaaggagaatagagaatttaaacagaagatggaagacgggtttctag
 atgtctggacttataatgccgaacttctggttctcatggaaaatgagagaactctagactttcatgactc
 aaatgttaagaacctctacgacaagggtccgactacagcttagggataatgcaaaggagctgggtaacggt
 tgtttcgagttctatcacaatgtgataatgaatgtatggaaagtataagaaacggaacgtacaactatc
 cgcagtattcagaagaagcaagattaaaaagagaggaaataagtggggtaaaattggaatcaataggaac
 ttaccaataactgtcaatttattcaacagtggcgagttccctagcactggcaatcatgatggctggtcta
 tctttatggatgtgctccaatggatcggttacaatgcagaatttgcatttaa

Фиг. 15F

PDI-H5 Indo AA (SEQ ID NO: 199)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTTHAQDILEKTHNGKLCDLDG
 VKPLILRDCSVAGWLLGNPMCEDEFINVPESYIIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLISRINHFEKIQI
 IPKSSWSDEASSGVSSACPYLGSPSFFRNVVWLIKKNSTYPTIKKSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAE
 QTRLYQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKI
 VKKGDSAIMKSELEYGNCNTKQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSRLVLATGLRNSPQRESR
 RKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAV
 GREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNG
 CFEFYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSLALAIMMAGL
 SLWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 15G

IF-H5ITMCT.s1-4r (SEQ ID NO: 200)

actaaagaaaataggcctttaaatgcaaattctgcattgtaacgatccat

Фиг. 15H

PDI-H5 Indo-Y91F ДНК (SEQ ID NO: 201)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 ccgatcagatttgcatgttggttaccatgcaaacaattcaacagagcaggttgacacaatcatggaaaagaa
 cgttactgttacacatgcccaagacatactggaaaagacacacaacgggaagctctgcgatctagatgga
 gtgaagcctctaattttaagagattgtagtgtagctggatggctcctcggaacccaatgtgtgacgaat
 tcatcaatgtaccggaatgggtcttacatagtgaggagaaggccaatccaaccaatgacctctgtttccagg
 gagtttcaacgactatgaagaactgaaacacctattgagcagaataaaccattttgagaaaattcaaatac
 atcccaaaaagttcttggtccgatcatgaagcctcatcaggagtttagctcagcatgtccatacctgggaa
 gtccctccttttttagaaatgtggtatggcttatcaaaaagaacagtacatacccaacaataaagaaaag
 ctacaataataccaaccaagaggatcttttggtactgtggggaattcaccatcctaataatgatgcggcagag
 cagacaaggctatatcaaaaaccaaccacctataattccattgggacatcaacactaaaccagagattgg
 taccaaaaatagctactagatccaaagtaaacggggcaagtgggaaggatggagttcttctggacaatttt
 aaaacctaatgatgcaatcaacttcgagagtaatggaaaatttcattgctccagaatatgcatacaaaaatt
 gtcaagaaaggggactcagcaattatgaaaagtgaattggaatatggtaactgcaacaccaagtgtcaaa
 ctccaatgggggcgataaactctagtatgccattccacaacatacacccctctcaccatcgggggaatgcc
 caaatatgtgaaatcaaacagattagtccttgcaacagggtcagaaaatagccctcaaagagagagcaga
 agaaaaaagagaggactatttgagctatagcagggttttatagaggaggatggcaggggaatggtagatg
 gttggtatgggtaccaccatagcaatgagcaggggagtgggtagctgcagacaaagaatccactcaaaa
 ggcaatagatggagtcaccaataagggtcaactcaatcattgacaaaatgaacactcagtttgaggccgtt
 ggaagggaatttaataacttagaaaggagaatagagaatttaaacagaagaatggaagacgggtttctag
 atgtctggacttataatgccgaacttctggttctcatggaaaatgagagaactctagactttcatgactc
 aatgttaagaacctctacgacaagggtccgactacagcttagggataatgcaaaggagctgggtaacggt
 tgtttcgagttctatcacaaatgtgataatgaatgtatggaaagtataagaaacggaacgtacaactatc
 cgcagtattcagaagaagcaagattaaaaagagaggaaataagtggggtaaaattggaatcaataggaac
 ttaccaataactgtcaatttattcaacagtggcgagttccctagcactggcaatcatgatggctggtcta
 tctttatggatgtgctccaatggatcggttacaatgcagaatttgcatttaa

Фиг. 15I

PDI-H5 Indo-Y91F AA (SEQ ID NO: 202)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDLDG
 VKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPESYIVEKANPTNDLCFFGSGFNDYEELKHLISRINHFEKIQI
 IPKSSWSDEASSGVSSACPYLGSPSFRRNVVWLIKKNSTYPTIKKSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAE
 QTRLYQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKI
 VKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSRLVATGLRNSPQRESR
 RKKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAV
 GREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNG
 CFEFYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSLALAIMMAGL
 SLWMCNSGSLQCRICI

Фиг. 16А

PDI-B Phu (Pri-) ДНК (SEQ ID NO: 27)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCCCGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTGAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTTCTATAATGCACGACAGAACAATAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCT
 CAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTACTGTTTGGGGGTTCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGGAGGACTACCACAAAAGCGGCAGAAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGAGCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAAATAAGATAACAAAAAATCTCAATTCCTTGAGTGAAGTAGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAAGTTGCACTTGTCTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAAAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCAATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16В

PDI-B Phu (Pri-) AA (SEQ ID NO: 28)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGGLNKS KPYT GKHAKAIGNCPIWVK T
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16C

PDI-B Phu (S140A, PrI-) ДНК (SEQ ID NO: 32)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGGAAACTATGCCCGGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTCAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTCCCTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCG
 CCGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTAATGTTTGGGGGTTCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGAGCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAAATAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAACTTGCACTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCAATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16D

PDI-B Phu (S140A, PrI-) AA (SEQ ID NO: 33)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMCVGTTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTAGSCPNATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEEYGGLNKSHPYYTGKHAKAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDGDLNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMCNSGSLQCRICI

Фиг. 16Е

PDI-B Phu (S142A, PrI-) ДНК (SEQ ID NO: 36)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCCCGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTCTAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAATAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCT
 CAGGAGCCTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTAATGTTTTGGGGGTTCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGAGCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAAATAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAACTTGCACTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTGCGCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16F

PDI-B Phu (S142A, PrI-) AA (SEQ ID NO: 37)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGACPNATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRIVVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEEYGGLNKSHPYYTGKHAKAIGNCPIWVK
 PLKLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDGDLNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16G

PDI-B Phu (G138A, Prl-) ДНК (SEQ ID NO: 40)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGAAACTATGCCCCGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTCAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTTCTTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCTACAGACTTGCCACCT
 CAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTACTGTTTGGGGGTTCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGC GCGAGTGGCAGGAGCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAAATAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAACTTGCACTTGTCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16H

PDI-B Phu (G138A, Prl-) AA (SEQ ID NO: 41)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDL DVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTS GCFPI MHDR TKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLATSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGG LNKSKPYT GKHA KAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDR IAAGT FNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMCSNGLQCRICI

Фиг. 16I

PDI-B Phu (L203A, Pri-) ДНК (SEQ ID NO: 44)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTTCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCCCGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTCAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTTCCCTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCT
 CAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTACTGTTTGGGGGTTCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCGCCTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGC GCGAGTGGCAGGAGCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAATAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAACTTGAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCAATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16J

PDI-B Phu (L203A, Pri-) AA (SEQ ID NO: 45)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPCDCLNCTDLVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTS GCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMK SAYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRIVVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGG LNKSKPYT GKHAKAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSLGAI
 SFWMCSNGLQCRICI

Фиг. 16K

PDI-B Phu (D195G, Pri-) ДНК (SEQ ID NO: 48)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTGGTTCCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGAAACTATGCCCCGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTCAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCT
 CAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTACTGTTTTGGGGGTTCCATTTCGGGCAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGACCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAAATAAGATAACAAAAAATCTCAATCTTTGAGTGAAGTAGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAACTTGCACTTGTCTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCAATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16L

PDI-B Phu (D195G, Pri-) AA (SEQ ID NO: 49)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMCVGTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSGNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRIVVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLFPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEEYGGNLNKS KPYYTGKHAKAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLK KMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16М

PDI-B Phu (L203W, Pri-) ДНК (SEQ ID NO: 52)

ATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCCTTCTCAGATCTTCG
 CGGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTATTTTGCAAATCTCAAAGGA
 ACAAGGACCAGAGGGAAACTATGCCCGGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGC
 CAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTCAGACCTGTTACATCCGG
 GTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACA AAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAG
 ATCAGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCT
 CAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTGCACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGA
 CAACTACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAA
 ATTACTGTTTGGGGGTTCCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCTGGTATGGAGACTCAAATCCTC
 AAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCA
 AACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAA
 ACAGGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGAGCA
 AAGTAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAA
 CAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACA
 CCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTT
 GGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGC
 TATAAATAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGT
 GGTGCCATGGATGAAGTCCACAACGAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACA
 CTATAAGCTCACAAATAGAACTTGCAGTCTTGCTTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGACGAGCA
 TCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGC
 TTCGAAACCAAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAG
 AATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATC
 AGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAA

Фиг. 16N

PDI-B Phu (L203W, Pri-) AA (SEQ ID NO: 53)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDL DVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSWYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRIVVDYMMQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSLEPLIGEADCLHEEYGGLNKSKPYTGKHAKAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSVLGAI
 SFWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16O

PDI-B Sing (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:123)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
cgcaaaaaatccctggaaatgacaatagcacggcaacgctgtgccttgggcaccatgcagtaccaaacgg
aacgatagtgaaaacaatcacgaatgaccgaattgaagttactaatgctactgagctgggttcagaattcc
tcaataggtgaaatatgcgacagtcctcatcagatccttgatggagaaaactgcacactaatagatgctc
tattgggagaccctcagtgatggcctttcaaaataagaaatgggacctttttgttgaacgaaacaaagc
ctacagcaactgttacccttatgatgtgcccggattatgcctcccttaggtcactagttgcctcatccggc
acactggagtttaacaatgaaagcttcaattgggctggagtcaactcaaacggaacagactcttcttgca
taaggggatctaagagtagtttcttttagtagattaaattgggttgaccttaaaactccaaataccagc
attaaacgtgactatgccaacaatgaacaatttgacaaattgtacatttggggggttcaccaccgggt
acggacaaggaccaaatcagcctgtatgcacaatcatcaggaagaatcacagtatctacaaaagaagcc
aacaagctgtaatcccgaatatcggtatcagaccagaataagggatatccctagcagaataagcatcta
ttggacaatagtaaaaacggggagacatacttttgattaacagcacagggaatctaattgctcctaggggt
tacttcaaaaatacgaagtgggaaaagctcaataatgagatcagatgcaccattggcaaatgcaagtctg
aatgcatcactccaaatggaagcattcccaatgacaaaccattccaaaatgtaaacaggatcacatacgg
ggcctgtcccagatatgttaagcaaagcactctgaaattggcaacagggaatgcgaaatgtaccagagaga
caaactagaggcatatttggcgcaatagcgggtttcatagaaaatggttgggagggaatggtggatggtt
ggtacggcttcaggcatcaaaattctgagggaagaggacaagcagcagatctcaaaagcactcaagcagc
aatcgatcaaatcaatgggaagctggctcgagttatcgggaaaaccaacgagaaattccatcagattgaa
aagaattctcagaagtagaagggagaattcaggaccttgagaaatatgttgaggacacaaaaatagatc
tctggtcatacaacgcggagcttcttgttgccctggagaaccaacatacaattgatctaactgactcaga
aatgaacaaactgtttgaaaaaacaagaagcaactgagggaaaatgctgaggatattgggcaatggttgt
ttcaaaatataccacaaatgtgacaatgcctgcatgggatcaatcagaaatggaacttatgaccacaacg
tatacagggatgaagcattaacaaccggttccagatcaagggagttgagctgaagtcagggtacaaaga
ttggatcctatggatttcttttcccatatcatcccttgtagttgctttgttgggggttcatcatg
tgggcctgccaaaagggaacattaggtgcaacatttgcatttga

Фиг. 16P

PDI-B Sing (Pri-) AA (SEQ ID NO:124)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
TRTRGKLCPLDCLNCTDLVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVRPVTS GCFPI MHDR TKIRQLPNLLRGYEK
IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDY MVQKPGK
TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGG LNKSKPYT GKHA KAIGNCPIWVKT
PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
GAMDELHNEILELDEKVDDL RADT ISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
FETKHKCNQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSLGAI
SFWMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16Q

PDI-B Sing-G138A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:125)

atggcgaaaaacggttgcgatcttctggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttctg
cggatcgaatctgcactgggataacatcttcaaactcacctcatgtggtcaaaacagctactcaagggga
ggtcaatgtgactggcgtgataccactgacaacaacaccaacaaaatcttattttgcaaactcctcaagga
acaaggaccagaggggaaactatgcccgactgtctcaactgtacagatctggatgtggccttgggcaggc
caatgtgtgtggggaccacaccttctgctaaagcttcaatactccatgaggtcagacctgttacatccgg
gtgctttcctataatgcacgacagaacaaaaatcaggcaactaccaatcttctcagaggatatgaaaag
atcagggttatcaacccaaaacggttatcgatgcagaaaaagcaccaggaggaccctacagacttgccacct
caggatcttgccctaacgctaccagtaaaatcggattttttgcaacaatggccttgggctgtcccaaagga
caactacaaaaatgcaacgaacccacaaacagtggaagtaccatacatttgtagagaaggggaagaccaa
attactgtttgggggttcattcgggataacaaaacccaaatgaagagcctctatgggagactcaaatcctc
aaaagttcacctcatctgctaattggagtaaccacgcattatgtttctcagattggcgacttcccagatca
aacagaagacggaggactaccacaaagcggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaacctgggaaa
acaggaacaattgtctatcaaaggggtgttttggtgctcaaaagggtgtggtgcgcgagtggtcaggagca
aagtaataaaagggtcattgcctttaattggtgaagcagattgccttcattgaagaatacgggtggattaaa
caaaagcaagccttactacacaggaaaacatgcaaaagccataggaaattgccaatatgggtaaaaaca
cctttgaagccttgccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggtt
ggcagcgatacacatctcacggagcacatggagtggtggtggtgcgcgagccttaagagtacacaagaagc
tataaataagataacaaaaaatctcaattctttgagtgaactagaagtaaagaaccttcaaagactaagt
ggtgccatggatgaactccacaacgaaatactcgagctggatgaaaaagtggatgatctcagagctgaca
ctataagctcacaaatagaacttgagctcttgctttccaacgaaggaataataaacagtgaagacgagca
tctattggcacttgagagaaaaactaaagaaaatgctgggtccctctgctgtagacataggaaacggatgc
ttcgaaaccaaacacaaatgcaaccagacctgcttagacaggatagctgctggcacctttaatgcaggag
aattttctctccccacttttgattcattgaacattactgctgcatctttaaatgatgatggattggataa
ctaccagattttgcgatctattcaactgtcgccagttcattggtagtctcctctgggggcaatc
agtttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16R

PDI-B Sing-G138A (Pri-) AA (SEQ ID NO:126)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSYFANLKG
TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTPSAKASILHEVRPVTS GCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEK
IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLATSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDY MVQKPGK
TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGGLNKS KPYT GKHA KAIGNCPIWVKT
PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
FETKHKCNQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
SFWMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16S

PDI-B Sing-S140A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:127)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattggttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
cggatcgaatctgcactgggataacatcttcaaactcacctcatgtggtcaaaacagctactcaagggga
ggtcaatgtgactggcgtgataccactgacaacaacaccaaaaaatcttattttgcaaatctcaaagga
acaaggaccagaggggaaactatgcccgactgtctcaactgtacagatctggatgtggccttgggcaggc
caatgtgtgtggggaccacaccttctgctaaagcttcaatactccatgaggtcagacctgttacatccgg
gtgctttcctataatgcacgacagaacaaaaatcaggcaactacccaatcttctcagaggatatgaaaag
atcagggttatcaacccaaaaacggttatcgatgcagaaaaagcaccaggaggaccctacagacttggaaccg
ccggatcttgccctaacgctaccagtaaaatcggattttttgcaacaatggcttgggctgtcccaaagga
caactacaaaaatgcaacgaaccacaaaacagtgggaagtaccatacatttgtacagaaggggaagaccaa
attactgtttgggggttccattcggataacaaaacccaaatgaagagcctctatggagactcaaatcctc
aaaagttcacctcatctgctaattggagtaaccacgcattatgtttctcagattggcgacttcccagatca
aacagaagacggaggactaccacaaaagcggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaaacctgggaaa
acaggaacaattgtctatcaaaggggtgttttggtgcctcaaaaggtgtggtgcgcgagtggtcaggagca
aagtaataaaaaggggtcattgcctttaattgggtgaagcagattgccttcattgaagaatacgggtggattaa
caaaagcaagccttactacacaggaaaacatgcaaaagccataggaattgcccaatatgggtaaaaaca
cctttgaagcttgccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggtt
ggcacggatacacatctcacggagcacatggagtggcagtgggcggcagaccttaagagtacacaagaagc
tataaataagataacaaaaaatctcaattccttgagtgaactagaagtaaagaaccttcaaagactaagt
ggtgccatggatgaactccacaacgaaatactcgagctggatgaaaaagtggtgatctcagagctgaca
ctataagctcacaaatagaacttgcagtcttgctttccaacgaaggaataataaacagtgaagacgagca
tctattggcacttgagagaaaaactaaagaaaatgctgggtccctctgctgtagacataggaaacggatgc
ttcgaacccaacacaaaatgcaaccagacctgcttagacaggatagctgctggcacctttaatgcaggag
aattttctctccccacttttgattcattgaacattactgctgcattttaatgatgatggattggataa
ctaccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggtagtctccctgggggcaatc
agtttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16Т

PDI-B Sing-S140A (Pri-) AA (SEQ ID NO:128)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTGVIPLTTTPTKSYFANLKG
TRTRGKLCPCDCLNCTDLVALGRPMC VGTPSAKASILHEVRPVTS GCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEK
IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTAGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDYMVQKPGK
TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGG LNKSKPYT GKHAKAIGNCPIWVKT
PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
FETKHKCNQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSLGAI
SFWMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16U

PDI-B Sing-S142A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:129)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattgttttctcttcttggtggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcttcaaactcacctcatgtggtcaaaacagctactcaagggga
 ggtcaatgtgactggcgtgataccactgacaacaacaccaacaaaatcttattttgcaaactctcaaagga
 acaaggaccagagggaaaactatgcccggaactgtctcaactgtacagatctggatgtggccttgggcaggc
 caatgtgtgtggggaccacacaccttctgctaaagcttcaatactccatgaggtcagacctgttacatccgg
 gtgctttcctataatgcacgacagaacaaaaatcaggcaactaccaatcttctcagaggatatgaaaag
 atcaggttatcaacccaaaaacggttatcgatgcagaaaaagcaccaggaggaccctacagacttggaaacct
 caggagcctgcccctaacgctaccagtaaaatcggattttttgcaacaatggcttgggctgtcccaaagga
 caactacaaaaatgcaacgaacccacaaacagtggaagtaccatacatttgtacagaagggggaagaccaa
 attactgtttgggggttccattcggataacaaaaacccaaatgaagagcctctatggagactcaaatcctc
 aaaagttcacctcatctgctaattggagtaaccacgcattatgtttctcagattggcgacttcccagatca
 aacagaagacggaggactaccacaaagcggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaacctgggaaa
 acaggaacaattgtctatcaaaggggtgttttgttgctcaaaaggtgtggtgcgcgagtggtcaggagca
 aagtaataaaagggtcattgcctttaattggtgaagcagattgccttcattgaagaatacggaggattaaa
 caaaagcaagccttactacacaggaaaacatgcaaaagccataggaaattgcccattatgggtaaaaaca
 cctttgaagccttgccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggtt
 ggcacggatacacatctcacggagcacatggagtggcagtggtggcgagaccttaagagtacacaagaagc
 tataaataagataacaaaaaatctcaattctttgagtgaactagaagtaagaaccttcaaagactaagt
 ggtgccatggatgaactccacaacgaataactcgagctggatgaaaaagtggtgatctcagagctgaca
 ctataagctcacaaatagaacttgagctcttgctttccaacgaaggaataataaacagtgaagacgagca
 tctattggcacttgagagaaaaactaaagaaaatgctgggtccctctgctgtagacataggaaacggatgc
 ttcgaaaccaaacacaaatgcaaccagacctgcttagacaggatagctgctggcacctttaatgcaggag
 aattttctctccccacttttgattcattgaacattactgctgcatctttaaatgatgatggattggataa
 ctaccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctggggggcaatc
 agtttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16V

PDI-B Sing-S142A (Pri-) AA (SEQ ID NO:130)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGACPNATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRIVVDYVMVQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEEYGGLNKS KPYTGKHAKAIGNCPIWVK
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16W

PDI-B Sing-D195G (PrI-) ДНК (SEQ ID NO:131)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcttcaaactcacctcatgtggtcaaaacagctactcaagggga
 ggtcaatgtgactggcgtgataccactgacaacaacaccaaaaaatcttattttgcaaatctcaaagga
 acaaggaccagagggaaactatgcccgactgtctcaactgtacagatctggatgtggccttgggcaggc
 caatgtgtgtggggaccacaccttctgctaaagcttcaatactccatgaggtcagacctgttacatccgg
 gtgcttttctataatgcacgacagaacaaaaatcaggcaactacccaatcttctcagaggatatgaaaag
 atcagggttatcaacccaaaaacggttatcgatgcagaaaaagcaccaggaggacccctacagacttggaacct
 caggatcttgccctaacgctaccagtaaaatcggattttttgcaacaatggcttgggctgtcccaaagga
 caactacaaaaatgcaacgaaccacacaaacagtgggaagtaccatacatttgtacagaaggggaagacca
 attactgtttgggggttcattcgggcaacaaaaacccaaatgaagagcctctatggagactcaaatcctc
 aaaagttcacctcatctgctaattggagtaaccacgcattatgtttctcagattggcgacttcccagatca
 aacagaagacgggagactaccacaaagcggcagaattgtttgttgattacatggtgcaaaaaacctgggaaa
 acaggaacaattgtctatcaaaggggtgttttggtgcctcaaaaggtgtggtgcgcgagtggcaggagca
 aagtaataaaaggggtcattgcctttaattgggtgaagcagattgccttcatgaagaatacgggtggattaa
 caaaagcaagccttactacacaggaaaacatgcaaaagccataggaaattgcccaatatgggtaaaaaca
 cctttgaagccttgccaatggaaccaaatatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggtt
 ggcacggatacacatctcacggagcacatggagtggcagtggcggcagaccttaagagtacacaagaagc
 tataaataagataacaaaaaatctcaattcctttgagtgaactagaagtaaagaaccttcaaagactaagt
 ggtgccatggatgaactccacaacgaataactcgagctggatgaaaaagtggatgatctcagagctgaca
 ctataagctcacaaatagaacttgagtccttgctttccaacgaaggaataataaacagtgaagacgagca
 tctattggcacttgagagaaaaactaaagaaaatgctgggtccctctgctgtagacataggaaacggatgc
 ttcgaaaccaaacacaaatgcaaccagacctgcttagacaggatagctgctggcacctttaatgcaggag
 aattttctctccccacttttgattcattgaacattactgctgcattttaaatgatgatggattggataa
 ctaccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggtagtctccctgggggcaatc
 agtttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16X

PDI-B Sing-D195G (PrI-) AA (SEQ ID NO:132)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLDVALGRPMCVGTTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSGNKTQMKSLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDYMVQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEEYGGLNKS KPYITGKHAKAIGNCPIWVK
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSLGAI
 SFWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16Y

PDI-B Sing-L203A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:133)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcttcaaactcacctcatgtggtcaaaacagctactcaagggga
 ggtcaatgtgactggcgtgataccactgacaacaacaccaaaaaatcttattttgcaaatctcaaagga
 acaaggaccagaggggaaactatgcccgactgtctcaactgtacagatctggatgtggccttgggcaggc
 caatgtgtgtggggaccacaccttctgctaaagcttcaatactccatgaggtcagacctgttacatccgg
 gtgctttcctataatgcacgacagaacaaaaatcaggcaactacccaatcttctcagaggatatgaaaag
 atcagggttatcaacccaaaaacggttatcgatgcagaaaaagcaccaggaggaccctacagacttggaaact
 caggatcttgcctaacgctaccagtaaaatcggattttttgcaacaatggcttgggctgtcccaaagga
 caactacaaaaatgcaacgaacccacaaacagtggaagtaccatacatttgtacagaaggggaagaccaa
 attactgtttgggggttccattcggataacaaaacccaaatgaagagcgccctatggagactcaaatcttc
 aaaagttcacctcatctgctaattggagtaaccacgcattatgtttctcagattggcgacttcccagatca
 aacagaagacggaggactaccacaaaagcggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaaacctgggaaa
 acaggaacaattgtctatcaaaggggtgttttggtgctcaaaaggtgtggtgcgcgagtggcaggagca
 aagtaataaaaaggggtcattgcctttaattggtgaagcagattgccttcatgaagaatacgggtggattaa
 caaaagcaagccttactacacaggaaaacatgcaaaagccataggaattgcccaatatgggtaaaaaca
 cctttgaagcttgccaatggaaccaaataatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggtt
 ggcacggatacacatctcacggagcacatggagtggcagtgggcggcagaccttaagagtacacaagaagc
 tataaataagataacaaaaaatctcaattctttgagtgaactagaagtaaagaaccttcaaagactaagt
 ggtgccatggatgaactccacaacgaaatactcgagctggatgaaaaagtggatgatctcagagctgaca
 ctataagctcacaaatagaacttgcagtcttgctttccaacgaaggaataataaacagtgaagacgagca
 tctattggcacttgagagaaaaactaaagaaaatgctgggtccctctgctgtagacataggaaacggatgc
 ttcgaaaccaaacacaaatgcaaccagacctgcttagacaggatagctgctggcacctttaatgcaggag
 aattttctctccccacttttgattcattgaacattactgctgcacctttaaatgatgatggattggataa
 ctaccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatc
 agtttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16Z

PDI-B Sing-L203A (Pri-) AA (SEQ ID NO:134)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTGVIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTPSAKASILHEVRPVTS GCFPIMH DRTKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMK SAYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDY MVQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEEYGG LNKSKPYT GKHA KAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAI
 SFWMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16АА

PDI-B Sing-L203W (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:135)

atggcgaaaaacggttgcgatcttctggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttctg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcttcaaactcacctcatgtggtcaaaacagctactcaagggga
 ggtcaatgtgactggcgtgataccactgacaacaacaccaaaaaatcttattttgcaaactcacaagga
 acaaggaccagaggggaaactatgcccgactgtctcaactgtacagatctggatgtggccttgggcaggc
 caatgtgtgtggggaccacaccttctgctaaagcttcaatactccatgaggtcagacctgttacatccgg
 gtgctttcctataatgcacgacagaacaaaaatcaggcaactaccaatcttctcagaggatatgaaaag
 atcagggttatcaacccaaaaacggttatcgatgcagaaaaagcaccaggaggaccctacagacttggaacct
 caggatcttgccctaacgctaccagtaaaatcggattttttgcaacaatggccttgggctgtcccaaagga
 caactacaaaaatgcaacgaacccacaaacagtggaagtaccatacatttgtagagaaggggaagaccaa
 attactgtttgggggttcattccggataacaaaacccaaatgaagagctgggtatggagactcaaatcctc
 aaaagttcacctcatctgctaattggagtaaccacgcattatgtttctcagattggcgacttccagatca
 aacagaagacggaggactaccacaaagcggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaacctgggaaa
 acaggaacaattgtctatcaaaggggtgttttggtgctcaaaagggtgtggtgcgcgagtggtcaggagca
 aagtaataaaagggtcattgcctttaattgggtgaagcagattgccttcattgaagaatacgggtggattaaa
 caaaagcaagccttactacacaggaaaacatgcaaaagccataggaaattgccaatatgggtaaaaaca
 cctttgaagcttgccaatggaaccaaataatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggtt
 ggcacggatacacatctcacggagcacatggagtggcagtggtggcgagaccttaagagtacacaagaagc
 tataaataagataacaaaaaatctcaattctttgagtgaactagaagtaaagaaccttcaaagactaagt
 ggtgccatggatgaactccacaacgaaatactcgagctggatgaaaaagtggtatgatctcagagctgaca
 ctataagctcacaaatagaacttgtagtcttgctttccaacgaaggaataataaacagtgaagacgagca
 tctattggcacttgagagaaaaactaaagaaaatgctgggtccctctgctgtagacataggaaacggatgc
 ttcgaaaaccaaacacaaatgcaaccagacctgcttagacaggatagctgctggcacctttaatgcaggag
 aatcttctctccccacttttgattcattgaacattactgctgcatctttaaatgatgatggattggataa
 ctaccagatcttgccgatctattcaactgtcgccagttcattggtagtctcctctgggggcaatc
 agtttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16АВ

PDI-B Sing-L203W (Pri-) AA (SEQ ID NO:136)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSYFANLKG
 TRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTPSAKASILHEVRPVTS GCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEK
 IRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSCP NATSKIGFFATMAWAVPKDNYKNATNPQTVEVPYICTEGEDQ
 ITVWGFHSDNKTQMKSWYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRI VVDY MVQKPGK
 TGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEEYGGLNKS KPYT GKHAKAIGNCPIWVKT
 PLKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLS
 GAMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNGC
 FETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLV VSLGAI
 SFWMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16AC

PDI-B Mary (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:137)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
cggatcgaatctgcactgggataaacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaatctcatttttgcaaatctcaaagga
acagaaaaccaggggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
gtgcttttcctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggaccctacaaaattggaacct
caggggtcttgccctaaccattaccaatggaaacgggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccagacaa
aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaat
accgttttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaagctctatggggactcaaagcccaga
agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttcccaaatcaaac
agaagacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaaca
ggaacaattacctatcaaagaggtattttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
taataaaaaggatccttgcctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaa
aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacaccc
ttgaagctggccaatggaaccaaataatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggc
acggatacacatcccatggggcacatggagtgcggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcgctgggaagtaagaatcttcaaagactaagcgg
gcatggtgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
taagctcacaatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
cttggcgcttgaaagaaagtgaagaaaatgctgggcccctctgctgtagagatagggaatggatgcttt
gaaaccaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacaagatagctgctggtacctttgatgcaggagaat
tttctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacctttaatgacgatggattggataatta
ccagatttttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagt
ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AD

PDI-B Mary (Prl-) AA (SEQ ID NO:138)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTGVIPLTTTPTKSHFANLKG
TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTSGSCPNI TNNGFFATMAWAVPDKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
TVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKT
GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
LKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADLKSTQEAINKITKNLSLSELEVKNLQRLSG
AMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGI INSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF
ETKHKCNQTCLDKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAIS
FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16AE

IF-B-Bris(nat).c

tctcagatcttcgcggatcgaatctgcactgggataaacatcgtcaaactc

Фиг. 16AF

PDI-B Mary-G138A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:140)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttggtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcggtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggacctacaaaattgccacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccagacaa
 aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaat
 accgttttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagcccaga
 agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaac
 agaagacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaatctggaaaaaca
 ggaacaattacctatcaaagaggtattttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
 taataaaaggatccttgcccttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaa
 aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccataatgggtgaaaacaccc
 ttgaagctggccaatggaaccaaataatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggc
 acggatacacatcccattggggcacatggagtacgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
 aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcgctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggt
 gccatggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
 taagctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
 cttggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgtagagatagggaatggatgcttt
 gaaaccaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacaagatagctgctggtacctttgatgcaggagaat
 tttctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacctttaaatgacgatggattggataatta
 ccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggtagtctccctggggggcaatcagt
 ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AG

PDI-B Mary-G138A (Pri-) AA (SEQ ID NO:141)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIATSGSCPNI TNNGFFATMAWAVPDKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
 TVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYVMVQKSGKT
 GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 LKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHVAVAADLKSTQEAINKITKNLSLSELEVKNLQRLSG
 AMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGI INSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCF
 ETKHKCNQTCCLKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAIS
 FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16AH

PDI-B Mary-S140A (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:142)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggaccctacaaaattggaaccg
 ccgggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccagacaa
 aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaatt
 accgttttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagccccaga
 agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttcccaaatcaaac
 agaagacggaggactaccacaaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaaca
 ggaacaattacctatcaaagaggtattttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
 taataaaaggatccttgcccttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaa
 aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacaccc
 ttgaagctggccaatggaaccaaatatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggc
 acggatacacatcccattggggcacatggagttagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
 aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgg
 gccatggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
 taagctcacaatatagaactcgcagtcctgtcttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
 cttggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgtagagatagggaatggatgcttt
 gaaaccaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacaagatagctgctggtacctttgatgcaggagaat
 tttctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatacagatggattggataatta
 ccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagt
 ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AI

PDI-B Mary-S140A (Prl-) AA (SEQ ID NO:143)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTAGSCP NITNGNGFFATMAWAVPDKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
 TVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKT
 GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 LKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSG
 AMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF
 ETKHKCNQTCLDKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAIS
 FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16AJ

PDI-B Mary-S142A (PrI-) ДНК (SEQ ID NO:144)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtaaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaatctcaaagga
 acagaaaccagggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggacctacaaaattggaacct
 cagggggcctgcccataacattaccaatggaaacggatttcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccagacaa
 aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaatt
 accgttttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaagctctatggggactcaaagccccaga
 agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatacaac
 agaagacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaaca
 ggaacaattacctatcaaagaggtattttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
 taataaaaaggatccttgcccttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaa
 aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaaggccataggaaattgcccataatgggtgaaaacaccc
 ttgaagctggccaatggaacaaatatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggc
 acggatacacatcccattggggcacatggagtagcgttggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
 aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaaagtaagaatcttcaaagactaagcgtt
 gccatggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
 taagctcacaatatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
 cttggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgttagagatagggaatggatgcttt
 gaaaccaaacacaagtgaaccagacctgtctcgacaagatagctgctggtacctttgatgcaggagaat
 tttctctcccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaatgacgatggattggataatta
 ccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagt
 ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AK

PDI-B Mary-S142A (PrI-) AA (SEQ ID NO:145)

MAKNVAIFGLLEFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTSGACPNITNGNGFFATMAWAVPDKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
 TVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKT
 GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSLLPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 LKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSG
 AMDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGI INSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF
 ETKHKCNQTCCLKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAIS
 FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16AL

PDI-B Mary-D194G (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:146)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataaacatcgtcaaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaattctcattttgcaaatctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaactatgcccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggacctacaaaattggaacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccagacaa
 aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaatt
 accgttttgggggttccactctggcaacgagacccaaatggcaagctctatggggactcaaagccccaga
 agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatacaac
 agaagacggaggactaccacaaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaaca
 ggaacaattacctatcaaagagggtattttattgcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
 taataaaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaa
 aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccataatgggtgaaaacaccc
 ttgaagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggc
 acggatacacatcccattggggcacatggagtagcgttggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
 aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaaagtaagaatcttcaaagactaagcgtt
 gccatggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
 taagctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
 cttggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgttagagatagggaatggatgcttt
 gaaaccaaacacaagtgaaccagacctgtctcgacaagatagctgctggtacctttgatgcaggagaat
 tttctctcccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaatgacgatggattggataatta
 ccagattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagt
 ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AM

PDI-B Mary-D194G (Pri-) AA (SEQ ID NO:147)

MAKNVAIFGLLEFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTSGSCPNI TNNGFFATMAWAVPDKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
 TVWGFHSGNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKT
 GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 LKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSG
 AMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGI INSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF
 ETKHKCNQTCCLKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAIS
 FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16АН

PDI-B Mary-L202A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:148)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactcattttgcaaatctcaaagga
acagaaaaccagggggaaactatgcccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggacctacaaaattggaacct
caggggtcttgccctaaccattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccagacaa
aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaatt
accgttttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaggccctatggggactcaaagccccaga
agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaac
agaagacggaggactaccacaaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaaca
ggaacaattacctatcaaagagggtattttattgcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
taataaaaaggatccttgcccttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtgattaaacaa
aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaaggccataggaaattgcccataatgggtgaaaacaccc
ttgaagctggccaatggaacaaatatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggc
acggatacacatcccattggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaaagtaagaatcttcaaagactaagcgggt
gccatggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
taagctcacaaatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
cttggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgttagagatagggaatggatgcttt
gaaaccaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacaagatagctgctggtacctttgatgcaggagaat
tttctctcccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaatgacgatggattggataatta
ccagattttggcgatctattcaactgtcgcagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagt
ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16АО

PDI-B Mary-L202A (Pri-) AA (SEQ ID NO:149)

MAKNVAIFGLLESLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
TETRGLCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTSGSCPNI TNNGFFATMAWAVDPKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
TVWGFHSDNETQMAKAYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKT
GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
LKLANKTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSG
AMDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGI INSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF
ETKHKCNQTCCLKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAIS
FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16AP

PDI-B Mary-L202W (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:150)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataaacatcggtcaaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgacccggtgtaataccactgacaacaaccccaccaaattctcattttgcaaattctcaaagga
 acagaaaaccaggggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagacgcaccaggaggaccctacaaaattggaacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacgggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccagacaa
 aaacaaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacgtgtgtacagaaggagaagaccaaatt
 accgttttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaaagtgggtatggggactcaaagccccaga
 agttcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttcccaaatacaac
 agaagacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaaca
 ggaacaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaagg
 taataaaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaa
 aagcaagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccccaatatgggtgaaaacaccc
 ttgaagctggccaatggaaccaaataagacctcctgggtggaggatgggaagggaatgattgcaggttggc
 acggatacacatcccattggggcacatggagttagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccat
 aaacaagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaaagtaagaatcttcaaagactaagcgggt
 gccatggatgaactccacaacgaaataactagaacttagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaa
 taagctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatct
 cttggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgttagagatagggaatggatgcttt
 gaaaccaaacacaagtgaaccagacctgtctcgacaagatagctgctgggtacctttgatgcaggagaat
 tttctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatgacgatggattggataatta
 ccagatttttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagt
 ttctggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaataatgtatttaa

Фиг. 16AQ

PDI-B Mary-L202W (Pri-) AA (SEQ ID NO:151)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIIPARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTSGSCPNIITNGNGFFATMAWAVDPKNKTATNPLTIEVPYVCTEGEDQI
 TVWGFHSDNETQMAKWYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDMVQKSGKT
 GTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 LKLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSG
 AMDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF
 ETKHKCNQTCCLKIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVS LGAIS
 FWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16AR

PDI-B Wash (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:152)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcaactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacaccaccaaactctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccaggggggaaactatgccccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaaggggttcaatactccatgaagtgcagacctgttacatctgg
 gtgcttttcctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattggaacct
 caggggtcttgccctaaccattaccaatggaaacgggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtagagaaggagaagaccaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagcccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgcaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattggttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtattttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcccttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaatatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcagggtggcacg
 gatacacatcccattggggcacatggagtagcggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaaatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacctttaaatgacgatggattggataattacca
 gatttttgcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AS

PDI-B Wash (Prl-) AA (SEQ ID NO:153)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGRPYEIGTSGSCP NITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRI VVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGC FE
 TKHKCNQTC LDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMC SNGLQCRICI

Фиг. 16АТ

PDI-B Wash-G138A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:154)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattggttttctcttcttggtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattgccacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtagagaaggagaagaccaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagcccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgctcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctctgggtggaggatgggaaggaatgattgcagggttggcag
 gatacacatcccattggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatacagatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16АВ

PDI-B Wash-G138A (Pri-) AA (SEQ ID NO:155)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGRPYEIATSGSCPNIITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMCNGLSLQCRICI

Фиг. 16AV

PDI-B Wash-S140A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:156)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaattctcattttgcaaattctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgcccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcgac
 caaaatgcacagggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattggaaccg
 ccgggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagcccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaattcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcccttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaagggaatgattgcagggttgacg
 gatacacatcccatggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaataactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaaatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgaaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaatgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16AW

PDI-B Wash-S140A (Pri-) AA (SEQ ID NO:157)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIPSARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGRPYEIGTAGSCPNITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVS LGAISF
 WMCNSGSLQCRICI

Фиг. 16AX

PDI-B Wash-S142A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:158)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgctcaaacaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaaccccaccaaattctcattttgcaaattctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgctttcctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattggaacct
 caggggctgcccataacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttggggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgccctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaagggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagtagcgtggcgagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcgctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctgggcccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaataatgtatttaa

Фиг. 16AY

PDI-B Wash-S142A (Pri-) AA (SEQ ID NO:159)

MAKNVAIFGLLEFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKI PSARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGRPYEIGTSGACPNITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSLGAISF
 WMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16AZ

PDI-B Wash-D193G (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:160)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggcttattgttttctcttcttggtggttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcggtcaaaactcaccacatgtcggtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaatctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaccagggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattggaacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttggggggttcactctggaacgagacccaaatggcaaaagctctatggggactcaaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggatattttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgccctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaagggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagttagcggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaagtaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaatatagaactcgagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagtgaagaaaatgctgggcccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgaaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacatctttaaatacagatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtagtctccttgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BA

PDI-B Wash-D193G (Pri-) AA (SEQ ID NO:161)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGRPYEIGTSGSCPNI TNNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSGNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16BB

PDI-B Wash-L201A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:162)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaatctcattttgcaaatctcaaagga
 acagaaaaccaggggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattggaacct
 caggggtcttgccctaaccattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtagagaaggagaagaccaaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaaggcctatggggactcaaagcccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgcaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgccctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacggtaggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcagggttgccag
 gatacacatcccattggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaaatagaactcgagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacctttaaatgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BC

PDI-B Wash-L201A (Pri-) AA (SEQ ID NO:163)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIPSARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGRPYEIGTSGSCPNIITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKAYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMCNGLSLQCRICI

Фиг. 16BD

PDI-B Wash-L201W (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:164)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggcttattgttttctcttcttggtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcggtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgggcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaagaccctacgagattggaacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtagagaaggagaagaccaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagtgggtatggggactcaaagcccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacggtggttaaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctctggtggaggatgggaaggaatgattgcagggttggcag
 gatacacatcccattggggcacatggagtagcgtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaataactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacatctttaaatacagatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BE

PDI-B Wash-L201W (Pri-) AA (SEQ ID NO:165)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALGRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTS GCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAE DAPGRPYEIGTSGSCPNI TNNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAK WYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16BF

PDI-B Vic (PrI-) ДНК (SEQ ID NO:180)

atggcgaaaaacggttgcgatcttgcgcttattgttttctcttcttgtgttggttccttctcagatcttcg
cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaatctcattttgcaaactcacaagga
acagaaaaccagggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
gtcaggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggaccctacgagattggaacct
cagggctcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaa
caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagcccagaagt
tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttccaaatcaaacaga
agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatgggtgcaaaaaatctggaaaaacagga
acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
taaaaggatccttgctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatcgggtggattaaacaaaag
caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacacccttg
aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
gatacacatcccatggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
gctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
accaaacacaagtgaaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatgacgatggattggataattacca
gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcatttggtactggtagtctccctgggggcaatcagtttc
tggtatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BG

PDI-B Vic (PrI-) AA (SEQ ID NO:181)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
TETRGKLCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEH
VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTSGSCPNI TNNGNFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRI VVDYMVQKSGKTG
TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKYGGLNKSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
KLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
MDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLND DGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
WMCNSGSLQCRICI

Фиг. 16BH

PDI-B Vic-G138A (PrI-) ДНК (SEQ ID NO:182)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgctcaaacaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaaccccaccaaattctcattttgcaaattctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgctttcctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggaccctacgagattgccacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttggggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgccctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaagggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagtagcggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcgctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacatctttaaatgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagctctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaataatgtatttaa

Фиг. 16BI

PDI-B Vic-G138A (PrI-) AA (SEQ ID NO:183)

MAKNVAIFGLLESLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIATSGSCPNIITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEKYGGLNLSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16BJ

PDI-B Vic-S140A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:184)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggccttattgttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcggtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaatctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaccagggggaaaactatgccccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgctttcctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggacctacgagattggaaccg
 ccgggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttggggggttcactctgacaacgagacccaaatggcaaaagctctatggggactcaaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagagggtattttattgcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgccctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagttagcggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctggaagtaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaatatagaactcgagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagtgaagaaaatgctgggcccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacatctttaaattgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggttagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BK

PDI-B Vic-S140A (Pri-) AA (SEQ ID NO:185)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHRTKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTAGSCPNI TNNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLND DGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMC SNGSLQCRICI

Фиг. 16BL

PDI-B Vic-S142A (PrI-) ДНК (SEQ ID NO:186)

atggcgaaaaacgttgcgatttttcggcttattgttttctcttcttggtggttgccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcggtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaatctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
 caaaatgcacagggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggacctacgagattggaacct
 caggggacctgacctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtccccaaaaa
 caaaacagcaacaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagaccccaaatggcaagctctatggggactcaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttgttgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccccaatatgggtgaaaacaccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctgggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagttagctgggaagtaagaatcttcaaagactaagcggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaataactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaatatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagataggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BM

PDI-B Vic-S142A (PrI-) AA (SEQ ID NO:187)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKI PSARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTSGACPNITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYIMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVSLGAISF
 WMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16BN

PDI-B Vic-D193G (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:188)

atggcgaaaaacggttgcgatcttccggttattgttttctcttcttggttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaactcacaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaaggggttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggacccctacgagattggaacct
 caggggtcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtagagaaggagaagaccaaaattacc
 gtttgggggttccactctggcaacgagacccaaatggcaaagctctatggggactcaaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagtagcgttggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaaatagaactcgagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagataggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatgacgatggattggataattacca
 gatcttgccgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BO

PDI-B Vic-D193G (Prl-) AA (SEQ ID NO:189)

MAKNVAIFGLLFSLLVLPVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKIPSARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTSGSCPNI TNNGEFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSGNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRI VVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADT ISSQIELAVLLSNEGIIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16BP

PDI-B Vic-L201A (Pri-) ДНК (SEQ ID NO:190)

atggcgaaaaacggttgcgattttcggccttattggttttctcttcttggtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcgtcaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaacacccaccaaactctcattttgcaaactctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaagggtttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaaccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggacctacgagattggaacct
 cagggctcttgccctaacattaccaatggaaacggattcttcgcaacaatggcttggggccgtcccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtagagaaggagaagaccaaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaaggcctatggggactcaaagccccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttcccaaatcaaacaga
 agacggaggactaccacaaagtggcagaattgttggtgattacatggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaagggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgcttttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaatatagacctctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccattggggcacatggagtagcgggtggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaatatagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcacatctttaaatacagatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattggtactggttagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BQ

PDI-B Vic-L201A (Pri-) AA (SEQ ID NO:191)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTSGSCPNIITNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKAYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDLDRADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMCNGLSLQCRICI

Фиг. 16BR

PDI-B Vic-L201W (Prl-) ДНК (SEQ ID NO:192)

atggcgaaaaacggttgcgatttttcggccttattggttttctcttcttctgtgttggttccttctcagatcttcg
 cggatcgaatctgcactgggataacatcggtcaaaactcaccacatgtcgtcaaaactgctactcaagggga
 ggtcaatgtgaccggtgtaataccactgacaacaaccccaccaaattctcattttgcaaattctcaaagga
 acagaaaaccagggggaaactatgccccaaatgcctcaactgcacagatctggatgtagccttgagcagac
 caaaatgcacaggggaaaataccctctgcaaggggttcaatactccatgaagtcagacctgttacatctgg
 gtgcttttctataatgcacgatagaacaaaaattagacagctgcctaacccttctccgaggatacgaacat
 gtcagggttatcaactcacaacggttatcaatgcagaagatgcaccaggaggaccctacgagattggaacct
 caggggtcttgccctaaccattaccaatggaaacgggattcttcgcaacaatggcttgggcccgtccaaaaaa
 caaaacagcaacaaatccattaacaatagaagtaccatacatttgtacagaaggagaagaccaaattacc
 gtttgggggttccactctgacaacgagacccaaatggcaaagtgggtatggggactcaaagcccagaagt
 tcacctcatctgccaacggagtgaccacacattacgtttcacagattgggtggcttccaaatcaaacaga
 agacgggaggactaccacaaagtggcagaattggtgttgattacatgggtgcaaaaatctggaaaaacagga
 acaattacctatcaaagaggtatttttattgcctcaaaaggtgtggtgcgcaagtggcaggagcaaggtaa
 taaaaggatccttgctttaattggagaagcagattgcctccatgaaaaatacgggtggattaaacaaaag
 caagccttactacacaggggaacatgcaaaggccataggaaattgcccaatatgggtgaaaacacccttg
 aagctggccaatggaaccaaataatagacctcctggtggaggatgggaaggaatgattgcaggttggcacg
 gatacacatcccatggggcacatggagtagcggtaggcagcagaccttaagagcactcaagaggccataaa
 caagataacaaaaaatctcaactctttgagtgcagctggaagtaaagaatcttcaaagactaagcgggtgcc
 atggatgaactccacaacgaaatactagaactagatgagaaagtggatgatctcagagctgatacaataa
 gctcacaataagaactcgcagtcctgctttccaatgaaggaataataaacagtgaagatgaacatctctt
 ggcgcttgaaagaaagctgaagaaaatgctggggccctctgctgtagagatagggaatggatgctttgaa
 accaaacacaagtgcaccagacctgtctcgacagaatagctgctggtacctttgatgcaggagaatttt
 ctctccccacctttgattcactgaatattactgctgcatctttaaatgacgatggattggataattacca
 gattttggcgatctattcaactgtcgccagttcattgggtactggtagtctccctgggggcaatcagtttc
 tggatgtgctctaattgggtctctacagtgtagaatatgtatttaa

Фиг. 16BS

PDI-B Vic-L201W (Prl-) AA (SEQ ID NO:193)

MAKNVAIFGLLFSLVLVPSQIFADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGIPLTTTPTKSHFANLKG
 TETRGLKCPKCLNCTDLVALSRPKCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDR TKIRQLPNLLRGYEH
 VRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTSGSCPNI TNNGNFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQIT
 VWGFHSDNETQMAKWYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRI VVDYMVQSGKTG
 TITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPL
 KLANGTKYRPPGGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGA
 MDELHNEILELDEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFE
 TKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNYQILAIYSTVASSLVLVVSLGAISF
 WMCNNGSLQCRICI

Фиг. 16BT

HA0_A-California-7-09_H1N1 (SEQ ID NO:203)

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKLCCKLRGVAPLHLGKCNIAGWILGNPECESL
 STASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAG
 AKSFYKNLIWLVKKNSYPKLSKSYINDKGKEVLVLWGIHHPSTADQQSLYQNADAYVFGSSRYSKKF
 KPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAMERNAGSGIIISDTPVHDCNTTCQ
 TPKGAINTSLPFQNIHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYG
 YHHQNEQGSQGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWT
 YNAELLVLLNERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYS
 EEAKLNREEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLVSLGAISFWMCNSGSLQCRICI

Фиг. 16BU

HA0_A-Kansas-14-17_H3N2 (SEQ ID NO:204)

QKIPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTI TNDRIEVTNATELVQNSSIGEICDSPHQILDGENCTLIDAL
 LGDPQCDGFQNKKWDLEVERNKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNNEFNWAGVTQNGTSSSCI
 RGSKSSFFSRLNWLTHLNSKYPALNVTMPNNEQFDKLYIWGVHHPGTDKDQISLYAQSSGRITVSTKRSQ
 QAVIPNIGSRPRIRDIPSRI SIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSE
 CITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPERQTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGW
 YGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDL
 WSYNAELLVALENQHTIDLT DSEMKNLFEKTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACMGSI RNNGTYDHNV
 YRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

Фиг. 16BV

HA0_A-Indonesia-5-05_H5N1 (SEQ ID NO:205)

DQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEF
 INVPEWSYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSDHEASSGVSSACPYLGS
 PSFFRNVVWLIKKNSTYPTIKKSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTRLYQNPTTYISIGTSTLNQRLV
 PKIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQT
 PMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQRESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDG
 WYGYHHSNEQGSQGYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLD
 VWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESIRNGTYNYP
 QYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSLALAIMMAGLSLWMCSNGSLQCRICI

Фиг. 16BW**HA0_A-Shanghai-2-13_H7N9 (SEQ ID NO:206)**

DKICLGHHAVSNGTKVNTLTERGVEVVNATETVERTNIPRICSKGKRTVDLGQCGLLGTTGPPQCDQFL
 EFSADLIIERREGSDVCYPGKVFVNEEALRQILRESGGIDKEAMGFTYSGIRTNGATSACRRSGSSFYAEM
 KWLLSNTDNAAFQMTKSYKNTRKSPALIVWGIHHSVSTAEQTKLYGSGNKLVTVGSSNYQQSFVPSGA
 RPQVNGLSGRIDFHWLMLNPNDTVTFSFNGAFIAPDRASFLRGKSMGIQSGVQVDANCEGDCYHSGGTII
 SNLPFQNIIDSRVAGKCPRYVKQRSLLLATGMKNVPEIPKGRGLFGAIAGFIENGWEGLIDGWYGFRHQA
 QGEGTAADYKSTQSAIDQITGKLNRLIEKTNQQFELIDNEFNEVEKQIGNVINWTRDSITEVWSYNAELL
 VAMENQHTIDLADSEMDKLYERVKRQLRENAEEDGTGCFEIFHKCDDDCMASIRNNTYDHSKYREEAMQN
 RIQIDPVKLSGGYKDVILWFSFGASC FILLAI VMGLVFICVKNGNM RCTICI

Фиг. 16BX**HA_B-Phuket-3703-13_Yam (SEQ ID NO:207)**

DRICTGITSSNSPHVVK TATQGEVNV TGVIPLTTTPTKSYFANLKGTRTRGKLC PDCLNCTDL DVALGRP
 MCVGTTPSAKASILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEKIRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTS
 GSCPNATSKIGFATMAWAVPKDNYKNATNPLTVEVPYICTEGEDQITVWGFHSDNKTQMKSLYGDSNPQ
 KFTSSANGVTTHYVSQIGDFPDQTEDGGLPQSGRIVVDYMMQKPGKTGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSK
 VIKGSLPLIGEADCLHEEYGGNLNKS KPYTGGHAKAIGNCPIWVK TPLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFG
 AIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELH
 NEILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVDIGNGCFETKHKC
 NQTC LDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTAASSLAVTLM LAIFIVYMVSR
 DNVSCSICL

Фиг. 16BY**HA_B-Maryland-15-16_Vic (SEQ ID NO:208)**

DRICTGITSSNSPHVVK TATQGEVNV TGVIPLTTTPTKSHFANLKGTTETRGKLC PKCLNCTDL DVALGRP
 KCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLSTHNVINAEDAPGGPYKIGTS
 GSCPNITNGNGFEATMAWAVPKDKNTATNPLTIEVPYVCTEGEDQITVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQK
 FTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKV
 IKGSLPLIGEADCLHEKYGGNLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVK TPLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFGA
 IAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHN
 EILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCN
 QTCLDKIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYYSTAASSLAVTLMIAIFVYMVSRD
 NVSCSICL

Фиг. 16BZ**HA_B-Victoria-705-18_Vic (SEQ ID NO:209)**

DRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTPTKSHFANLKGTTETRGKLCPKCLNCTDLDVALSRP
KCTGKIP SARVSILHEVRPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHVRLSTHNVINAEDAPGGPYEIGTS
GSCPNI TNNGNFFATMAWAVPKNKTATNPLTIEVPYICTEGEDQITVWGFHSDNETQMAKLYGDSKPQKF
TSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVI
KGS LPLIGEADCLHEKYGGLNKS KPYTGEHAKAIGNCPIWVKTP LKLANGTKYRPPAKLLKERGFFGAI
AGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNE
ILELDEKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLK KMLGPSAVEIGNGC FETKH KCNQ
TCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFD SLNITAASLNDDGLDNHTILLYYSTAASSLAVTLMIAIFVVMVSRDS
VSCSICL

Фиг. 17А

Вектор клонирования 1190 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 5)

TGGCAGGATATATTGTGGTGTAACAAATTGACGCTTAGACAACCTAATAACACATTGCGGACGTTTTTA
ATGTACTGAATTAACGCCGAATCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAA
AGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT
ATTAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT
GCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAG
AGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAATAGTTGTAC
AAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGAC
GCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAGAAAGAAAGATAAATTATTTTTAA
ATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTT
GTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAG
AGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAA
AAAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATA
ACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACA
TCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCA
CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAACGAGCTATACAAGGAAACGACGCTAGGGAAC
AAGCTAACAGTGAACGTTGGGATGGAGGATCAGGAGGTACCACCTTCTCCCTTCAAACCTTCTGACGAAAG
TCCGAGTTGGACTGAGTGGCGGCTACATAACGATGAGACGAATTCGAATCAAGATAATCCCTTGGTTTC
AAGGAAAGCTGGGGTTTTCGGGAAAGTTGTATTTAAGAGATATCTCAGATACGACAGGACGGAAGCTTCAC
TGCACAGAGTCTTGGATCTTGGACGGGAGATTGGTTAACTATGCAGCATCTCGATTTTTCGGTTTCGA
CCAGATCGGATGTACCTATAGTATTCGGTTTCGAGGAGTTAGTATCACCGTTTCTGGAGGGTCGCGAACT
CTTCAGCATCTCTGTGAGATGGCAATTCGGTCTAAGCAAGAAGCTGCTACAGCTTGCCCCAATCGAAGTGG
AAAGTAATGTATCAAGAGGATGCCCTGAAGGTAACCTTCGAAAAAGAAAGCGAGTAAGTTAAAT
GCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTTCCTGTAGAAGAGCTTAATTA
TCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACCTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAG
TCAGAATCAGAATGTTTCCCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTT
GAACAATAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAA
GTTCAATAGATTAAATAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATA
CTAATTTTATATCATCCCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGCCTAGGAGA
TTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCG
CGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTGACAAGCTTGCATGCCGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTT
GTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGG
TAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAA
GGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGAC
AGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTT
CAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGA
TACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGA
TTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCC
ATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCC
ACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAT
ATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCTTCTCTATATAAGGAA
GTTCAATTCATTTGGAGAGGTATTAATAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAA
CCAAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGGCTGAGC
GATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCGCGGATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATT

Фиг. 17А-1 (Продолжение)

GTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCCTTCTCAGATCTTCGCCTGCAGGCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCC
 ATCTGTCTATCCACTGGCCCCCTGGATCTGCTGCCCCAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTC
 AAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCT
 TCCCAGCTGTCTGACGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCC
 CAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCC
 AGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCAA
 AGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGA
 TGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGG
 GAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAATG
 GCAAGGAGCGATCGCTCACCATCACCATCACCATCACCATCACCATTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTG
 AATTTACTGTATTTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTT
 TATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAGATTT
 TAATTTTATTAAAAAAGACCGGAATTTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTT
 CAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATT
 TCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTT
 ATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACCGGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATA
 AATTATCGCGCGCGGTGTCTATGTTACTAGATCTCTAGAGTCTCAAGCTTGGCGCGCCACGTGACT
 AGTGGCACTGGCGCTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTT
 GCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGT
 TGCGCAGCCTGAATGGCGAATGCTAGAGCAGCTTGAGCTTGGATCAGATTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTT
 TAACTATCAGTGTTTGACAGGATATATTGGCGGGTAAACCTAAGAGAAAAGAGCGTTTA

Фиг. 17В

Конструкт 1314 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 6)

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAA
 GGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTG
 TCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
 GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGG
 AAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACAC
 ACTTGTCTACTCCAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAA
 AGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGG
 AAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACG
 TCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTT
 CGCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCAATTCATTTGGAGAGGTATTAATCTTAATAGGTTTTG
 ATAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAA
 CTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATG
 GCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTGTGTTGGTTCCCTTCTCAGATCTTCGCTG
 ACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAATGT
 AACAGTAACACACTCTGTTAACCTTCTAGAAGACAAGCATAACGGGAAACTATGCAAACTAAGAGGGGTA
 GCCCCATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCACTCT
 CCACAGCAAGCTCATGGTCTACATTGTGGAAACACCTAGTTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGA
 TTTTCATCGATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTCATCATTTGAAAGGTTTGAGATATTC

Фиг. 17В-1 (Продолжение)

CCCAAGACAAGTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCTCATGCTGGAG
 CAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAAATC
 CTACATTAATGATAAAGGGAAAGAAGTCCTCGTGCTATGGGGCATTACCATCCATCTACTAGTGCTGAC
 CAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATGCATATGTTTTTGTGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAAGTTCA
 AGCCGGAAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAATGAAC TATTACTGGACACTAGT
 AGAGCCGGGAGACAAAATAACATTCGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTCGCAATG
 GAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTTATCATTTTCAGATACACCAAGTCCACGATTGCAATACAACTTGTCAAA
 CACCCAAGGGTGCTATAAACACCAAGCCTCCCATTTTCAGAATATACATCCGATCACAATTGGAAAATGTCC
 AAAATATGTAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATTCAATCTAGA
 GGAATATTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTT
 ATCACCATCAAATGAGCAGGGGTGAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAGAATGCCATTGACGA
 GATTACTAACAAAGTAAATTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTCACAGCAGTAGGTAAGAGTTT
 AACCACCTGGAAAAAAGAATAGAGAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCCTGGACATTTGGACTT
 ACAATGCCGAAGTGTGGTTCTATTGGAAAATGAAAGAACTTTGGACTACCACGATTCAAATGTGAAGAA
 CTTATATGAAAAGGTAAGAAGCCAGCTAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGCTGCTTTGAATTT
 TACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACTCAG
 AGGAAGCAAAATTAAACAGAGAAGAAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGATTTT
 GGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGGATG
 TGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAAAGGCCATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGT
 TATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTTATTTTATGTAATTT
 AATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCTGCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATT
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTG
 GCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAAT
 TACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAG
 TCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAAC TAGGATAAATTATCGCG
 CGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

Фиг. 17С

Вектор клонирования 3637 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 9)

TGGCAGGATATATTGTGGTGTAACAAATTGACGCTTAGACAACCTTAATAACACATTGCGGACGTTTTTA
 ATGTAAGTGAATTAACGCCGAATCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAA
 AGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT
 ATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGTT
 GCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAG
 AGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAATAGTTGTAC
 AAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGAC
 GCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTTGGCAAGTCATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAA
 ATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTT
 GTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAG
 AGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAA
 AAAAAAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATA
 ACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACA
 TCTACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCA

Фиг. 17С-1 (Продолжение)

CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAACGAGCTATACAAGGAAACGACGCTAGGGAAC
 AAGCTAACAGTGAACGTTGGGATGGAGGATCAGGAGGTACCACTTCTCCCTTCAAACCTTCTGACGAAAG
 TCCGAGTTGGACTGAGTGGCGGCTACATAACGATGAGACGAATTCGAATCAAGATAATCCCCTTGGTTTC
 AAGGAAAGCTGGGGTTTCGGGAAAGTTGTATTTAAGAGATATCTCAGATACGACAGGACGGAAGCTTCAC
 TGCACAGAGTCCCTTGGATCTTGGACGGGAGATTCCGGTAACTATGCAGCATCTCGATTTTTTCGGTTTCGA
 CCAGATCGGATGTACCTATAGTATTCGGTTTCGAGGAGTTAGTATCACCGTTTCTGGAGGGTCGCGAACT
 CTTCAGCATCTCTGTGAGATGGCAATTCGGTCTAAGCAAGAACTGCTACAGCTTGCCCCAATCGAAGTGG
 AAAGTAATGTATCAAGAGGATGCCCTGAAGGTAACCTTCGAAAAAGAAAGCGAGTAAGTTAAAT
 GCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTTGTATTGTTAATTTTGTTCCTTGTAGAAGAGCTTAATTA
 TCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAG
 TCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTT
 GAACAACATAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAA
 GTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACATA
 CTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGCCTAGGAGA
 TTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCG
 CGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTGACAAGCTTGCATGCCGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTT
 GTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGG
 TAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAA
 GGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGAC
 AGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTT
 CAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGA
 TACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGA
 TTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCC
 ATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCC
 ACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAT
 ATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCTTCTCTATATAAGGAA
 GTTCATTTTATTTGGAGAGGTATTAATACTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAA
 CCAAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGC
 GATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCGCGGATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATT
 GTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCCTTCTCAGATCTTCGCCTGCAGGCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCC
 ATCTGTCTATCCACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCAAATACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTC
 AAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCT
 TCCCAGCTGTCTGAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGAAGTGTCCCCTCCAGCACCTGGCC
 CAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAAATTGTGCCC
 AGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCAA
 AGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTACGTTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGA
 TGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGG
 GAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAATG
 GCAAGGAGCGATCGCTCACCATCACCATCACCATCACCATCACCATTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTG
 AATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTT
 TATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTT
 TAATTTTATTTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGA
 TGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATT
 TATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAG
 CGCGCAAACCTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCTCTAGAGTCTCAAGCTTG

Фиг. 17С-2 (Продолжение)

GCGCGCCACGTGACTAGTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTAC
 CCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGAT
 CGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGCTAGAGCAGCTTGAGCTTGGATCAGATTGTCG
 TTTCCCGCCTTCAGTTTAACTATCAGTGTTTGACAGGATATATTTGGCGGGTAAACCTAAGAGAAAAGAG
 CGTTTA

Фиг. 17D

Конструкт 6100 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 10)

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAA
 GGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCATTGCCAGCTATCTG
 TCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
 GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGG
 AAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACAC
 ACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAA
 AGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGG
 AAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACG
 TCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCCTATCCTT
 CGCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTG
 ATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAA
 CTTCTCTCTTGTCTTTCTTGGCGTGGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATG
 GCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCTTCTCAGATCTTCGCTG
 ACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAATGT
 AACAGTAACACACTCTGTTAACCTTCTAGAAGACAAGCATAACGGGAAACTATGCAAACTAAGAGGGGTA
 GCCCCATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCACTCT
 CCACAGCAAGCTCATGGTCCTACATTGTGGAAACACCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTTCCAGGAGA
 TTTTCATCGATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTCAATTTGAAAGGTTTGAGATATTC
 CCCAAGACAAGTTCATGGCCAATCATGACTCGAACAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCATGCTGGAG
 CAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAAATC
 CTACATTAATGATAAAGGGAAAGAAGTCCTCGTGCTATGGGGCATTCACCATCCATCTACTAGTGCTGAC
 CAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATGCATATGTTTTGTGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAAGTTCA
 AGCCGGAAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAATGAACATTTACTGGACACTAGT
 AGAGCCGGGAGACAAAATAACATTCGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTCGCAATG
 GAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTTCAGATACACCACTCCACGATTGCAATACAACCTTGTCAAA
 CACCCAAGGGTGCTATAAACACCAGCCTCCCATTTTCAAGATATACATCCGATCACAATTGGAAAATGTCC
 AAAATATGTAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATTCAATCTAGA
 GGAATATTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTT
 ATCACCATCAAAATGAGCAGGGGTGAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAGAATGCCATTGACGA
 GATTACTAACAAAGTAAATTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTTACAGCAGTAGGTAAGAGTTT
 AACCACCTGGAAAAAAGAATAGAGAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCTTGGACATTTGGACTT
 ACAATGCCGAACGTGTGGTTCTATTGGAAAATGAAAGAACTTTGGACTACCCACGATTCAAATGTGAAGAA
 CTTATATGAAAAGGTAAGAAGCCAGCTAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGCTGCTTTGAATTT
 TACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACTCAG

Фиг. 17D-1 (Продолжение)

AGGAAGCAAAATTAACAGAGAAGAAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGATTTT
GGCGATCTATTCAACTGTCCGAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGGATG
TGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGT
TATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTT
AATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATT
ATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCAT
ATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGG
GTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAAACT
AGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

Фиг. 17E

Вектор клонирования 2530 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 54)

TGGCAGGATATATTGTGGTGTAACAAATTGACGCTTAGACAACCTTAATAACACATTGCGGACGTTTTTA
ATGTAAGTGAATTAACGCCGAATCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAA
AGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT
ATTAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT
GCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAG
AGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAATAGTTGTAC
AAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGAC
GCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTAA
ATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTT
GTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAG
AGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAA
AAAAAACCGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATA
ACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACA
TCTACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAACCAATCCACATCTTTATCA
CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAACGAGCTATACAAGGAAACGACGCTAGGGAAC
AAGCTAACAGTGAACGTTGGGATGGAGGATCAGGAGGTACCACTTCTCCCTTCAAACCTTCTGACGAAAG
TCCGAGTTGGACTGAGTGGCGGCTACATAACGATGAGACGAATTCGAATCAAGATAATCCCTTGGTTTC
AAGGAAAGCTGGGGTTTCGGGAAAGTTGTATTTAAGAGATATCTCAGATACGACAGGACGGAAGCTTCAC
TGCACAGAGTCTTGGATCTTGGACGGGAGATTCGGTTAACTATGCAGCATCTCGATTTTTCGGTTTCGA
CCAGATCGGATGTACCTATAGTATTCGGTTTCGAGGAGTTAGTATCACCGTTTCTGGAGGGTCGCGAACT
CTTCAGCATCTCTGTGAGATGGCAATTCGGTCTAAGCAAGAACTGCTACAGCTTGCCCCAATCGAAGTGG
AAAGTAATGTATCAAGAGGATGCCCTGAAGGTAACCTTCAAAAAGAAAGCGAGTAAGTTAAAT
GCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTTCCTGTAGAAGAGCTTAATTA
TCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTACATAAGTGGAG
TCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAAATACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTT
GAACAATAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAA
GTTCAATAGATTAATAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCATTAAACAATCAACTAACGTTATTAATA
CTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGCCTAGGAGA
TTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAACCGCCTCTCCCGG
CGCGTTGGGAATTAAGTAGCGCGTGTGACACGCGTGGCGCGCCCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAA

Фиг. 17Е-1 (Продолжение)

CTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTA
 CTGTTATAAATCATTATTAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTT
 GACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGA
 GAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTA
 CCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAA
 ATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAA
 TAAATTATTTTTTAAATTA AAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAG
 AGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCCTA
 TATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATA
 TTAATCCCTCCAAAAA AAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGAT
 CCCCCTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCA
 CGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAA
 TCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACA
 CATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAGTCTTCTAACCGAGGTCG
 AAACGCCTATCAGAAACGAATGGGGGTGCAGATGCAACGATTCAGTGATCCTCTTGTGTTGCCGCAAG
 TATAATTGGGATTGTGCACCTGATATTGTGGATTATTGATCGCCTTTTTTCCAAAAGCATTATATCGTATC
 TTTAAACACGGTTTAAAAAGAGGGCCTTCTACGGAAGGAGTACCAGAGTCTATGAGGGAAGAATATCGAG
 AGGAACAGCAGAATGCTGTGGATGCTGACGATGGTCATTTTGTGAGCATAGAGCTGGAGTAAGAGCTCTA
 AGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAG
 CTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGT
 CTTATATTTGAACAACATAAATGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATA
 TATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAAACAATCAACTTAACGT
 TATTAACATACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAAGTGGAGAG
 TTGTCGTTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCG
 CGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTGCGACAAGCTTGCATGCCGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTT
 GTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGG
 TAATATCCGGAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAA
 GGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGAC
 AGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTT
 CAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGA
 TACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAACCTCCTCGGA
 TTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCC
 ATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCC
 ACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAT
 ATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAA
 GTTCATTTTCAATTGGAGAGGTATTA AAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAA
 CCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGGCTGAGC
 GATCTTCAACGTTGTGAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTA
 TTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCGACGTCACTCCTCAGCCAAAACGACACCC
 CCATCTGTCTATCCACTGGCCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACTAACTCCATGGTGACCCCTGGGATGCCTGG
 TCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACAC
 CTTCCAGCTGTCTGCACTGTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGG
 CCCAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCCAACCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGC
 CCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCAATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCC
 AAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAG

Фиг. 17Е-2 (Продолжение)

GATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCC
 GGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAA
 TGGCAAGGAGACGTCCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCC
 TGGGGGCAATCAGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAAAGGCCTAT
 TTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAG
 AGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGA
 CACAAAAAGATTTTAAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGA
 CCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGA
 TTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTAT
 GAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGC
 GCAAAC TAGGATAAATATCGCGCGCGGTGTCACTATGTTACTAGATCTCTAGAGTCTCAAGCTTGGCG
 CGCCACGTGACTAGTGGCACTGGCCGTGTTTTACAACGTGCTGACTGGGAAAACCTGGCGTTACCCA
 ACTTAATCGCCTTGACGACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGC
 CCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGCTAGAGCAGCTTGAGCTTGGATCAGATTGTCGTTT
 CCCGCCCTCAGTTTAACTATCAGTGTTTGACAGGATATATTGGCGGGTAAACCTAAGAGAAAAGAGCGT
 TTA

Фиг. 17F

Конструкт 2835 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 55)

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAA
 GGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTG
 TCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
 GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGG
 AAAAAAGAACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACAC
 ACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAA
 AGGGTAATATCCGGAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGG
 AAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAACGTTCCAACCACG
 TCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTT
 CGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCAATTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTG
 AATAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAA
 CTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATG
 GCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCGG
 ATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAGGT
 CAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGAACA
 AGGACCAGAGGGAAACTATGCCCGGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGCCAA
 TGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTGAGACCTGTTACATCCGGGTG
 CTTTCTTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGGCAACTACCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAGATC
 AGGTTATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCTCAG
 GATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTGAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAA
 CTACAAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAAAAT
 ACTGTTTGGGGGTTCCATTTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAA
 AGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCAAAAC

Фиг. 17F-1 (Продолжение)

AGAAGACGGAGGACTACACAAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAAACA
GGAACAATTGTCTATCAAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGAGCAAAG
TAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAACAA
AAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTAAAAACACCT
TTGAAGCTTGCCAATGGAACCAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGC
ACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGCTAT
AAATAAGATAACAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGTGGT
GCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTA
TAAGCTCACAAATAGAACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAGACGAGCATCT
ATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAAACGGATGCTTC
GAAACCAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAAT
TTTCTCTCCCACTTTTGATTCAATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAACTA
CCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCAATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGT
TTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGA
ATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTT
ATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTGCTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAGATTTT
AATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTC
AAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTT
CTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTA
TGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAA
ATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

Фиг. 17G

Вектор клонирования 4499 слева направо Т-ДНК (SEQ ID NO: 56)

TGGCAGGATATATTGTGGTGTAACAAATTGACGCTTAGACAACCTAATAACACATTGCGGACGTTTTTA
ATGTACTGAATTAACGCCGAATCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAA
AGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT
ATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTT
GCAACATTTGAGAAAATTTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAG
AGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTAC
AAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGAC
GCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGATAAATTTATTTTAAA
ATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTT
GTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCATAG
AGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAA
AAAAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATA
ACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACA
TCTACATTTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCA
CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAACGAGCTATACAAGGAAACGACGCTAGCGAAC
AAGCTAACAGTGAACGTTGGGATGGAGGATCAGGAGGTACCACTTCTCCCTTCAAACCTTCCCTGACGAAAG
TCCGAGTTGGAAGTGGCGGCTACATAACGATGAGACGAATTCGAATCAAGATAATCCCTTGGTTTTTC
AAGGAAAGCTGGGGTTTTGGGAAAGTTGTATTTAAGAGATATCTCAGATACGACAGGACGGAAGCTTCAC

Фиг. 17G-1 (Продолжение)

TGCACAGAGTCCTTGGATCTTGGACGGGAGATTCCGGTTAACTATGCAGCATCTCGATTTTTCGGTTTCGA
 CCAGATCGGATGTACCTATAGTATTCGGTTTTCGAGGAGTTAGTATCACCGTTTCTGGAGGGTCGCGAACT
 CTTACAGCATCTCTGTGAGATGGCAATTCGGTCTAAGCAAGAACTGCTACAGCTTGCCCCAATCGAAGTGG
 AAAGTAATGTATCAAGAGGATGCCCTGAAGGTACTCAAACCTTCGAAAAAGAAAGCGAGTAAGTTAAAAAT
 GCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTAAATTTTGTTCCTGTAGAAGAGCTTAATTAA
 TCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAG
 TCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCTACAATTGTCTTATATTT
 GAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAA
 GTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACATA
 CTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGCCTAGGAGA
 TTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCG
 CGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTGACACGCGTGGCGCGCCCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAA
 CTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTA
 CTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTT
 GACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGA
 GAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTA
 CCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAA
 ATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAATAAGAAAGAA
 TAAATTATTTTTAAAAATTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAG
 AGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTA
 TATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATA
 TTAATCCCTCCAAAAAACCGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGAT
 CCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCCA
 CGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAA
 TCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACA
 CATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAGTCTTCTAACCAGAGGTG
 AAACGCCTATCAGAAACGAATGGGGGTGCAGATGCAACGATTCAAGTGATCCTCTTGTTGTTGCCGCAAG
 TATAATTGGGATTGTGCACCTGATATTGTGGATTATTGATCGCCTTTTTTCCAAAAGCATTTATCGTATC
 TTTAAACACGGTTTAAAAAGAGGGCCTTCTACGGAAGGAGTACCAGAGTCTATGAGGGAAGAATATCGAG
 AGGAACAGCAGAATGCTGTGGATGCTGACGATGGTCATTTTGTGAGCATAGAGCTGGAGTAAGAGCTCTA
 AGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTAAATTTTGTTCCTGTAGAAGAG
 CTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCTACAATTGT
 CTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATA
 TATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGT
 TATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAACTAGGAGA
 TTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCG
 CGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTGACAAAGCTTGCATGCCGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTT
 GTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGG
 TAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGAAAAA
 GGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGAC
 AGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTT
 CAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGA
 TACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGA
 TTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGAAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCC
 ATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCC

Фиг. 17G-2 (Продолжение)

ACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGCTTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAT
 ATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCCTTCCTCTATATAAGGAA
 GTTCATTTTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAA
 CCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGC
 GATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTA
 TTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCGACGTCACCTCCTCAGCCAAAACGACACCC
 CCATCTGTCTATCCACTGGCCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACCTAACTCCATGGTGACCCCTGGGATGCCTGG
 TCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACAC
 CTTCCCAGCTGTCTGCACTGTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCCTCCAGCACCTGG
 CCCAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCACCCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGC
 CCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCC
 AAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAG
 GATGATCCCAGGTCAGTTTCAGCTGGTTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCC
 GGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAA
 TGGCAAGGAGACGTCCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCC
 TGGGGGCAATCAGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAAAGGCCTAT
 TTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAG
 AGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTTCCTCCCTTCAGCAAGGA
 CACAAAAAGATTTTAATTTTATTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTT
 GCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAAT
 GCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCAGCAATTATACATTTAATACGCGATAGA
 AAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAAATTATCGCGCGCGGTGTCACTATGTTACTAGATCTCTAG
 AGTCTCAAGCTTGGCGCGCCACGTGACTAGTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAA
 ACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGA
 GGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGCTAGAGCAGCTTGAGCTTG
 GATCAGATTGTCTGTTTCCCGCCTTCAGTTTAACTATCAGTGTTTGACAGGATATATTGGCGGGTAAACC
 TAAGAGAAAAGAGCGTTTA

Фиг. 17H

Конструкт 8352 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 57)

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAA
 GGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCATTGCCAGCTATCTG
 TCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
 GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGG
 AAAAAGAAGACGTTCCAACCACGCTTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACAC
 ACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAA
 AGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGG
 AAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACG
 TCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTT
 CGCAAGACCCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCAATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTG
 ATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAA
 CTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATG

Фиг. 17Н-1 (Продолжение)

GCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCGG
 ATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAGGT
 CAATGTGACTGGCGTGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGAACA
 AGGACCAGAGGGAAACTATGCCCGGACTGTCTCAACTGTACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGGCCAA
 TGTGTGTGGGGACCACACCTTCTGCTAAAGCTTCAATACTCCATGAGGTGAGACCTGTTACATCCGGGTG
 CTTTCCTATAATGCACGACAGAACAATAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAAGATC
 AGGTATATCAACCCAAAACGTTATCGATGCAGAAAAAGCACCAGGAGGACCTTACAGACTTGGAACCGCCG
 GATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAAATCGGATTTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAA
 CTACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTGGAAGTACCATAACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAAAT
 ACTGTTTGGGGGTTCATTCGGATAACAAAACCCAAATGAAGAGCCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAA
 AGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACGCATTATGTTTCTCAGATTGGCGACTTCCCAGATCAAAC
 AGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAACCTGGGAAAAACA
 GGAACAATTGCTATCAAGGGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCAGAGTGGCAGGAGCAAAAG
 TAATAAAAGGGTCATTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAGAATACGGTGGATTAAACAA
 AAGCAAGCCTTACTACACAGGAAAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCAATATGGGTAAAAACACCT
 TTGAAGCTTGCCAATGGAACCAATATAGACCTCCTGGTGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTGGC
 ACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGCTAT
 AAATAAGATAACAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAAGTAAAGAACCTTCAAAGACTAAGTGGT
 GCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTA
 TAAGCTCACAAATAGAAGTTCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAGACGAGCATCT
 ATTTGGCACTTGAGAGAAAATAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGAAACGGATGCTTC
 GAAACCAACACAAATGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAAT
 TTTCTCTCCCACTTTTGATTCAATTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAACTA
 CCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGCAATCAGT
 TTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGTATTTAAAGGCCTATTTCTTTAGTTTGA
 ATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGGAGCGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTATTTT
 ATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTGCTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTT
 AATTTTATTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGAT
 GATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTT
 ATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGC
 GCGCAAACCTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

Фиг. 17I

Конструкт 7281 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 58)

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAA
 GGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTG
 TCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
 GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGG
 AAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACAC
 ACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAA
 AGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTPAAGATAGTGG
 AAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACG

Фиг. 17I-1 (Продолжение)

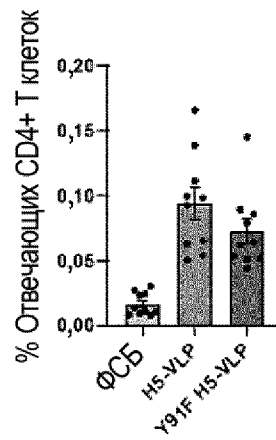
TCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCCTATCCTT
CGCAAGACCCCTTCCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTTCAATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTG
ATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAA
CTTCTCTCTTGTCTTTCTTTCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATG
GCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCGC
AAAAAATCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAAC
GATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCCTCA
ATAGGTGAAATATGCGACAGTCCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAAGTGCACACTAATAGATGCTCTAT
TGGGAGACCCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTTGTGTAACGAAAACAAAGCCTA
CAGCAACTGTTACCCCTTATGATGTGCCGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACA
CTGGAGTTTTAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAACGGAACAAGTTCTTCTTGCATAA
GGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGCATT
AAACGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACG
GACAAGGACCAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCCAAC
AAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTATTG
GACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTAC
TTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTGAAT
GCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGGGGC
CTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGACAA
ACTAGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGT
ACGGCTTCAGGCATCAAATTTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAAT
CGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAA
GAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTTCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATCTCT
GGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAAT
GAACAAACTGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTC
AAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACAACGTAT
ACAGGGATGAAGCATTAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGATTG
GATCCTATGGATTTCCCTTTGCCATATCATCCCTTGTAAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATGTGG
GCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTAC
TGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAA
TTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTT
ATTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTAT
CATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGA
TGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAA
ACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

Фиг. 17J

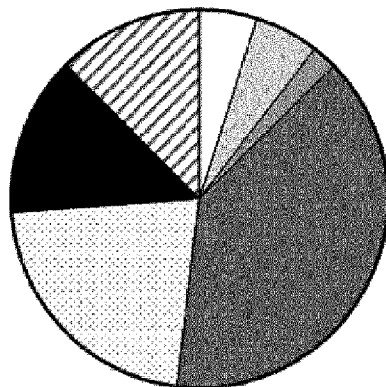
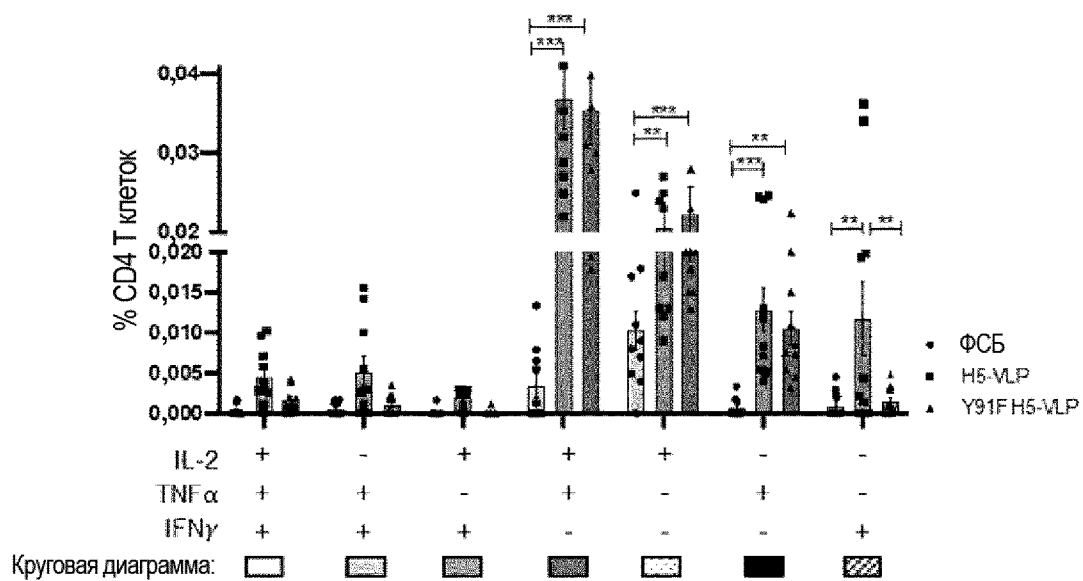
Конструкт 8179 с 2X35S промотора до терминатора NOS (SEQ ID NO: 59)

ГТСААКАТGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAA
 GGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTG
 TCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
 GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGG
 AAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACAC
 АСТTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAA
 AGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGG
 AAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACG
 TCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTT
 CGCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAATACTTAATAGGTTTTG
 АТАААAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAA
 CTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATG
 GCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCGC
 АААААТCCCTGGAAATGACAATAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAACCGGAAC
 GATAGTGAAAACAATCACGAATGACCGAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAATTCCTCA
 АТАGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAACTGCACACTAATAGATGCTCTAT
 TGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTTCAAATAAGAAATGGGACCTTTTGTGTAACGAAACAAAGCCTA
 CAGCAACTGTTTTCCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACA
 CTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCAATTGGGCTGGAGTCACTCAAACCGGAACAAGTTCTTCTTGCATAA
 GGGGATCTAAGAGTAGTTTCTTTAGTAGATTAAATTGGTTGACCCACTTAAACTCCAAATACCCAGCATT
 AAACGTGACTATGCCAAACAATGAACAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTACCACCCGGGTACG
 GACAAGGACCAAAATCAGCCTGTATGCACAATCATCAGGAAGAATCACAGTATCTACCAAAAAGAAGCCAAC
 AAGCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGGATATCCCTAGCAGAATAAGCATCTATTG
 GACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTAC
 TTCAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAAGTCTGAAT
 GCATCACTCCAAATGGAAGCATTTCCCAATGACAAACCATTCCAAATGTAAACAGGATCACATACGGGGC
 CTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAGCACTCTGAAATTGGCAACAGGAATGCGAAATGTACCAGAGAGACAA
 АСТАGAGGCATATTTGGCGCAATAGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGT
 АCGGCTTCAGGCATCAAATTTCTGAGGGAAGAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAAT
 CGATCAAATCAATGGGAAGCTGGCTCGAGTTATCGGGAACCAACGAGAAATTCCATCAGATTGAAAAA
 GAATTCTCAGAAGTAGAAGGGAGAATTACAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACAAAAATAGATCTCT
 GGTCAACAACGCGGAGCTTCTTGTGGCCCTGGAGAACCAACATACAATGATCTAACTGACTCAGAAAT
 GAACAAACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTC
 ААААТАТАCCACAAATGTGACAATGCCTGCATGGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACAACGTAT
 ACAGGGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGAGTTGAGCTGAAGTCAGGGTACAAAGATTG
 GATCCTATGGATTTCCCTTTGCCATATCATCCCTTGTACTGTTAGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATGTGG
 GCCTGCCAAAAGGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTAC
 TGTTATTTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAA
 TTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCTGCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTT
 ATTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTAT
 CATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGA
 TGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAA
 АСТАGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

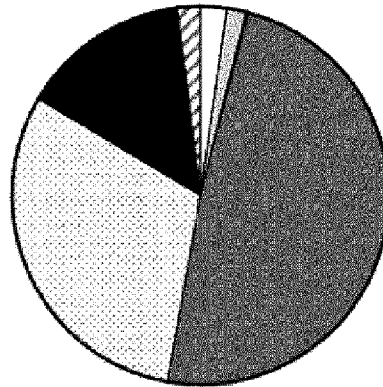
Фиг. 18А



Фиг. 18В

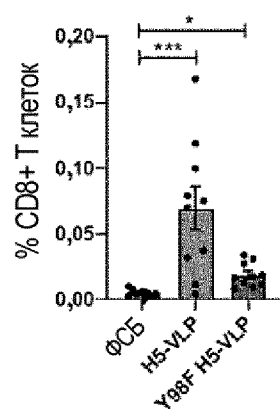


H5-VLP

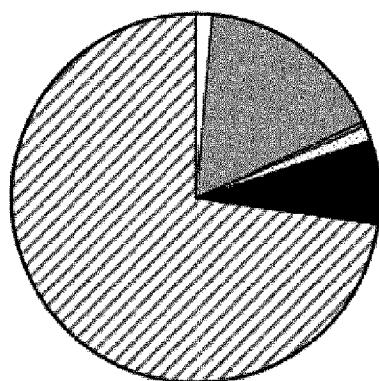
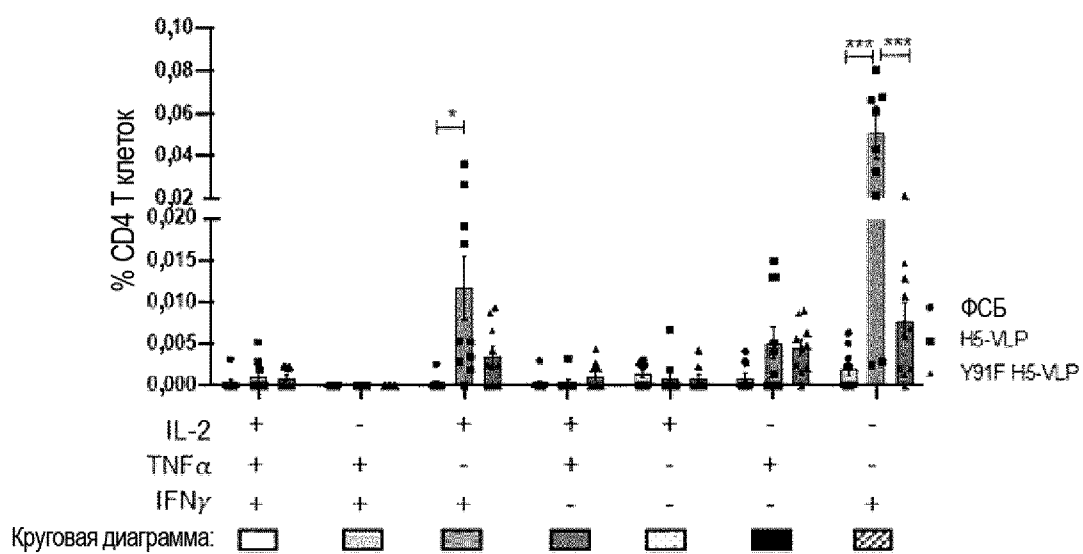


Y91F H5-VLP

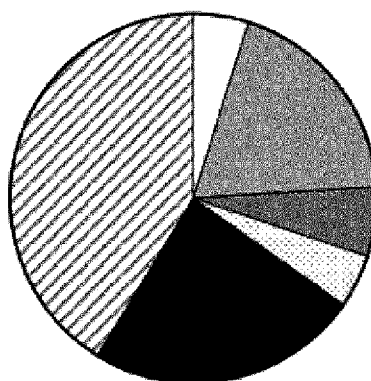
Фиг. 18С



Фиг. 18D

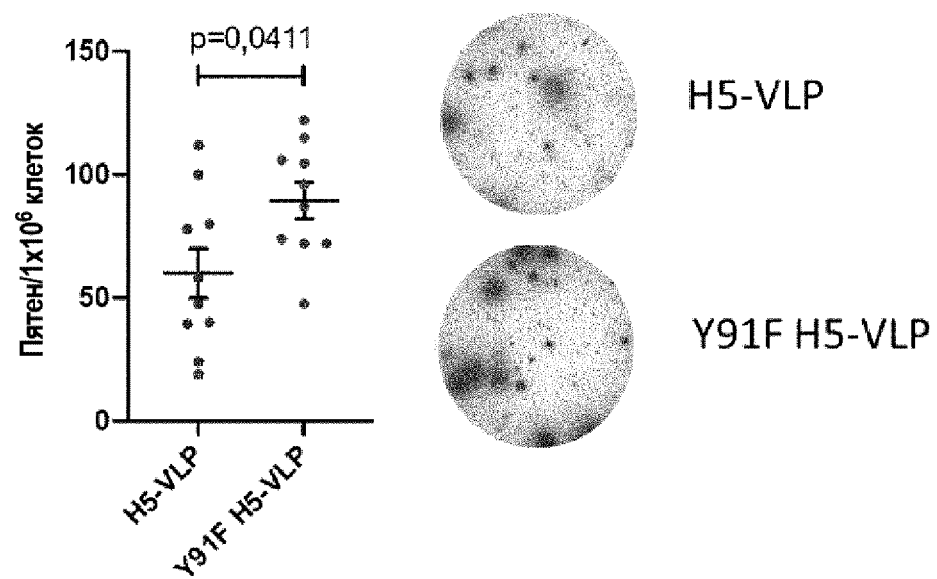


H5-VLP

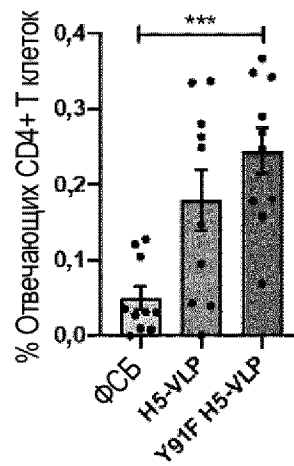


Y91F H5-VLP

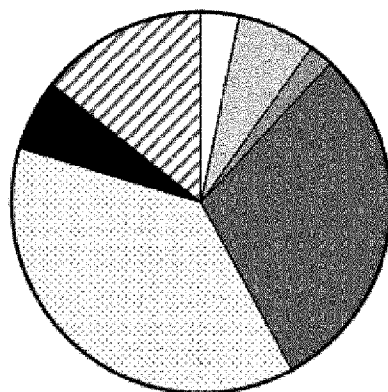
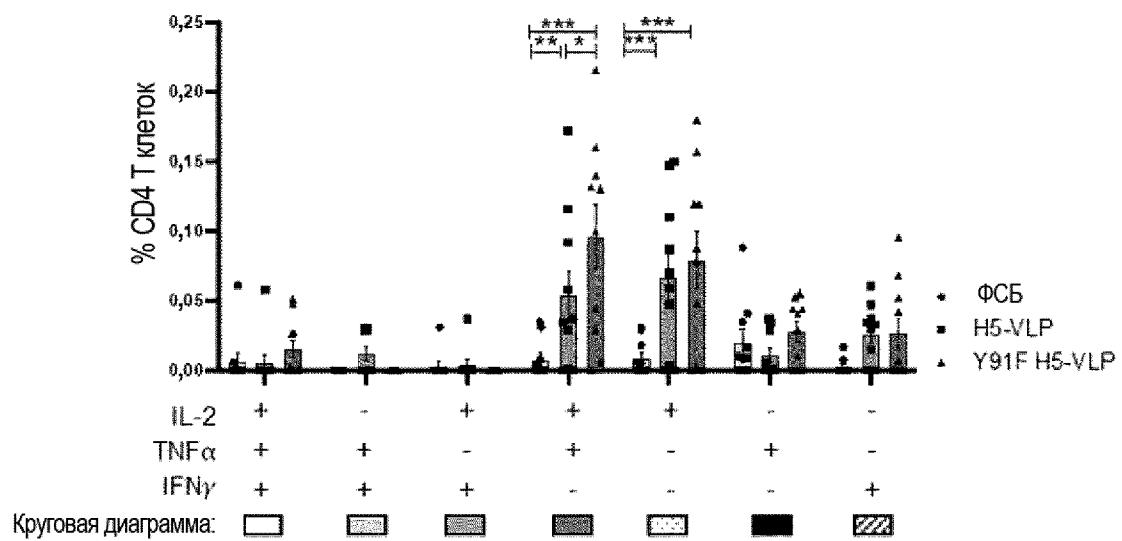
Фиг. 18Е



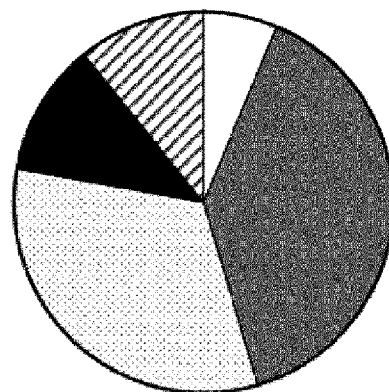
Фиг. 18F



Фиг. 18G

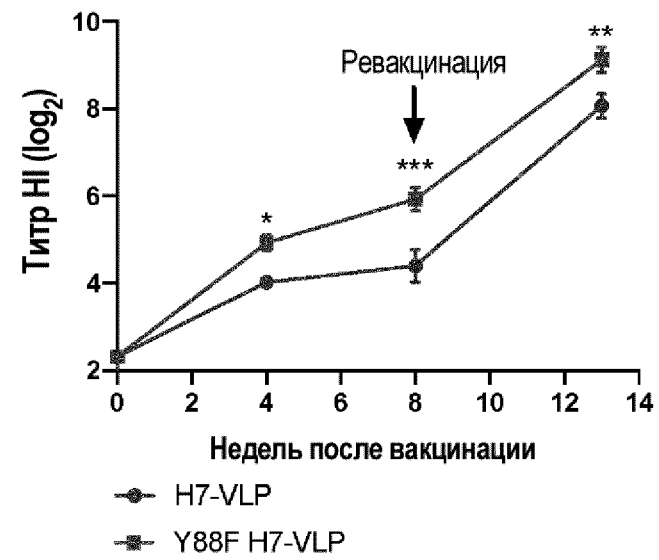


H5-VLP

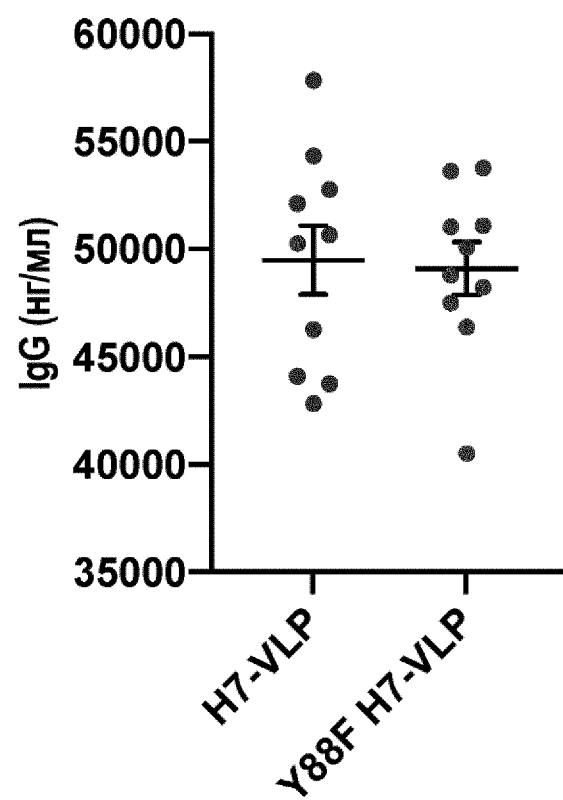


Y91F H5-VLP

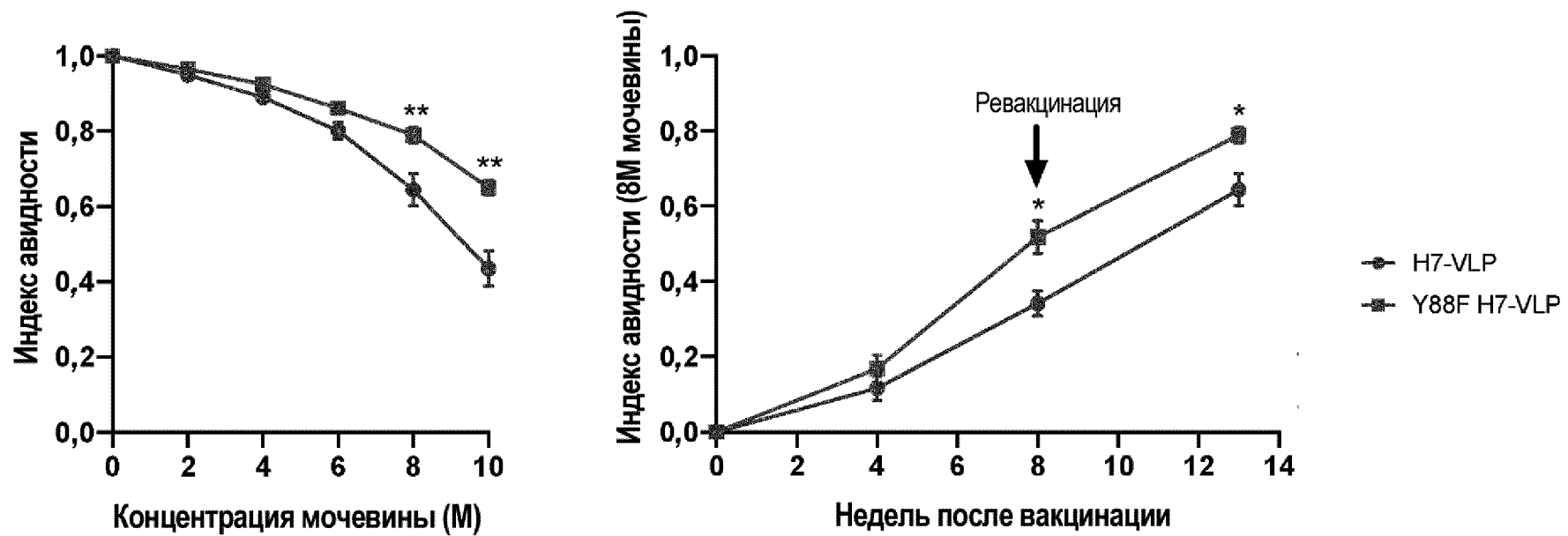
Фиг. 19А



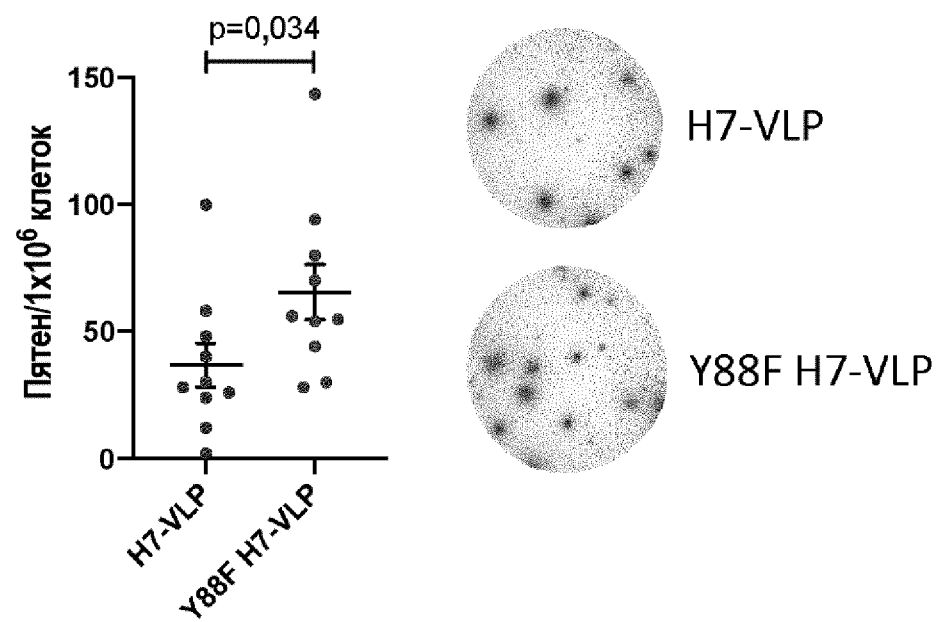
Фиг. 19В



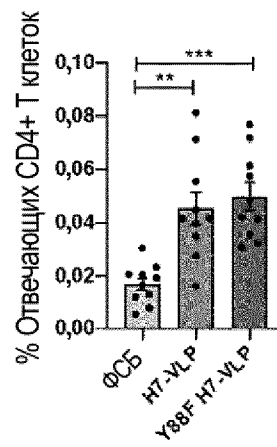
Фиг. 19С



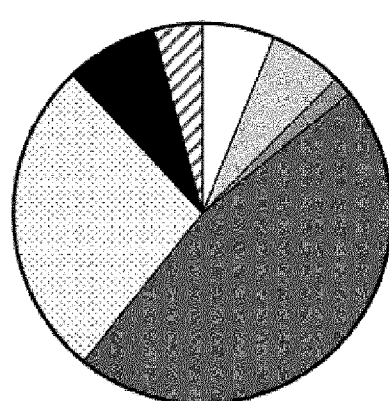
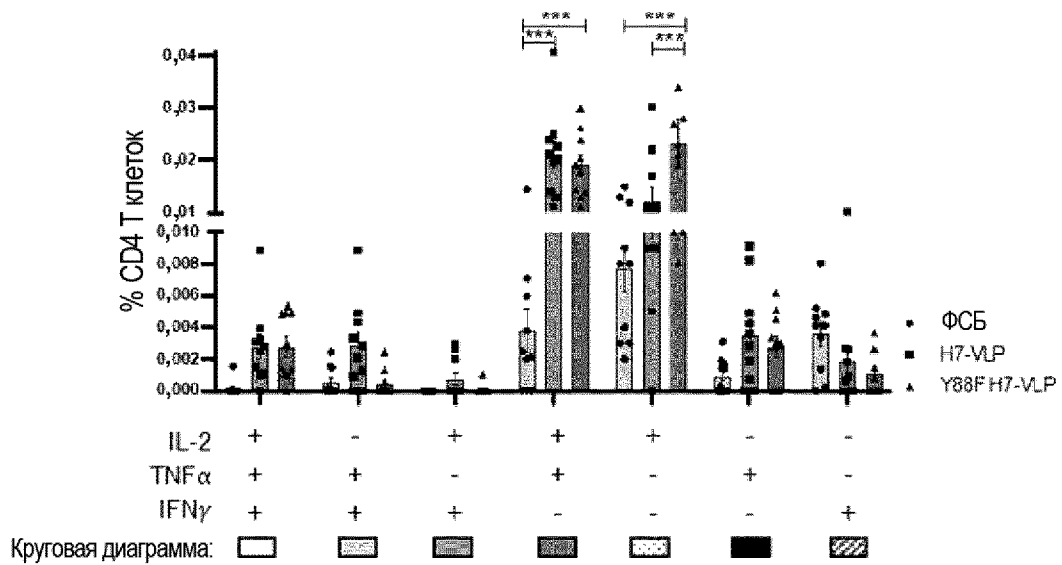
Фиг. 19D



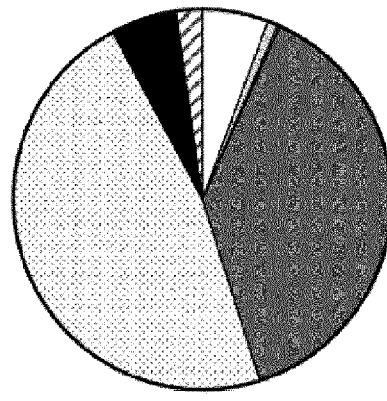
Фиг. 19Е



Фиг. 19F

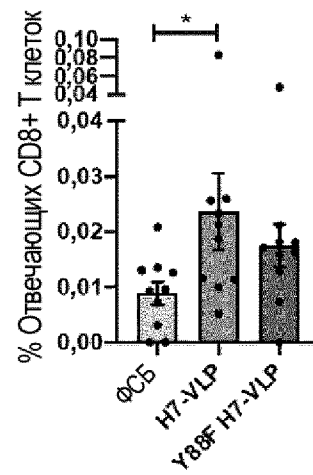


H7-VLP

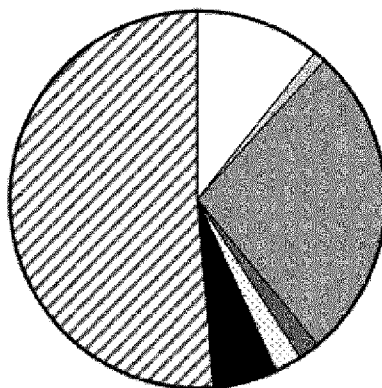
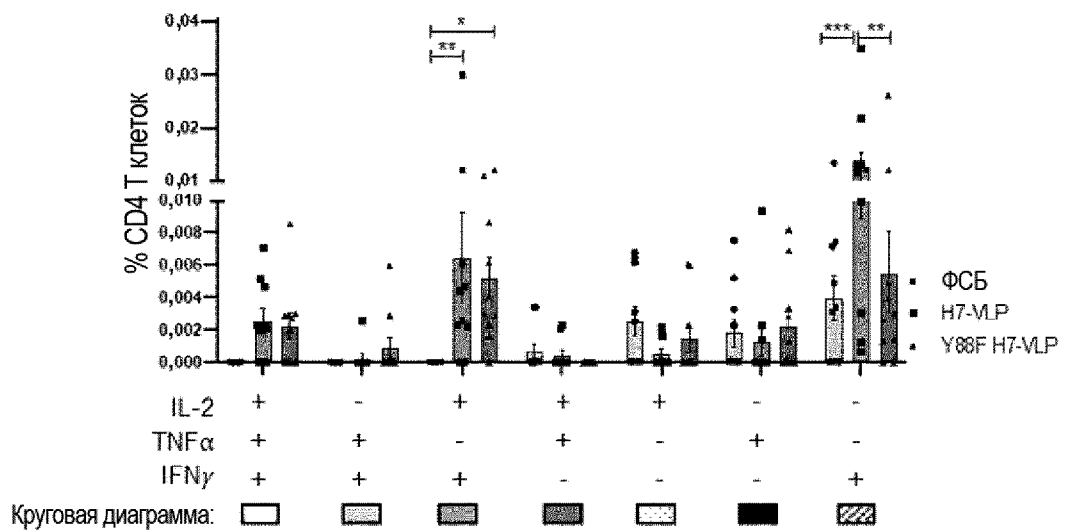


Y88F H7-VLP

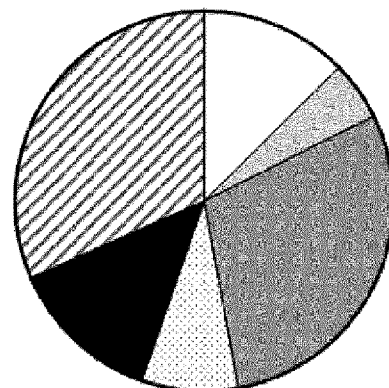
Фиг. 19G



Фиг. 19H

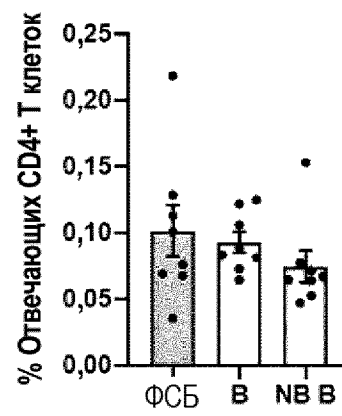


H7-VLP

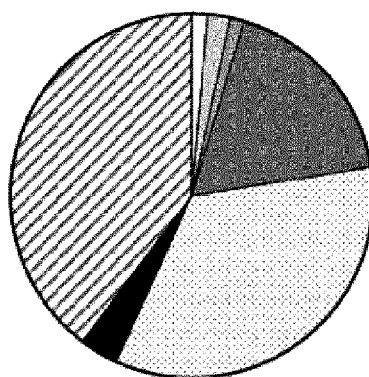
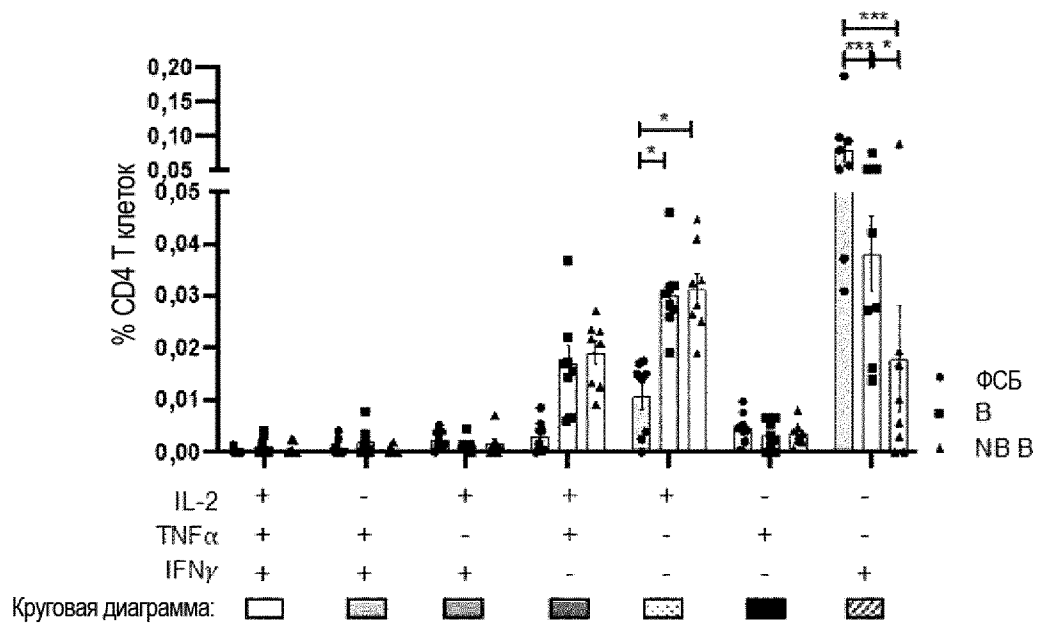


Y88F H7-VLP

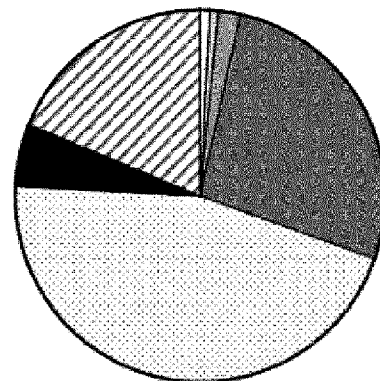
Фиг. 20А



Фиг. 20В



B-VLP



NB B-VLP