

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293196** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.03.03

(22) Дата подачи заявки
2021.05.05

(51) Int. Cl. *A61K 35/76* (2015.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
C07K 14/005 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

(54) **МЕЖВИДОВЫЕ СОВМЕСТИМЫЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЕ ВИРУСНЫЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **63/020,062**

(32) **2020.05.05**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/030937**

(87) **WO 2021/226267 2021.11.11**

(88) **2021.12.16**

(71) Заявитель:

ДЬЮК ЮНИВЕРСИТИ (US)

(72) Изобретатель:

**Асокан Аравинд, Гонсалес Тревор,
Хэвлик Лоуренс Патрик (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к векторам аденоассоциированного вируса (AAV), включающим совместно эволюционировавшие капсидные варианты белков; к фармацевтическим композициям; к способам их получения и к способам их доставки индивидууму.

A1

202293196

202293196

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576482EA/061

МЕЖВИДОВЫЕ СОВМЕСТИМЫЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЕ ВИРУСНЫЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Заявление о поддержке Федерального правительства

[001] Настоящее изобретение было осуществлено при поддержке Федерального правительства в соответствии с грантами № R01HL089221 и UG3AR075336, выданными Национальным Институтом Здравоохранения. Федеральное правительство имеет определенные права на это изобретение.

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[002] По этой заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США с регистрационным номером 63/020062, поданной 5 мая 2020 г, содержание которой в полном объеме включено в настоящее описание посредством ссылки.

Область изобретения

[003] Настоящее изобретение относится к модифицированным капсидным белкам аденоассоциированного вируса (AAV) и к вирусным капсидам и вирусным векторам, содержащим эти белки. В частности, настоящее изобретение относится к модифицированным капсидным белкам AAV и к содержащим их капсидам, которые могут быть включены в вирусные векторы для обеспечения экспрессии этих белков в клетках или тканях любого типа у млекопитающего.

Включение списка последовательностей, поданного в электронном виде посредством ссылки

[004] Настоящая заявка подана вместе со списком последовательностей, который в полном объеме представлен в электронном формате посредством ссылки. Электронный файл под названием 21-2066-WO_SequenceListing_ST25.txt имеет размер 611 килобайт.

Предпосылки к созданию изобретения

[005] Векторы аденоассоциированного вируса (AAV) стали ведущей платформой для генотерапии, применяемой для лечения различных заболеваний. Несмотря на клинический успех генотерапии на основе AAV, ограничения и проблемы, связанные с использованием этой платформы для доставки генов, остаются актуальными. Так, например, эффективность генотерапии векторами (вирусными или невирусными) иногда снижается из-за иммунного ответа индивидуума на вектор, несущий ген. Кроме того, способы введения должны быть оптимизированы для обеспечения доставки в одну или более тканей-мишеней у индивидуума. Это особенно важно при лечении заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) и периферической нервной системы (ПНС). При системном введении, гематоэнцефалический барьер может препятствовать проведению терапии на основе AAV для ЦНС, а прямое введение в ткани ЦНС может быть осуществлено посредством инвазивных операций. Кроме того, высокие дозы терапии на основе AAV, необходимые для обеспечения достаточной трансдукции тканей-мишеней ЦНС и ПНС, повышают риск побочных эффектов и/или нежелательных иммунных

ответов. Кроме того, необходимость получения высоких доз AAV создает производственные трудности.

[006] Каждый из известных серотипов AAV обладает специфическим тропизмом к тканям, и существуют некоторые ткани (например, почки), на которые нелегко воздействовать с помощью этих AAV. Кроме того, трансдукция AAV в системные органы, такие как сердце, печень или легкие, может значительно различаться для данной дозы у различных организмов-моделей, используемых во время клинических исследований у животных (например, у собак, свиней, приматов, не являющихся человеком) и у людей. Такая невозможность точно протестировать терапию на основе AAV на животных-моделях до ее применения для лечения человека также создает определенные проблемы.

[007] Поскольку область применения переноса генов AAV расширилась, включая применение генотерапии для лечения расстройств ЦНС и/или ПНС, то остается потребность в устранении различий в тропизме AAV у различных видов. Эти различия часто приводят к нелинейным отношениям биораспределения дозы вектора при масштабировании от мелких до крупных животных-моделей, что впоследствии влияет на клиническую трансформацию. Таким образом, все еще существует неудовлетворенная потребность в разработке платформ доставки генов AAV с большей транслятивностью для нескольких видов. Кроме того, существует необходимость в разработке генотерапии на основе AAV, способной избирательно и специфически воздействовать на представляющие интерес ткани-мишени, включая ткани, которые трудно поддаются воздействию с использованием известных серотипов AAV.

Краткое описание сущности изобретения

[008] Настоящее изобретение относится, по меньшей мере частично, к способам и композициям, которые содержат капсидный белок аденоассоциированного вируса (AAV), включающий одну или более аминокислотных замен, где такие замены вводят в вектор AAV, содержащий эти модифицированные капсидные белки, и которые обладают одним или несколькими улучшенными функциональными свойствами, такими как, но не ограничиваемыми ими, способность «ускользать» от антител хозяина, селективный тропизм и/или более высокая эффективность трансдукции.

[009] В одном из своих аспектов, настоящее изобретение относится к рекомбинантным векторам AAV, содержащим вариант капсидного белка AAV, раскрытый в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантные векторы AAV могут содержать вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка содержит пептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантные векторы AAV согласно изобретению содержат вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка имеет последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантные

векторы AAV согласно изобретению могут содержать вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[0010] В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантные векторы AAV согласно изобретению содержат вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка имеет последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28; и где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[0011] В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантные векторы AAV согласно изобретению могут содержать вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, которая по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентична этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантные векторы AAV согласно изобретению содержат вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, в которую было введено 1-10, 11-20, 20-30 или 30-50 аминокислотных замен.

[0012] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к раскрытым здесь вариантам капсидного белка AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению содержат пептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19.

[0013] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению имеют последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению имеют последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[0014] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению могут иметь последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, могут быть заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28; и где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, могут быть заменены пептидом,

имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[0015] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению могут иметь последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, идентичную этой последовательности по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, в которую было введено 1-10, 11-20, 20-30 или 30-50 аминокислотных замен.

[0016] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим любой из вариантов капсидного белка AAV и/или векторов AAV, раскрытых в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, фармацевтические композиции согласно изобретению могут дополнительно содержать по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

[0017] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к способам введения рекомбинантного вектора AAV в клетку-мишень. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения рекомбинантного вектора AAV в клетку-мишень согласно изобретению могут включать контактирование клетки-мишени с любым из рекомбинантных векторов AAV (например, ssAAV) и/или с фармацевтическими композициями, раскрытыми в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению могут обеспечивать доставку одной или более терапевтических гетерологичных молекул в клетку-мишень индивидуума, где указанные способы включают введение индивидууму любого из рекомбинантных векторов AAV (например, ssAAV) и/или фармацевтических композиций, раскрытых в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, любой из рекомбинантных векторов AAV (например, ssAAV) и/или фармацевтических композиций, раскрытых в настоящей заявке, может быть введен индивидууму посредством внутримышечной инъекции, внутривенной инъекции, внутрикоронарной инъекции, внутриаартериальной инъекции или любой их комбинации.

[0018] В другом своем аспекте, настоящее изобретение относится к способам эволюционного создания новых штаммов аденоассоциированных вирусов, включающим пассирование капсидных библиотек AAV в клетках млекопитающих множества видов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, в способах согласно изобретению могут быть использованы капсидные библиотеки AAV, содержащие капсиды AAV, упаковывающие различные геномы, кодирующие мутагенизированные последовательности генов капсида. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут обеспечивать введение капсидных библиотек AAV согласно изобретению *Mus Musculus* (мышам), *Sus scrofa* (свиньям), *Canis Familiaris* (собакам), приматам, не являющийся человеком (*Macaca*, макакам) или *Homo sapiens* (человеку), и введение таких библиотек в любой комбинации или введение повторяющимися циклами. В некоторых вариантах осуществления изобретения,

описанные здесь способы позволяют обогащать последовательности капсидных белков аденоассоциированного вируса (AAV) посредством пассирования капсидных библиотек AAV в соответствии с описанными здесь способами. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению позволяют обогащать последовательности, кодирующие варианты капсидного белка согласно изобретению, посредством экстракции вариантов капсидного белка AAV из клеток, собранных или полученных из группы тканей, состоящих из клеток спинного мозга (например, глиальных клеток, нейронов, эндотелиальных клеток), клеток спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы, описанные в настоящей заявке, могут обеспечивать продуцирование вариантов капсидного белка AAV, раскрытых в настоящей заявке, с повышенной эффективностью переноса генов у млекопитающих любых видов, выбранных из группы, состоящей из: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макак) или *Homo sapiens* (человека), и продуцирование таких вариантов в любой комбинации или повторяющимися циклами. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы, описанные в настоящей заявке, могут обеспечивать продуцирование вариантов капсидного белка AAV, раскрытых в настоящей заявке, с повышенной эффективностью переноса генов в клетки или ткани любого типа, выбранные из группы, состоящей из клеток или тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы, описанные в настоящей заявке, могут обеспечивать продуцирование вариантов капсидного белка AAV, раскрытых в настоящей заявке, с повышенным иммунным ответом в клетках или тканях любого типа, выбранных из группы, состоящей из клеток или тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы, описанные в настоящей заявке, могут обеспечивать продуцирование вариантов капсидного белка AAV, раскрытых в настоящей заявке, с повышенным тропизмом в клетках или тканях любого типа, выбранных из группы, состоящей из клеток или тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации.

[0019] В одном из своих аспектов, настоящее изобретение относится к наборам, где указанный набор может содержать любые из композиций или векторов AAV, раскрытых в настоящей заявке, и по меньшей мере один контейнер.

Краткое описание чертежей

[0020] Нижеследующие чертежи составляют часть настоящего описания и

включены для дополнительной иллюстрации определенных аспектов настоящего изобретения, которые приводятся для лучшего понимания настоящего изобретения в сочетании с подробным описанием конкретных вариантов осуществления изобретения, представленных в настоящей заявке.

[0021] На фиг. 1А и 1В представлены диаграммы в виде пузырьков, где проиллюстрирован анализ на разнообразие библиотек, направленную эволюцию и обогащение AAV, содержащих капсидные белки с новыми пептидными заменами, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Родительские (фиг. 1А) и эволюционные библиотеки из трех циклов (фиг. 1В) были подвергнуты крупномасштабному секвенированию с использованием платформы Illumina MiSeq. После анализа с использованием специально разработанной программы Perl были построены графики для обогащенных аминокислотных последовательностей. Каждый пузырек представляет собой отдельную аминокислотную последовательность капсидного белка с радиусом пузырька, пропорциональным количеству ридов для этого варианта в соответствующей библиотеке. На оси Y отложен процент от общего числа ридов цикла секвенирования. Данные были отложены на оси X для удобства визуализации. Процентное снижение уникальных клонов (96,5%) прямо свидетельствует об удалении многочисленных «неподходящих» последовательностей после первого и/или второго раунда эволюции. Для дальнейшего анализа были отобраны доминирующие изоляты. Как показано на фиг. 1В, секвенирование следующего поколения показало, что капсидный белок AAVcc47 представляет собой наиболее богатую аминокислотную последовательность (то есть, клон) в библиотеках AAV VR4 после трех циклов эволюции у трех различных видов.

[0022] На фиг. 2А-2D проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в сердце мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию mCherry в срезах вибратома сердца через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 2А) или AAV.cc47 (фиг. 2В). На фиг. 2С показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений. На фиг. 2D показан график, изображающий биораспределение вектора в сердце инфицированных мышей.

[0023] На фиг. 3А-3С проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в скелетной мышце мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию mCherry в срезах вибратома скелетной мышцы через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 3А) или AAV.cc47 (фиг. 3В). На фиг. 3С показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0024] На фиг. 4А-4D проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в печени мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления

изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию mCherry в срезах вибратома печени через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 4A) или AAV.cc47 (фиг. 4B). На фиг. 4C показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений. На фиг. 4D показан график, изображающий биораспределение вектора в печени инфицированных мышей.

[0025] На фиг. 5A-5C проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в почках мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию mCherry в срезах вибратома почек через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 5A) или AAV.cc47 (фиг. 5B). На фиг. 5C показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0026] На фиг. 6A-6D проиллюстрирована экспрессия репортерного гена GFP в сердце мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию GFP в срезах вибратома сердца через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 6A), или AAV.cc81 (фиг. 6B), или AAV.cc84 (фиг. 6C). На фиг. 6D показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0027] На фиг. 7A-7C проиллюстрирована экспрессия репортерного гена GFP в скелетной мышце мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию GFP в срезах вибратома скелетной мышцы через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV 9 (фиг. 7A) или AAV.cc81 (фиг. 7B). На фиг. 7C показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0028] На фиг. 8A-8D проиллюстрирована экспрессия репортерного гена GFP в печени мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию GFP в срезах вибратома печени через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 8A), или AAV.cc481 (фиг. 8B) или AAV.cc84 (фиг. 8C). На фиг. 8D показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0029] На фиг. 9A-9C проиллюстрирована экспрессия репортерного гена GFP в почках мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии показывают экспрессию GFP в срезах вибратома почек через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 (фиг. 9A) или AAV.cc81 (фиг. 9B). На фиг. 9C показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии

нескольких изображений.

[0030] На фиг. 10А-10Е проиллюстрирована экспрессия флуоресцентного репортера, оцененная с помощью иммуногистохимического анализа (ИГХ) в областях головного мозга мышей C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 10А показаны области головного мозга мыши, которая была ложно инфицирована, на фиг. 10В показаны области головного мозга мыши, инфицированной векторами AAV9, на фиг. 10С показаны области головного мозга мыши, инфицированной AAV.cc47, на фиг. 10D показаны области головного мозга мыши, инфицированной AAV.cc81, а на фиг. 10Е показаны области головного мозга мыши, инфицированной AAV.cc84. Показанные области головного мозга включают: Ctx=кора головного мозга; Hc=гиппокамп; Сb=мозжечок; Th=таламус; Str=полосатое тело; и mb=грибовидное тело.

[0031] На фиг. 11А-11G проиллюстрирована трансдукция AVV.cc47, оцененная с помощью иммуногистохимического анализа (ИГХ) в областях головного мозга свиньи в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 11А показано ИГХ-окрашивание на mCherry в коре лобной доли головного мозга свиньи. На фиг. 11В показано ИГХ-окрашивание на mCherry в коре теменной области головного мозга свиньи. На фиг. 11С показано ИГХ-окрашивание на mCherry в таламусе теменной области головного мозга свиньи. На фиг. 11D показано ИГХ-окрашивание на mCherry в коре затылочной области головного мозга свиньи. На фиг. 11Е показано ИГХ-окрашивание на mCherry в стволе головного мозга свиньи. На фиг. 11F показано ИГХ-окрашивание на mCherry в мозжечке свиньи. На фиг. 11G показано ИГХ-окрашивание на mCherry в среднем мозге свиньи.

[0032] На Фиг. 12А-12G проиллюстрирована трансдукция AVV.cc47, оцененная с помощью иммуногистохимического анализа (ИГХ) в областях головного мозга свиньи в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 12А показано ИГХ-окрашивание на GFP в коре лобной доли головного мозга свиньи. На фиг. 12В показано ИГХ-окрашивание на GFP в коре теменной области головного мозга свиньи. На фиг. 12С показано ИГХ-окрашивание на GFP в таламусе теменной области головного мозга свиньи. На фиг. 12D показано ИГХ-окрашивание на GFP в коре затылочной области головного мозга свиньи. На фиг. 12Е показано ИГХ-окрашивание на GFP в стволе головного мозга свиньи. На фиг. 12F показано ИГХ-окрашивание на GFP в мозжечке свиньи. На фиг. 12G показано ИГХ-окрашивание на GFP в среднем мозге свиньи.

[0033] На фиг. 13А-13F проиллюстрирована трансдукция AAV.cc47 и AVV.cc84 в спинном мозге свиньи в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Срез спинного мозга свиньи подвергали ИГХ-окрашиванию на AVV.cc47 (фиг. 13А) и AVV.cc84 (фиг. 13В) в ткани. Флуоресценцию mCherry оценивали в белом веществе (фиг. 13С) и в сером веществе (фиг. 13Е) для определения присутствия AVV.cc47. Флуоресценцию GFP оценивали в белом веществе (фиг. 13D) и в сером веществе (фиг. 13FE) для анализа на присутствие AVV.cc84.

[0034] На фиг. 14А-14F проиллюстрирована трансдукция AAV.cc47 и AVV.cc84 в

сердце и в печени свиньи в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Трансдукцию AVV.cc47 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на mCherry в левом желудочке сердца свиньи (фиг. 14A), в правом желудочке сердца свиньи (фиг. 14B) и в печени (фиг. 14C). Трансдукцию AVV.cc84 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на GFP в левом желудочке сердца (фиг. 14D), в правом желудочке сердца (фиг. 14E) и в печени свиньи (фиг. 14F).

[0035] На фиг. 15A-15E проиллюстрирована трансдукция AAV9 и AAV.cc47 в сердце и печени приматов, не являющихся человеком, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Трансдукцию AVV9 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на mCherry в печени (фиг. 15A) и в сердце (фиг. 15C) приматов, не являющихся человеком. Трансдукцию AVV.cc47 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на mCherry в печени (фиг. 15B) и в сердце (фиг. 15D) приматов, не являющихся человеком. На фиг. 15E показано биораспределение рекомбинантных AAV у приматов, не являющихся человеком.

[0036] На фиг. 16A-16D проиллюстрирована трансдукция AAV9, AAV.cc47 и AAV.cc84 в головном мозге приматов, не являющихся человеком, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Трансдукцию AVV9 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на mCherry (фиг. 16B), трансдукцию AAV.cc47 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на mCherry (фиг. 16C), а трансдукцию AAV.cc84 оценивали посредством ИГХ-окрашивания на GFP (фиг. 16D) в головном мозге приматов, не являющихся человеком. На фиг. 16A показан срез головного мозга контрольного примата, не являющегося человеком, которому была сделана ложная инъекция.

[0037] На фиг. 17A-17E проиллюстрировано подтверждение трансдукции AAVcc47 в сердце в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 17A показаны кардиомиоциты iPSC человека, трансдуцированные AAV9 или cc47, упаковывающими GFP, находящийся под контролем промотора Cbh. На фиг. 17B показано количественное определение процента площади GFP+ на нескольких изображениях (фиг. 17A). На фиг. 17C показаны AAV9 или AAVcc47, упаковывающие CBh:GFP, и инъектированные внутривенно мышам-моделям с очагом заболевания сердца, характерного для человека. На фиг. 17D показано флуоресцентное изображение очага заболевания сердца. На фиг. 17E показано внутривенное введение AAV9 и AAVcc47, доставляющих GFP под контролем индуцируемого повреждением промотора после инфаркта миокарда. Показана иммунофлуоресценция на тропонин Т (красный) и GFP (зеленый).

[0038] На фиг. 18A-18E проиллюстрированы репрезентативные изображения флуоресценции нативного tdTomato в сердце мышцы после внутривенного введения контроля (фиг. 18A), AAV9 (фиг. 18B), AVV.cc47 (фиг. 18C) и AVV.cc84 (фиг. 18D) в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 18E показано биораспределение рекомбинантных AAV в сердце мышцы.

[0039] На фиг. 19A-19E проиллюстрированы репрезентативные изображения

флуоресценции нативного tdTomato в печени мыши после внутривенного введения контроля (фиг. 19A), AAV9 (фиг. 19B), AVV.cc47 (фиг. 19C) и AVV.cc84 (фиг. 19D) в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 19E показано биораспределение рекомбинантных AAV в печени мыши.

[0040] На фиг. 20A-20E проиллюстрированы репрезентативные изображения флуоресценции нативного tdTomato в легких мыши после внутривенного введения контроля (фиг. 20A), AAV9 (фиг. 20B), AVV.cc47 (фиг. 20C) и AVV.cc84 (фиг. 20D) в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 20E показано биораспределение рекомбинантных AAV в печени мыши.

[0041] На фиг. 21A-21D проиллюстрировано редактирование гена CRISPR/Cas9 с помощью вектора ssAAV в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 21A показана стратегия двойного вектора согласно изобретению, в которой используется один вектор с усеченным промотором CB, регулирующим SaCas9, и промотором U6, регулирующим одну оцрПНК, и второй вектор с той же конструкцией вместе со второй оцрПНК. На фиг. 21B показана нативная флуоресценция tdTomato в печени и в сердце мышей Ai9 после введения AAV9 или cc47 в дозе 2^{12} вг/кг. На фиг. 21C показана эффективность редактирования генов, определенная путем подсчета общего количества tdTomato⁺-клеток и деления полученного результата на общее количество DAPI⁺-клеток. На фиг. 21D показан анализ, проводимый методом ПЦР-редактирования, где отмечены неотредактированная полоса (**1160 п.о.) и отредактированная полоса (*270 п.о.), $p^{**} < 0,01$.

[0042] На фиг. 22A-22C проиллюстрировано подтверждение редактирования гена CRISPR/Cas9 с помощью вектора ssAAV в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 22A показаны срезы печени Ai9 и визуализация экспрессии нативного TdTomato. На фиг. 22B показаны графики, иллюстрирующие количественную оценку эффективности редактирования генов путем подсчета общего количества tdTomato⁺-клеток и нормализации полученной величины к общему количеству DAPI⁺-клеток. На фиг. 22C показано фракционирование сердца Ai9 и визуализация для оценки экспрессии нативного TdTomato. Были сделаны криосрезы обеих тканей толщиной 14 мкм.

[0043] На фиг. 23A-23F проиллюстрирована количественная оценка CRISPR/Cas9 путем определения интенсивности флуоресценции в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения. Интенсивность флуоресценции анализировали на нескольких изображениях для количественной оценки нативной экспрессии TdTomato у мышей Ai9, которым вводили либо вектор AAV9, либо вектор AAV.cc47. На фиг. 23A показан график скорректированной общей флуоресценции клеток в печени всех инъецированных мышей Ai9. На фиг. 23B показан график скорректированной общей флуоресценции клеток в печени всех инъецированных самок мышей Ai9. На фиг. 23C показан график скорректированной общей флуоресценции клеток в сердце всех инъецированных мышей Ai9. На фиг. 23D показан график

скорректированной общей флуоресценции клеток в сердце всех инъецированных самок мышей Ai9. На фиг. 23E показан график скорректированной общей флуоресценции клеток в печени всех инъецированных самцов мышей Ai9. На фиг. 23F показан график скорректированной общей флуоресценции клеток в сердце всех инъецированных самцов мышей Ai9. P-величина $* < 0,05$; ns=не значимые.

[0044] На фиг. 24A и 24B проиллюстрирована количественная оценка CRISPR/Cas9 путем определения относительной интенсивности полосы ПЦР в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 24A показан график интенсивности полосы ПЦР (по сравнению с контрольной неотредактированной полосой), полученной в результате ПЦР-анализа на редактирование тканей печени мышей Ai9, которым инъецировали либо вектор AAV9, либо вектор AAV.cc47. На фиг. 24B показан график интенсивности полосы ПЦР (по сравнению с контрольной неотредактированной полосой), полученной в результате ПЦР-анализа на редактирование тканей сердца мышей Ai9, которым инъецировали либо вектор AAV9, либо вектор AAV.cc47.

[0045] На фиг. 25A и 25B проиллюстрирована количественная оценка редактирования гена CRISPR/Cas9 в печени и в сердце в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 25A показан график процентной эффективности редактирования генов тканей печени мышей Ai9, которым инъецировали либо вектор AAV9, либо вектор AAV.cc47. На фиг. 25B показан график процентной эффективности редактирования генов в тканях сердца мышей Ai9, которым инъецировали либо вектор AAV9, либо вектор AAV.cc47.

[0046] На фиг. 26A и 26B проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в сердце мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 26A представлены репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии, иллюстрирующие экспрессию mCherry в срезах вибратора сердца через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 или AAV.cc44. На фиг. 26B показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0047] На фиг. 26C и 26D проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в скелетной мышце мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 26C представлены репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии, иллюстрирующие экспрессию mCherry в срезах вибратора скелетной мышцы через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 или AAV.cc44. На фиг. 26D показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0048] На фиг. 27A и 27B проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в печени мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 27A представлены репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии, иллюстрирующие экспрессию mCherry в срезах вибратора печени через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 или AAV.cc44. На фиг.

27В показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0049] На фиг. 27С и 27D проиллюстрирована экспрессия репортерного гена mCherry в почках мыши C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 27С представлены репрезентативные изображения флуоресцентной микроскопии, иллюстрирующие экспрессию mCherry в срезах вибратома почек через 24 часа после фиксации 4% PFA у мышей, инфицированных AAV9 или AAV.cc44. На фиг. 27D показан график, изображающий скорректированную общую флуоресценцию клеток из серии нескольких изображений.

[0050] На фиг. 28А-28С проиллюстрирована экспрессия флуоресцентного репортера, оцененная с помощью иммуногистохимического анализа (ИГХ) в областях головного мозга мышей C57/B6 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 28А показаны области головного мозга мышей, которые были ложно инфицированы, на фиг. 28В показаны области головного мозга мыши, инфицированной векторами AAV9, а на фиг. 28С показаны области головного мозга мыши, инфицированной AAV.cc44. Показанные области головного мозга включают: Ctx=кора головного мозга; Hc=гиппокамп; Cb=мозжечок; Th=таламус; Str=полосатое тело; и mb=грибовидное тело.

[0051] На фиг. 29А и 29В схематически проиллюстрированы изображения векторов AAV, используемых для введения в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 29А показан полный капсид с выделенной вариательной областью 4 (VR4) на поверхности капсида (верхняя панель) и рекомбинантные капсидные белки, полученные в виде векторов, упаковывающих CBh-mCherry (AAV.cc47 и AAV.cc44) (нижняя панель). На фиг. 29В изображен полный капсид с выделенной вариательной областью 8 (VR8) на поверхности капсида (верхняя панель) и рекомбинантные капсидные белки, полученные в виде векторов, упаковывающих CBh-eGFP (AAV.cc81 и AAV.cc84) (нижняя панель).

[0052] На фиг. 30А-30F проиллюстрированы репрезентативные изображения mCherry или eGFP, экспрессированных в головном мозге мышей после интрацеребровентрикулярной (ICV) инъекции векторов AAV в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 30А изображен целый головной мозг мыши после ICV-инъекции вектора AAV9 (mCherry) и выбранные области головного мозга. На фиг. 30В показан целый головной мозг мыши после ICV-инъекции вектора AAV.cc44 (mCherry) и выбранные области головного мозга. На фиг. 30С показан целый головной мозг мыши после ICV-инъекции вектора AAV.cc47 (mCherry) и выбранные области головного мозга. На фиг. 30D изображен целый головной мозг мыши после ICV-инъекции вектора AAV9 (eGFP) и выбранные области головного мозга. На фиг. 30Е изображен целый головной мозг мыши после ICV-инъекции вектора AAV.cc81 (eGFP) и выбранные области головного мозга. На фиг. 30F показан целый головной мозг мыши после ICV-инъекции вектора AAV.cc84 (eGFP) и выбранные области головного мозга.

Показанные области головного мозга включают: Ctx=кора головного мозга; Hc=гиппокамп; и Cb=мозжечок.

[0053] На фиг. 31A-31E проиллюстрированы репрезентативные изображения и графики экспрессии eGFP в головном мозге мыши после интрацеребровентрикулярной (ICV) инъекции векторов AAV в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 31A представлены изображения выбранных областей головного мозга после иммунофлуоресцентного (IF) окрашивания на DAPI, eGFP и NeurN в тканях головного мозга, собранных и обработанных после ICV-инъекции вектора AAV9 (eGFP). Изображения всех трех окрашиваний были объединены для иллюстрации совместной локализации. На фиг. 31B представлены изображения выбранных областей головного мозга после иммунофлуоресцентного (IF) окрашивания на DAPI, eGFP и NeurN в тканях головного мозга, собранных и обработанных после ICV-инъекции вектора AAV.cc84 (eGFP). Изображения всех трех окрашиваний были объединены для иллюстрации совместной локализации. Количественное определение числа нейронов, окрашенных на eGFP и NeurN, осуществляли в мозжечке (CB, фиг. 31C), в гиппокампе (HC, фиг. 31D) и в коре головного мозга (CTX, фиг. 31E).

[0054] На фиг. 32A-32E проиллюстрированы репрезентативные изображения и графики экспрессии mCherry в головном мозге мыши после интрацеребровентрикулярной (ICV) инъекции векторов AAV в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. На фиг. 32A представлены изображения выбранных областей головного мозга после иммунофлуоресцентного (IF) окрашивания на DAPI, mCherry и NeurN в тканях головного мозга, собранных и обработанных после ICV-инъекции вектора AAV9 (mCherry). Изображения всех трех окрашиваний были объединены для иллюстрации совместной локализации. На фиг. 32B представлены изображения выбранных областей головного мозга после иммунофлуоресцентного (IF) окрашивания на DAPI, mCherry и NeurN в тканях головного мозга, собранных и обработанных после ICV-инъекции вектора AAV.cc84 (mCherry). Изображения всех трех окрашиваний были объединены для иллюстрации совместной локализации. Количественное определение числа нейронов, окрашенных на mCherry и NeurN, осуществляли в мозжечке (CB, фиг. 32C), в гиппокампе (HC, фиг. 32D) и в коре головного мозга (CTX, фиг. 32E).

Подробное описание

[0055] Векторы аденоассоциированного вируса (AAV) стали ведущей платформой для терапевтической доставки генов. К сожалению, генотерапия на основе AAV иногда менее эффективна, чем хотелось бы, например, из-за трудностей с оптимизацией путей введения для нацеливания на представляющую интерес клетку или ткань и выработки иммунных ответов у индивидуума на вектор, несущий терапевтический ген (например, представляющий интерес трансген). Существующие ранее антитела хозяина, продуцируемые при природном взаимодействии с AAV или рекомбинантными векторами AAV, не дают эффекта как при первом, так и при повторном введении векторов AAV в качестве вакцин и/или для генотерапии. Серологические исследования показали

высокую распространенность антител у населения во всем мире: приблизительно 67% людей имеют антитела к AAV1, 72% - к AAV2 и приблизительно 40% - к AAV5-AAV9. При генотерапии, уже имеющиеся у индивидуума антитела вызывают определенные проблемы, поскольку некоторые клинические сценарии, включающие сайленсинг генов или дегенерацию тканей, требуют многократного введения вектора AAV для поддержания длительной экспрессии трансгена.

[0056] Каждый из известных серотипов AAV обладает специфическим тропизмом к тканям, и существуют некоторые ткани (например, почки), на которые нелегко воздействовать с помощью этих AAV. Доставка терапевтических генов с использованием векторов AAV для лечения заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) и периферической нервной системы (ПНС) является особенно сложной, поскольку гематоэнцефалический барьер может препятствовать проведению терапии на основе AAV для достижения желаемой цели. Трансдукция AAV в системных органах, таких как сердце, печень или легкие, может значительно различаться для данной дозы у различных организмов-моделей, используемых во время разработки способов лечения (например, у собак, свиней, приматов, не являющихся человеком) и у людей.

[0057] Для решения этих проблем необходимы рекомбинантные векторы AAV, которые позволяют избегать распознавания антителами и/или избирательно нацеливаться на ткани ЦНС. Аспекты настоящего изобретения позволяют: а) расширить группу пациентов, подходящих для генотерапии на основе AAV, и б) сделать возможным многократное повторное введение векторов для генотерапии на основе AAV. Кроме того, существует потребность в разработке генотерапии на основе AAV, способной избирательно и специфически воздействовать на представляющие интерес ткани, включая ткани, на которые трудно воздействовать с использованием известных серотипов AAV, такие как ткани почек.

[0058] Настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на обнаружении того факта, что антигенность капсида и функциональные свойства капсидов AAV и капсидных белков, такие как тропизм и трансдукция, перекрываются с точки зрения структуры и могут быть модифицированы для сообщения улучшенных функциональных свойств. В соответствии с настоящим изобретением, капсидные белки AAV, раскрытые в настоящей заявке, и векторы аденоассоциированного вируса (AAV), содержащие капсидные белки AAV, могут эволюционировать совместно и будут индуцировать межвидовую совместимость, которая является потенциально полезным признаком, обеспечивающим надежное применение данного AAV животных с моделью заболевания (например, грызунов, приматов, не являющихся человеком) для лечения человека. Соответственно, настоящее изобретение относится к межвидовым совместимым капсидным белкам AAV и к векторам AAV, содержащим капсидные белки AAV согласно изобретению, к способам их получения и к способам их применения. Используемый здесь термин «межвидовые совместимые AAV» может относиться к AAV-векторам, содержащим вариант капсидного белка AAV, имеющий мутированную и/или замененную

аминокислотную последовательность, которая совместно эволюционировала и обладала межвидовой совместимостью.

I. Определения

[0059] Для лучшего понимания принципов настоящего изобретения далее приводятся ссылки на предпочтительные варианты осуществления изобретения, и для их описания будет использована специальная терминология. Тем не менее, следует отметить, что при этом не подразумевается какого-либо ограничения объема изобретения, и такие изменения и последующие модификации, проиллюстрированные в настоящей заявке, рассматриваются как обычная процедура для специалиста в области, к которой относится изобретение.

[0060] Употребляемые формы единственного числа используются здесь для обозначения одного или более чем одного (то есть, по меньшей мере одного) грамматического объекта. Так, например, слово «элемент» означает по меньшей мере один элемент и более, чем один элемент.

[0061] Слово «приблизительно» используется для обеспечения гибкости конечной точки числового диапазона и означает, что заданное значение может быть «немного выше» или «немного ниже» конечной точки, и не влияет на желаемый результат. Термин «приблизительно», если он относится к числовому значению, означает, что числовое значение может варьироваться в пределах $\pm 5\%$ или менее от заданного числового значения.

[0062] В настоящем описании, если это не оговорено особо, слова «содержать» и «включать» и их варианты (например, «содержит», «содержащий», «включает», «включающий») следует понимать как возможное включение указанного компонента, признака, элемента или стадии или группы компонентов, признаков, элементов или стадий, но не исключение любого другого целого числа или стадии или группы целых чисел или стадий.

[0063] Используемое здесь словосочетание «и/или» относится к любым и всем возможным комбинациям одного или более перечисленных здесь элементов, а также к отсутствию комбинаций, интерпретируемых как альтернатива («или»).

[0064] Более того, в настоящем изобретении также предполагается, что в некоторых вариантах его осуществления, любой признак или комбинация признаков, описанных в настоящей заявке, могут быть исключены или опущены. Так, например, если в описании указано, что комплекс содержит компоненты А, В и С, то конкретно подразумевается, что любой из компонентов А, В или С или их комбинация могут быть опущены и исключены из описания по отдельности или в любой комбинации.

[0065] Перечисление диапазонов значений в настоящей заявке приводится лишь в качестве сокращенного метода указания на каждое отдельное значение, входящее в этот диапазон, если это не оговорено особо, и каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было приведено здесь по отдельности. Так, например, если указан диапазон концентраций от 1% до 50%, то предполагается, что в этот диапазон

входят такие значения, как от 2% до 40%, от 10% до 30% или от 1% до 3% и т.п. Эти диапазоны приводятся лишь в качестве примера, и все возможные комбинации числовых значений между перечисленными наименьшим значением и наибольшим значением включительно должны рассматриваться как явно указанные в данном описании.

[0066] Используемый здесь термин «аденоассоциированный вирус» (AAV) включает, но не ограничивается ими, AAV типа 1, AAV типа 2, AAV типа 3 (включая типы 3A и 3B), AAV типа 4, AAV типа 5, AAV типа 6, AAV типа 7, AAV типа 8, AAV типа 9, AAV типа 10, AAV типа 11, AAV типа 12, AAV типа 13, AAV типа rh32.33, AAV типа rh8, AAV типа rh10, птичий AAV, AAV крупного рогатого скота, собачий AAV, лошадиный AAV, овечий AAV и любые другие AAV, которые известны в настоящее время или будут обнаружены позже. См., например, BERNARD N. FIELDS et al., VIROLOGY, том 2, глава 69 (4-е изд., Lippincott-Raven Publishers). Был идентифицирован ряд серотипов и кладотипов AAV (см., например, Gao et al, (2004) J. Virology 78:6381-6388; Moris et al, (2004) Virology 33-:375-383; и Таблицу 1).

[0067] Геномные последовательности различных серотипов AAV и автономных парвовирусов, а также последовательности нативных концевых повторов (TR), белков Rep и субъединиц капсида известны специалистам в данной области. Такие последовательности можно найти в литературе или в общедоступных базах данных, таких как GenBank. См. например, базу данных GenBank с номерами доступа NC_002077, NC_001401, NC_001729, NC_001863, NC_001829, NC_001862, NC_000883, NC_001701, NC_001510, NC_006152, NC_006261, AF063497, U89790, AF043303, AF028705, AF028704, J02275, J01901, J02275, X01457, AF288061, AN009962, AY028226, AY028223, NC_001358, NC_001540, AF513851, AF513852, AY530579; которые включены в настоящее изобретение посредством ссылки для описания последовательностей нуклеиновых кислот и аминокислотных последовательностей парвовируса и AAV. См. также Таблицу 1.

Таблица 1.

	Номер доступа GenBank		Номер доступа GenBank		Номер доступа GenBank
Полные геномы		Кладотип С		Rh57	AY530569
Аденоассоциированный вирус 1	NC_00207, AF063497	Hu9	AY530629	Rh50	AY530563
Аденоассоциированный вирус 2	NC 001401	Hu10	AY530576	Rh49	AY530562
Аденоассоциированный вирус 3	NC 001729	Hu11	AY530577	Hu39	AY530601
Аденоассоциированный вирус 3В	NC 001863	Hu53	AY530615	Rh58	AY530570

Аденоассоциированный вирус 4	NC 001829	Hu55	AY530617	Rh61	AY530572
Аденоассоциированный вирус 5	Y18065, AF085716	Hu54	AY530616	Rh52	AY530565
Аденоассоциированный вирус 6	NC 001862	Hu7	AY530628	Rh53	AY530566
Птичий ААВ АТСС VR-865	AY186198, AY629583, NC 004828	Hu18	AY530583	Rh51	AY530564
Птичий штамм ААВ DA-1	NC_006263, AY629583	Hu15	AY530580	Rh64	AY530574
Бычий ААВ	NC_005889, AY388617, AAR26465	Hu16	AY530581	Rh43	AY530560
ААВ11	AAT46339, AY631966	Hu25	AY530591	ААВ8	AF513852
ААВ12	AB116639, DQ813647	Hu60	AY530622	Rh8	AY242997
Кладотип А		Ch5	AY243021	Rh1	AY530556
ААВ1	NC_002077, AF063497	Hu3	AY530595	Кладотип F	
ААВ6	NC_001862	Hu1	AY530575	Hu14 (ААВ9)	AY530579
Hu.48	AY530611	Hu4	AY530602	Hu31	AY530596
Hu 43	AY530606	Hu2	AY530585	Hu32	AY530597
Hu 44	AY530607	Hu61	AY530623	HSC1	M1332400.1
Hu 46	AY530609	Кладотип D		HSC2	M1332401.1
Кладотип В		Rh62	AY530573	HSC3	M1332402.1
Hu. 19	AY530584	Rh48	AY530561	HSC4	M1332403.1
Hu. 20	AY530586	Rh54	AY530567	HSC5	M1332405.1
Hu 23	AY530589	Rh55	AY530568	HSC6	M1332404.1
Hu22	AY530588	Cy2	AY243020	HSC7	M1332407.1
Hu24	AY530590	ААВ7	AF513851	HSC8	M1332408.1
Hu21	AY530587	Rh35	AY243000	HSC9	M1332409.1
Hu27	AY530592	Rh37	AY242998	HSC11	M1332406.1
Hu28	AY530593	Rh36	AY242999	HSC12	M1332410.1

Hu 29	AY530594	Cy6	AY243016	HSC13	M1332411.1
Hu63	AY530624	Cy4	AY243018	HSC14	M1332412.1
Hu64	AY530625	Cy3	AY243019	HSC15	M1332413.1
Hu13	AY530578	Cy5	AY243017	HSC16	M1332414.1
Hu56	AY530618	Rh13	AY243013	HSC17	M1332415.1
Hu57	AY530619	Кладотип Е		Hu68	
Hu49	AY530612	Rh38	AY530558	Клональный изолят	
Hu58	AY530620	Hu66	AY530626	AAV5	Y18065, AF085716
Hu34	AY530598	Hu42	AY530605	AAV 3	NC_001729
Hu35	AY530599	Hu67	AY530627	AAV 3B	NC_001863
AAV2	NC_001401	Hu40	AY530603	AAV4	NC_001829
Hu45	AY530608	Hu41	AY530604	Rh34	AY243001
Hu47	AY530610	Hu37	AY530600	Rh33	AY243002
Hu51	AY530613	Rh40	AY530559	Rh32	AY243003
Hu52	AY530614	Rh2	AY243007	Другие	
Hu T41	AY695378	Bb1	AY243023	Rh74	
Hu S17	AY695376	Bb2	AY243022	AAV бородатого дракона	
Hu T88	AY695375	Rh10	AY243015	Змеиный AAV	NC_006148.1
Hu T71	AY695374	Hu17	AY530582		
Hu T70	AY695373	Hu6	AY530621		
Hu T40	AY695372	Rh25	AY530557		
Hu T32	AY695371	Pi2	AY530554		
Hu T17	AY695370	Pi1	AY530553		
Hu LG15	AY695377	Pi3	AY530555		

[0068] Термины «гетерологичная нуклеотидная последовательность» и «гетерологичная нуклеиновая кислота» используются здесь как синонимы и относятся к последовательности, которая не встречается в природном вирусе. Обычно, гетерологичная нуклеиновая кислота содержит открытую рамку считывания, которая кодирует представляющий интерес полипептид или нетранслируемую РНК (например, для доставки в клетку или индивидууму).

[0069] Используемый здесь термин «полинуклеотид» относится к последовательности нуклеотидных оснований и может означать РНК, ДНК или гибридные последовательности ДНК-РНК (включающие как встречающиеся в природе, так и не встречающиеся в природе нуклеотиды), но в репрезентативных вариантах осуществления изобретения, эти последовательности являются либо одноцепочечными, либо двухцепочечными последовательностями ДНК.

[0070] Используемый здесь термин «пептид» относится к короткой аминокислотной последовательности. Термин «пептид» может быть использован для обозначения части или области аминокислотной последовательности капсида AAV. Пептид может представлять собой пептид, который в природе встречается в нативном капсиде AAV, или пептид, который не встречается в нативном капсиде AAV. Природные пептиды AAV в капсиде AAV могут быть заменены неприродными пептидами. Так, например, не встречающийся в природе пептид может быть заменен в капсиде AAV для получения модифицированного капсида так, чтобы встречающийся в природе пептид был заменен не встречающимся в природе пептидом. Используемый здесь термин «полипептид» охватывает как пептиды, так и белки, если это не оговорено особо.

[0071] Используемый здесь термин «аминокислота» охватывает любую встречающуюся в природе аминокислоту, ее модифицированные формы и синтетические аминокислоты. Альтернативно, аминокислота согласно изобретению может представлять собой модифицированный аминокислотный остаток и/или может представлять собой аминокислоту, которая была модифицирована посредством посттрансляционной модификации (например, ацетилирования, амидирования, формилирования, гидроксильирования, метилирования, фосфорилирования или сульфирования). Встречающиеся в природе левовращающие (L-) аминокислоты показаны в Таблице 2.

Таблица 2.

Аминокислотный остаток	Трехбуквенный код	Однобуквенный код
Аланин	Ala	A
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспарагиновая кислота (аспартат)	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамин	Gln	Q
Глутаминовая кислота (глутамат)	Glu	E
Глицин	Gly	G

Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L
Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

[0072] Альтернативно, аминокислота может представлять собой модифицированный аминокислотный остаток (неограничивающие примеры показаны в Таблице 3) и/или может представлять собой аминокислоту, модифицированную посредством посттрансляционной модификации (например, ацетилирования, амидирования, формилирования, гидроксирования, метилирования, фосфорилирования или сульфирования).

Таблица 3.

Модифицированный аминокислотный остаток	Сокращение
2-аминоадипиновая кислота	Aad
3-аминоадипиновая кислота	bAad
бета-аланин, бета-аминопропионовая кислота	bAla
2-аминомасляная кислота	Abu
4-аминомасляная кислота, пиперидиновая кислота	4Abu
6-аминокапроновая кислота	Acpr
2-аминогептановая кислота	Ahe
2-аминоизомасляная кислота	Aib
3-аминоизомасляная кислота	bAib
2-аминопимелиновая кислота	Apm
t-бутилаланин	t-BuA

Цитруллин	Cit
Циклогексилаланин	Cha
2,4-диаминомасляная кислота	Dbu
Десмозин	Des
2,2'-диаминопимелиновая кислота	Dpm
2,3-диаминопропионовая кислота	Dpr
N-этилглицин	EtGly
N-этиласпарагин	EtAsn
Гомоаргинин	hArg
Гомоцистеин	hCys
Гомосерин	hSer
Гидроксилизин	Hyl
Алло-гидроксилизин	aHyl
3-гидроксипролин	3Hyp
4-гидроксипролин	4Hyp
Изодесмозин	Ide
Алло-изолейцин	alle
Сульфоксид метионина	MSO
N-метилглицин, саркозин	MeGly
N-метилизолейцин	Melle
6-N-метиллизин	MeLys
N-метилвалин	MeVal
2-нафтилаланин	2-Nal
Норвалин	Nva
Норлейцин	Nle
Орнитин	Orn
4-хлорфенилаланин	Phe(4-Cl)
2-фторфенилаланин	Phe(2-F)
3-фторфенилаланин	Phe(3-F)
4-фторфенилаланин	Phe(4-F)

Фенилглицин	Phg
Бета-2-тиенилаланин	Thi

[0073] Кроме того, не встречающаяся в природе аминокислота может быть «неприродной» аминокислотой, как описано Wang et al., *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 35:225-49 (2006). Эти неприродные аминокислоты могут быть успешно использованы для химического связывания представляющих интерес молекул с капсидным белком AAV.

[0074] Используемые здесь термины «вирусный вектор», «вектор» или «вектор для доставки гена» относятся к частице вируса (например, AAV), которая функционирует как носитель для доставки нуклеиновой кислоты, и которая содержит геном вектора (например, ДНК вируса) [вДНК]), упакованный в вирион. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления изобретения, термин «вектор» может быть использован только для обозначения векторного генома/вДНК.

[0075] Используемый здесь термин «геном вектора гAAV» или «геном гAAV» означает геном AAV (то есть, вДНК), который содержит одну или более последовательностей гетерологичных нуклеиновых кислот. Для продуцирования вируса, векторам гAAV обычно требуется только концевой(ые) повтор(ы) (TR) в цис-ориентации. Все другие вирусные последовательности являются необязательными и могут присутствовать в транс-ориентации (Muzyczka, (1992) *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 158:97). Обычно, геном вектора гAAV будет сохранять только одну или более последовательностей TR, что позволяет максимизировать размер трансгена, который может быть эффективно упакован вектором. Последовательности, кодирующие структурный и неструктурный белок, могут быть получены в транс-ориентации (например, из вектора, такого как плазида, или путем стабильной интеграции последовательностей в упаковывающую клетку). В некоторых вариантах осуществления изобретения, геном вектора гAAV содержит по меньшей мере одну последовательность TR (например, последовательность TR AAV), или необязательно два TR (например, два TR AAV), которые обычно находятся на 5'- и 3'-концах генома вектора и фланкируют гетерологичную нуклеиновую кислоту, и должны быть, но необязательно, смежными с ней. TR могут быть одинаковыми или могут отличаться друг от друга.

[0076] Термин «концевой повтор» или «TR» включает любой концевой вирусный повтор или синтетическую последовательность, которая образует шпилечную структуру и функционирует как инвертированный концевой повтор (то есть, опосредует нужные функции, такие как репликация, упаковка вируса, интеграция и/или «спасение» провируса и т.п.). TR может представлять собой TR AAV или TR без AAV. Так, например, в качестве TR может быть использована последовательность TR без AAV, такая как последовательность других парвовирусов (например, собачьего парвовируса (CPV), мышинового парвовируса (MVM), человеческого парвовируса В-19) или любая другая подходящая вирусная последовательность (например, последовательность шпильки SV40, которая служит ориджином репликации SV40), которая может быть также

модифицирована путем усечения, замены, делеции, инсерции и/или добавления. Кроме того, TR может быть частично или полностью синтетическим, таким как «последовательность с двумя D», как описано в патенте США No. № 5478745, Samulski et al.

[0077] «Концевой повтор AAV» или «TR AAV» может происходить от любого AAV, включая, но не ограничиваясь ими, серотипы 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или любые другие уже известные AAV или AAV, которые будут обнаружены позже (см., например, Таблицу 1). Концевой повтор AAV необязательно должен иметь нативную последовательность концевого повтора (например, нативная последовательность TR AAV может быть модифицирована путем инсерции, делеции, усечения и/или миссенс-мутации), при условии, что концевой повтор будет опосредовать нужные функции, например, репликацию, упаковку вирусов, интеграцию и/или «спасение» провирусов и т.п.

[0078] Вектор AAV обычно содержит капсид на основе белка и нуклеиновую кислоту, инкапсулированную капсидом. Нуклеиновая кислота может представлять собой, например, векторный геном, содержащий трансген, фланкированный инвертированными концевыми повторами. «Капсид» AAV представляет собой почти сферическую белковую оболочку, которая содержит отдельные «капсидные белки» или «субъединицы». Капсиды AAV обычно содержат приблизительно 60 субъединиц капсидного белка, связанных и расположенных с икосаэдрической симметрией T=1. Если вектор AAV описан здесь как содержащий капсидный белок AAV, то следует отметить, что вектор AAV содержит капсид, где указанный капсид включает один или несколько капсидных белков AAV (то есть, субъединиц). В настоящей заявке также описаны «вирусоподобные частицы» или «частицы, напоминающие вирус», которые относятся к капсиду, не содержащему любой геном вектора или нуклеиновую кислоту, содержащую трансген.

[0079] Вирусные векторы согласно изобретению могут также представлять собой «нацеленные» вирусные векторы (например, имеющие направленный тропизм) и/или «гибридный» парвовирус (то есть, в котором вирусные TR и вирусный капсид происходят от различных парвовирусов), как описано в публикации Международной патентной заявки WO 00/28004 и Chao et al., (2000) *Molecular Therapy* 2:619.

[0080] Вирусные векторы согласно изобретению могут дополнительно представлять собой дуплексные парвовирусные частицы, описанные в публикации Международной патентной заявки WO 01/92551 (раскрытие которой полностью включено в настоящее описание посредством ссылки). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения, двухцепочечные (дуплексные) геномы могут быть упакованы в вирусные капсиды согласно изобретению. Кроме того, вирусный капсид или геномные элементы могут содержать другие модификации, включая инсерции, делеции и/или замены.

[0081] Термин «аутокомплементарный AAV» или «scAAV» относится к рекомбинантному вектору AAV, который образует димерную молекулу ДНК с инвертированным повтором, которая подвергается спонтанному отжигу, что приводит к

более ранней и более устойчивой экспрессии трансгена по сравнению с обычными одноцепочечными (оц) геномами AAV. См., например, McCarty, D.M., et al., *Gene Therapy* 8, 1248-1254 (2001). В отличие от обычного ssAAV, scAAV может обходить синтез второй цепи, то есть, стадию, ограничивающую скорость экспрессии генов. Кроме того, двухцепочечный scAAV менее подвержен расщеплению ДНК после вирусной трансдукции, что увеличивает количество копий стабильных эписом. Примечательно то, что scAAV обычно может содержать только геном размером приблизительно 2,4 т.п.о., что составляет половину размера обычного вектора AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь векторы AAV представляют собой аутокомплементарные AAV.

[0082] «Терапевтический полипептид» или «терапевтический белок» представляет собой полипептид или белок, который может облегчать, уменьшать, предотвращать, отсрочивать и/или стабилизировать симптомы, возникающие в результате отсутствия или дефекта белка в клетке или у индивидуума, и/или представляет собой полипептид, который в ином случае приносит пользу индивидууму, например, обладает противораковым действием или повышает выживаемость трансплантата.

[0083] Под терминами «лечить», «лечение» или «терапия» (и их грамматическими вариантами) подразумевается, что тяжесть состояния индивидуума уменьшается, по меньшей мере частично уменьшается или стабилизируется, и/или достигается некоторое облегчение, смягчение, уменьшение или стабилизация по меньшей мере одного клинического симптома и/или наблюдается задержка прогрессирования заболевания или расстройства.

[0084] Термины «предотвращение», «профилактика» и «профилактические меры» (и их грамматические варианты) относятся к предотвращению и/или замедлению начала развития заболевания, расстройства и/или клинического(их) симптома(ов) у индивидуума и/или снижению тяжести заболевания, расстройства и/или клинического(их) симптома(ов) по сравнению с ситуацией, которая могла бы наблюдаться в отсутствие способов согласно изобретению. Профилактика может быть полной, например, достигается полное отсутствие заболевания, расстройства и/или клинического(их) симптома(ов). Профилактика также может быть частичной, то есть, возникновение заболевания, расстройства и/или клинического(их) симптома(ов) у индивидуума и/или тяжесть заболевания будет наблюдаться меньше, чем это имело бы место без проведения способов согласно изобретению.

[0085] Используемые здесь термины «индивидуум» и «пациент» являются синонимами и относятся как к человеку, так и к животным, не являющимся человеком. Термин «животные, не являющиеся человеком» согласно изобретению включает всех позвоночных, например, млекопитающих и не-млекопитающих, таких как приматы, не являющиеся человеком, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т.п. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом является человек. В других вариантах осуществления изобретения, индивидуумом является

человека, нуждающийся в проведении одной или более генотерапий.

[0086] Используемое здесь количество, «эффективное для лечения», представляет собой количество, достаточное для обеспечения некоторого улучшения или пользы для индивидуума. Альтернативно, «эффективное для лечения» количество представляет собой количество, которое обеспечивает некоторое облегчение, ослабление, снижение или стабилизацию по меньшей мере одного клинического симптома у индивидуума. Специалистам в данной области будет очевидно, что терапевтические эффекты не обязательно должны быть полными или излечивающими при условии, что у индивидуума будет достигаться желаемый эффект.

[0087] Используемое здесь количество, «эффективное для профилактики» представляет собой количество, достаточное для предотвращения и/или задержки начала заболевания, расстройства и/или клинических симптомов у индивидуума и/или для уменьшения и/или задержки начала и тяжести заболевания, расстройства и/или клинических симптомов у индивидуума по сравнению с ситуацией, при которой способы согласно изобретению не применялись. Специалистам в данной области будет очевидно, что уровень профилактики не обязательно должен быть полным, при условии, что у индивидуума будет достигаться определенный желаемый эффект.

[0088] Если это не оговорено особо, то все используемые здесь технические термины имеют свое общепринятое значение, обычно известное специалистам в области, к которой относится настоящее изобретение.

II. Межвидовые совместимые AAV

[0089] Аденоассоциированный вирус (AAV), член семейства парвовирусов, представляет собой небольшой вирус без оболочки. AAV дикого типа состоит из икосаэдрического белкового капсида, который включает одноцепочечный геном ДНК. В AAV дикого типа, инвертированные концевые повторы (ITR) фланкируют кодирующие нуклеотидные последовательности (например, полинуклеотиды) для неструктурных белков (кодируемых генами Rep) и структурных белков (кодируемых капсидными генами или генами Cap). Гены Rep кодируют неструктурные белки, которые регулируют функции, включающие репликацию генома AAV. Гены Cap кодируют структурные белки VP1, VP2 и/или VP3, которые подвергаются сборке с образованием капсида.

[0090] Настоящее изобретение относится к рекомбинантным капсидным белкам AAV (VP1, VP2 и/или VP3), включающим модификацию (например, замену) в аминокислотной последовательности по сравнению с капсидными белками дикого типа, а также к капсидам AAV и векторам AAV, содержащим модифицированный капсидный белок AAV. Авторами настоящего изобретения было обнаружено, что модификации согласно изобретению могут сообщать вирусным векторам, содержащим модифицированные варианты капсидного белка AAV согласно изобретению, одно или несколько желаемых свойств, включая, но не ограничиваясь ими, способность «ускользать» от нейтрализующих антител и/или способность специфически и селективно нацеливаться на представляющую интерес клетку или ткань. Таким образом, настоящее

изобретение позволяет устранить некоторые ограничения, связанные с обычными векторами AAV.

[0091] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут быть сконструированы таким образом, чтобы они включали один или несколько вариантов капсидного белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут представлять собой межвидовые совместимые векторы или «ссAAV». В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) могут быть сконструированы таким образом, чтобы они включали по меньшей мере одну или более аминокислотных замен, где одна или несколько замен могут модифицировать один или несколько антигенных сайтов на капсидном белке AAV. Модификация одного или более антигенных сайтов может приводить к ингибированию связывания антитела с одним или несколькими антигенными сайтами и/или к ингибированию нейтрализации инфекционности вирусной частицы, содержащей указанный здесь вариант капсидного белка.

[0092] Соответственно, в некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к варианту капсидного белка аденоассоциированного вируса (AAV), содержащему одну или более аминокислотных модификаций (например, замен и/или делеций), где одна или несколько модификаций модифицируют один или несколько антигенных сайтов на капсидном белке AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, модификация одного или более антигенных сайтов может приводить к ингибированию связывания антитела с одним или несколькими антигенными сайтами и/или к ингибированию нейтрализации инфекционности вирусной частицы, содержащей указанный капсидный белок AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, модифицированный антигенный сайт может предотвращать связывание капсидов AAV с антителами или их распознавание или нейтрализацию этими антителами. В некоторых вариантах осуществления изобретения, антитело может представлять собой IgG (включая IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3), IgM, IgE или IgA. В некоторых вариантах осуществления изобретения, модифицированный антигенный сайт может предотвращать связывание капсидов AAV с антителами или их распознавание или нейтрализацию этими антителами, происходящими от животных различных видов, где указанными животными являются человек, собаки, свиньи, крупный рогатый скот, приматы, не являющиеся человеком, грызуны, кошки или лошади.

[0093] В некоторых вариантах осуществления изобретения, модификация одного или более антигенных сайтов может приводить к тропизму векторов AAV (например, ссAAV) согласно изобретению по отношению к клеткам одного или более типов, к тканям одного или более типов, или к любой их комбинации. Используемый здесь термин «тропизм» относится к предпочтительному проникновению вируса в определенные клетки или ткани, за которым следует, но необязательно, экспрессия (например, транскрипция и, необязательно, трансляция) последовательности (последовательностей), переносимой(ых) вирусным геномом в клетке, например, для рекомбинантного вируса,

представляющей интерес является экспрессия гетерологичной(ых) нуклеиновой(ых) кислоты (кислот). В некоторых вариантах осуществления изобретения, модификация одного или более антигенных сайтов может сообщать AAV-векторам согласно изобретению тропизм по отношению к клеткам и/или к тканям одного или более типов во всем организме индивидуума. В некоторых аспектах изобретения, модификация одного или более антигенных сайтов может сообщать AAV-векторам согласно изобретению тропизм по отношению к тканям головного мозга, тканям легких, тканям скелетных мышц, тканям сердца, тканям печени, тканям почек и/или тканям поджелудочной железы. В некоторых аспектах изобретения, модификация одного или более антигенных сайтов может сообщать AAV-векторам согласно изобретению тропизм по отношению к одной или более клеткам головного мозга, одной или более клеткам легких, одной или более клеткам скелетных мышц, одной или более клеткам сердца, одной или более клеткам печени, одной или более клеткам почек и/или одной или более клеткам поджелудочной железы. В некоторых аспектах изобретения, модификация одного или более антигенных сайтов может сообщать AAV-векторам согласно изобретению тропизм по отношению к почкам.

[0094] В некоторых вариантах осуществления изобретения, одна или несколько аминокислотных модификаций (например, замен и/или делеций) в вариантах капсидного белка согласно изобретению могут находиться в одном или нескольких антигенных футпринтах, идентифицированных путем картирования пептидных эпитопов и/или исследований с помощью криоэлектронной микроскопии комплексов AAV-антитело, содержащих капсидные белки AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, один или несколько антигенных сайтов согласно изобретению, которые могут быть подвергнуты одной или нескольким аминокислотным модификациям, могут представлять собой общие антигенные мотивы (СAМ), как описано в заявке WO 2017/058892, которая в полном объеме включена в настоящее описание посредством ссылки.

[0095] В некоторых вариантах осуществления изобретения, один или несколько антигенных сайтов согласно изобретению, которые могут быть подвергнуты одной или нескольким аминокислотным модификациям, могут находиться в вариабельной области (VR) капсидного белка AAV. Капсид AAV содержит 60 копий (всего) трех VP (VP1, VP2, VP3), которые кодируются геном сар и имеют перекрывающиеся последовательности. Каждый VP может содержать восьмицепочечный β -мотив в форме бочки (от β V до β I) и/или α -спирали (α A), которые являются консервативными в автономных капсидах парвовируса. Структурно вариабельные области (VR) могут возникать в поверхностных петлях, которые соединяют β -цепи, которые, в свою очередь, кластеризуются с образованием локальных вариантов на поверхности капсида. В некоторых вариантах осуществления изобретения, одна или несколько аминокислотных модификаций согласно изобретению, которые модифицируют один или несколько антигенных сайтов в вариантах капсидного белка AAV согласно изобретению, могут находиться в VR-I, VR-II, VR-III, VR-IV, VR-V, VR-VI, VR-VII, VR-VIII, VR-IX или в любой их комбинации. В некоторых

вариантах осуществления изобретения, один или несколько антигенных сайтов могут находиться в петле III вариантов капсидного белка AAV согласно изобретению.

[0096] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению (например, ssAAV) могут содержать (i) вариант капсидного белка AAV, раскрытый в настоящей заявке, и (ii) нуклеиновую кислоту в качестве груза, инкапсулированную капсидным белком. В соответствии с этими вариантами осуществления изобретения, вектор AAV (например, ssAAV), содержащий вариант капсидного белка AAV, описанный в настоящей заявке, может иметь фенотип: «ускользания» от нейтрализующих антител; повышения или сохранения эффективности трансдукции; селективного тропизма по отношению к клеткам и/или тканям одного или более типов; и к любой их комбинации.

[0097] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, обладают трансдукцией, которая по меньшей мере приблизительно в 2 раза (например, приблизительно в 4 раза, приблизительно в 5 раз, приблизительно в 7 раз, приблизительно в 10 раз, приблизительно в 15 раз, приблизительно в 16 раз, приблизительно в 17 раз, приблизительно в 18 раз, приблизительно в 20 раз, приблизительно в 25 раз или приблизительно в 30 раз, включая все значения и поддиапазоны, которые находятся в этом промежутке), превышает трансдукцию в сердце, в скелетных мышцах, в почках и в нейронах головного мозга по сравнению с трансдукцией родительского AAV9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, демонстрируют более высокую эффективность трансдукции, чем исходный AAV9, в тканях некоторых типов (таких как, например, ткани сердца, скелетных мышц, почек), и в нейронах головного мозга, и аналогичную или пониженную эффективность трансдукции по сравнению с исходным AAV9 в тканях некоторых типов (например, в глиальных клетках).

[0098] Настоящее изобретение относится к AAVss.47, который продемонстрировал приблизительно 15-18-кратное повышение трансдукции в сердце, в скелетных мышцах, в почках по сравнению с исходным AAV9. Трансдукция AAVss.47 в нейронах была выше в головном мозге по сравнению с AAV9, в то время как трансдукция глиальных клеток оставалась относительно неизменной. AAVss.81 и AAVss.84 повышали трансдукцию в 4 раза в сердце и в скелетных мышцах, в то время как для любого ssAAV не наблюдалось значительного увеличения трансдукции в печени по сравнению с AAV9. Трансдукция глиальных клеток значительно снижалась при использовании ssAAV по сравнению с AAV9, в то время как нейронный тропизм несколько увеличивался. Повышение эффективности трансдукции с помощью ssAAV позволяет снизить дозы терапевтических векторов.

[0099] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут включать по меньшей мере одну или более аминокислотных замен, где в аминокислотной последовательности природного капсидного белка могут быть заменены от приблизительно 1 аминокислотного остатка до

приблизительно 50 аминокислотных остатков (например, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению могут иметь приблизительно 7 аминокислотных остатков, которые, по сравнению с аминокислотной последовательностью природного капсидного белка, были заменены.

[00100] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь аминокислотную последовательность, которая приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99%, 100%) имеет сходство с природным капсидным белком. Используемый здесь термин «встречающийся в природе» или «дикого типа» относится к природному капсидному белку, который не был модифицирован человеком. В некоторых вариантах осуществления изобретения, природный капсидный белок согласно изобретению может быть получен из одного вида. Неограничивающие примеры видов, которые могут быть источником природного капсидного белка согласно изобретению, включают виды, происходящие от обычных организмов, таких как человек, мышь, крыса, морская свинка, собака, кошка, лошадь, корова, свинья или приматы, не являющиеся человеком (например, обезьяна, шимпанзе, бобуин, горилла), птица, рептилия, червь, рыба и т.п. В некоторых вариантах осуществления изобретения, виды, которые могут быть источником природного капсидного белка, могут представлять собой *Mus Musculus* (мышь), *Sus scrofa* (свинью), *Canis Familiaris* (собаку), приматы, не являющиеся человеком (Макаса, макак), *Homo sapiens* (человека) и любые их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, содержащие по меньшей мере одну аминокислотную замену, как описано в настоящей заявке, могут иметь аминокислотную последовательность, которая приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99%, 100%) сходна с аминокислотной последовательностью природного капсидного белка, имеющего аминокислотную последовательность под регистрационными номерами GenBank: NC_002077, NC_001401, NC_001729, NC_001863, NC_001829, NC_001862, NC_000883, NC_001701, NC_001510, NC_006152, NC_006261, AF063497, U89790, AF043303, AF028705, AF028704, J02275, J01901, J02275, X01457, AF288061, AN009962, AY028226, AY028223, NC_001358, NC_001540, AF513851, AF513852, AY530579 и любые их комбинации.

[00101] Способы определения сходства или идентичности двух или более аминокислотных последовательностей известны специалистам в данной области. Сходство или идентичность последовательностей могут быть определены с применением стандартных способов, включая, но не ограничиваясь ими, алгоритм идентификации локальной последовательности Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2, 482 (1981), алгоритм выравнивания для определения идентичности последовательностей Needleman & Wunsch, J Mol. Biol. 48,443 (1970), метод поиска подобия Pearson & Lipman, Proc. Natl.

Acad. Sci. USA 85, 2444 (1988), компьютеризированные методы реализации этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в программном пакете Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, WI), программу определения наибольшего соответствия последовательностей, описанную Devereux et al., Nucl. Acid Res. 12, 387-395 (1984), или программу проверки. [0115] Другим подходящим алгоритмом является алгоритм BLAST, описанный Altschul et al., J Mol. Biol. 215, 403-410, (1990) и Karlin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 5873-5787 (1993). Особенно подходящей программой BLAST является программа WU-BLAST-2, разработанная Altschul et al., Methods in Enzymology, 266, 460-480 (1996). В программе WU-BLAST-2 используется несколько параметров поиска, для которых можно установить значения по умолчанию. Эти параметры представляют собой динамические значения и устанавливаются самой программой в зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, по которой осуществляется поиск представляющей интерес последовательности, однако, эти значения могут быть скорректированы для повышения чувствительности. Кроме того, дополнительным подходящим алгоритмом является BLAST с пробелами, как описано в публикации Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25, 3389-3402. В соответствии с настоящим изобретением, если это не оговорено особо, процент идентичности вычисляют с использованием алгоритма поиска базового локального выравнивания (BLAST), доступного в Интернете на сайте blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. Для квалифицированного специалиста очевидно, что при необходимости могут быть использованы и другие алгоритмы.

[00102] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере аминокислотную замену, которая может заменить любые семь аминокислот в капсидном белке AAV любого из следующих серотипов: AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh8, AAVrh10, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh32.22, бычьего AAV, птичьего AAV и/или любого другого AAV, который известен в настоящее время или будет идентифицирован позже. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменить любые семь аминокислот в капсидном белке AAV серотипа, имеющего известный тропизм по отношению к клеткам и/или тканям одного или более желаемых типов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменить любые семь аминокислот в капсидном белке AAV серотипа, имеющего известный тропизм по отношению к человеческим клеткам и/или тканям одного или более желаемых типов.

[00103] В соответствии с этими вариантами осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменить любые семь аминокислот в

капсидном белке AAV серотипа, обладающего тропизмом по отношению к ЦНС и/или ПНС. AAV могут быть успешно нацелены на ряд различных тканей и клеток в ЦНС и ПНС, включая, но не ограничиваясь ими, нейроны, астроциты, олигодендроциты, микроглиальные клетки, глиальные клетки Мюллера, шванновские клетки и сателлитные клетки. В некоторых примерах, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменять любые семь аминокислот в капсидном белке AAV любого серотипа AAV, обладающего тропизмом по отношению к астроцитам (например, AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9). В некоторых других примерах, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменить любые семь аминокислот в капсидном белке AAV любого серотипа AAV, обладающего тропизмом по отношению к олигодендроцитам (например, AAV8, AAV9). В некоторых примерах, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменять любые семь аминокислот в капсидном белке AAV любого серотипа AAV, обладающего тропизмом по отношению к микроглиальным клеткам (например, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8, AAV9). В некоторых других примерах, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменить любые семь аминокислот в капсидном белке AAV любого серотипа AAV, обладающего тропизмом по отношению к глиальным клеткам Мюллера (например, AAV1, AAV2, AAV4, AAV6, AAV8, AAV9). В некоторых примерах, варианты капсидного белка AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь по меньшей мере одну аминокислотную замену, которая может заменять любые семь аминокислот в капсидном белке AAV любого серотипа AAV, обладающего тропизмом по отношению к шванновским клеткам/сателлитным глиальным клеткам (например, AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9).

[00104] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка AAV согласно изобретению или его фрагменты могут иметь аминокислотную последовательность, которая приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99%, 100%) сходна с природным капсидным белком VP1 или с его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 262-268 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1) в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 370-379 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1) в любой

VP1) в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 716-722 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1) в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV.

[00105] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 262-268 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 370-379 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 451-459 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 472-473 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 493-500 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 528-534 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 547-552 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 588-597 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2) аминокислотных остатках 709-710 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках 716-722 AAV1 (в соответствии с нумерацией VP1); или любую их комбинацию, или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV.

[00106] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариabельной области петли IV (VR4) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариabельной области петли VIII (VR8) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5,

AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариательной области петли IV (VR4) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV и аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариательной области петли VIII (VR8) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV.

[00107] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь последовательность, которая по меньшей мере на 90% (например, приблизительно на 90%, 95%, 99%, 100%) идентична нативной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариательной области петли IV (VR4) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR4 (452-NGSGQNQ-458 (в соответствии с нумерацией VP1; SEQ ID NO: 38)) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка в настоящей заявке могут содержать замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR4 (452-NGSGQNQ-458 (в соответствии с нумерацией VP1; SEQ ID NO: 38)) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации.

[00108] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в области VIII вариательной петли (VR8) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR8 (586-SAQAQAQ-592 (в соответствии с нумерацией VP1)); SEQ ID NO: 39) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5,

AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR8 (586-SAQAQAQ-592 (в соответствии с нумерацией VP1); SEQ ID NO: 39)) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации.

[00109] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариабельной области петли IV (VR4) и аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в вариабельной области петли VIII (VR8) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR4 (452-NGSGQNQ-458 (в соответствии с нумерацией VP1); SEQ ID NO: 38)) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV, а также аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR8 (586-SAQAQAQ-592 (в соответствии с нумерацией VP1); SEQ ID NO: 39)) на поверхности капсида AAV1 в любой комбинации или эквивалентные аминокислотные остатки в AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, бычьим AAV или птичьим AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR4 (452-NGSGQNQ-458 (в соответствии с нумерацией VP1); SEQ ID NO: 38)) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации, а также аминокислотную замену в одном или нескольких (например, в 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в VR8 (586-SAQAQAQ-592 (в соответствии с нумерацией VP1); SEQ ID NO: 39)) на поверхности капсида AAV9 в любой комбинации.

[00110] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь аминокислотную последовательность, которая приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99%, 100%) аналогична природному капсидному белку VP2 или его фрагменту любого из описанных здесь серотипов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в природном капсидном белке VP2 или в его фрагменте в любой комбинации любого из серотипов, описанных в настоящей заявке.

[00111] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного

белка согласно изобретению могут иметь аминокислотную последовательность, которая приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99%, 100%) аналогична природному капсидному белку VP3 или его фрагменту любого из описанных здесь серотипов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать аминокислотную замену в одном или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) аминокислотных остатках в природном капсидном белке VP3 или в его фрагменте в любой комбинации любого из серотипов, описанных в настоящей заявке.

[00112] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) согласно изобретению могут содержать (i) вариант капсидного белка AAV9 и (ii) нуклеиновую кислоту в качестве груза, инкапсулированную капсидным белком. В соответствии с этими вариантами осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) согласно изобретению могут содержать (i) вариант капсидного белка AAV9 и (ii) нуклеиновую кислоту в качестве груза, инкапсулированную капсидным белком, где капсидный белок содержит пептид, имеющий последовательность $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ (SEQ ID NO: 40) в аминокислотах 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где пептид не встречается в нативной последовательности капсидного белка AAV9. В некоторых аспектах изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут содержать вариант капсидного белка AAV9, содержащий пептид, имеющий последовательность $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ (SEQ ID NO: 40) в аминокислотах 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где X^1 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от N; X^2 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от G; X^3 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от S; X^4 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от G; X^5 представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; X^6 представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от N; и/или X^7 представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q.

[00113] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими EGGTVHA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими FYGTDSA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1)

нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими HGQSASR (SEQ ID NO: 22). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими DTPTNQA (SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими ITRQAYQ (SEQ ID NO: 24). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими RMFKSNQ (SEQ ID NO: 25). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими GVSLGGG (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими KHFLQGE (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими MGRERAG (SEQ ID NO: 28).

[00114] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или 100%) аналогична аминокислотной последовательности любой из последовательностей, представленных в SEQ ID №: 2-10. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению содержат любую из последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 2-10. Аминокислотные последовательности нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1) и SEQ ID NO: 2-10 представлены ниже в Таблице 4.

[00115] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) согласно изобретению могут содержать (i) вариант капсидного белка

AAV9 и (ii) нуклеиновую кислоту в качестве груза, инкапсулированную капсидным белком, где капсидный белок содержит пептид, имеющий последовательность $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ (SEQ ID NO: 125) в аминокислотах 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где пептид не встречается в нативной последовательности капсидного белка AAV9. В некоторых аспектах изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут содержать вариант капсидного белка AAV9, содержащий пептид, имеющий последовательность $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ (SEQ ID NO: 125) в аминокислотах 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где X^1 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от S; X^2 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от A; X^3 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; X^4 может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от A; X^5 представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; X^6 представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от A; и/или X^7 представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q.

[00116] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими LNSSVPS (SEQ ID NO: 29). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими YMDHQVS (SEQ ID NO: 30). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими TSDSLVS (SEQ ID NO: 31). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими NAVGALS (SEQ ID NO: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими MPISHNE (SEQ ID NO: 33). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот

586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими DSGARGA (SEQ ID NO: 34). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими NVALALG (SEQ ID NO: 35). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими GALRMGM (SEQ ID NO: 36). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими LSGEGAV (SEQ ID NO: 37).

[00117] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или 100%) аналогична аминокислотной последовательности любой из последовательностей, представленных в SEQ ID №: 11-19. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению содержат любую из последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 11-19. Аминокислотные последовательности нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1) и SEQ ID NO: 11-19 представлены ниже в Таблице 4.

[00118] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) согласно изобретению могут содержать (i) вариант капсидного белка AAV9 и (ii) нуклеиновую кислоту в качестве груза, инкапсулированную капсидным белком, где капсидный белок содержит пептид, имеющий последовательность $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ (SEQ ID NO: 40) в аминокислотах 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), и в аминокислотах 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где пептид не встречается в нативной последовательности капсидного белка AAV9.

[00119] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) согласно изобретению могут содержать (i) вариант капсидного белка AAV9 и (ii) нуклеиновую кислоту в качестве груза, инкапсулированную капсидным белком, где капсидный белок содержит пептид, имеющий последовательность $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ (SEQ ID NO: 125) в аминокислотах 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) и в аминокислотах 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где пептид не встречается в нативной

последовательности капсидного белка AAV9.

[00120] В некоторых аспектах изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут содержать вариант капсидного белка AAV9, содержащий пептид, имеющий (1) последовательность X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷ (SEQ ID NO: 40) в аминокислотах 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где X¹ может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от N; X² может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от G; X³ может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от S; X⁴ может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от G; X⁵ представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; X⁶ представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от N; и/или X⁷ представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; и (2) последовательность X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷ (SEQ ID NO: 125) в аминокислотах 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), где X¹ может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от S; X² может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от A; X³ может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; X⁴ может представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от A; X⁵ представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q; X⁶ представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от A; и/или X⁷ представлять собой любую аминокислоту, отличающуюся от Q.

[00121] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут содержать пептид, в котором аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 452-458 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими любой из SEQ ID NO: 20-28, а аминокислоты, соответствующие положениям аминокислот 586-592 (в соответствии с нумерацией VP1) нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1), могут быть заменены аминокислотами, соответствующими любой из SEQ ID NO: 29-37.

[00122] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 85% (например, приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или 100%) аналогична аминокислотной последовательности любой из последовательностей, представленных в SEQ ID №: 46-123. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению содержат любую из последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 46-123. Аминокислотные последовательности нативного капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 1) и SEQ ID NO: 46-123 представлены ниже в Таблице 4.

Таблица 4.

SEQ ID	Капсидный белок	Аминокислотная последовательность
--------	-----------------	-----------------------------------

NO	AAV9	
1	AAV9 WT	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
2	AAV.cc41	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
3	AAV.cc42	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
4	AAV.cc43	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
5	AAV.cc44	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
6	AAV.cc45	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
7	AAV.cc46	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
8	AAV.cc47	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIGVSLGGGTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
9	AAV.cc48	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
10	AAV.cc49	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
11	AAV.cc81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
12	AAV.cc82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
13	AAV.cc83	<p>MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL</p>
14	AAV.cc84	<p>MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR</p>

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
15	AAV.cc85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
16	AAV.cc86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
17	AAV.cc87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
18	AAV.cc88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNGALRMGMTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
19	AAV.cc89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLLD RLMNPLIDQYLYYLSKTINGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
46	AAV.cc41-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
47	AAV.cc41-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
48	AAV.cc41-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
49	AAV.cc41-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
50	AAV.cc41-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
51	AAV.cc41-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
52	AAV.cc41-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNSVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
53	AAV.cc41-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQALRMGMTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILI KNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
54	AAV.cc41-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIEGGTVHAQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
55	AAV.cc42-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
56	AAV.cc42-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
57	AAV.cc42-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
58	AAV.cc42-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
59	AAV.cc42-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
60	AAV.cc42-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
61	AAV.cc42-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNWGFPRKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQALRMGMTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
62	AAV.cc42-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNWGFPRKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIFYGTDSAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQALSGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
63	AAV.cc43-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
64	AAV.cc43-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
65	AAV.cc43-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
66	AAV.cc43-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNAVGALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
67	AAV.cc43-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
68	AAV.cc43-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQDQSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
69	AAV.cc43-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
70	AAV.cc43-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNGALRMGMTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
71	AAV.cc44-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIHGQSASRQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
72	AAV.cc44-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
73	AAV.cc44-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
74	AAV.cc44-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNAVGALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
75	AAV.cc44-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
76	AAV.cc44-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQDQSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
77	AAV.cc44-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRQDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNVVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
78	AAV.cc44-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRQDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQALRMGMTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
79	AAV.cc44-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRQDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIDTPTNQAQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
80	AAV.cc45-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRQDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
81	AAV.cc45-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
82	AAV.cc45-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
83	AAV.cc45-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSLTMASSGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
84	AAV.cc45-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSLTMASSGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMVW QDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
85	AAV.cc45-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
86	AAV.cc45-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
87	AAV.cc45-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQALRMGMTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
88	AAV.cc45-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKKR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIITRQAYQQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSLGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
89	AAV.cc46-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
90	AAV.cc46-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
91	AAV.cc46-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
92	AAV.cc46-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
93	AAV.cc46-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSLTMASSGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITTSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
94	AAV.cc46-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSLTMASSGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITTSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNSVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
95	AAV.cc46-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNWGFPRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQALRMGMTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
96	AAV.cc46-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNWGFPRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYLSKTIRMFKSNQQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
97	AAV.cc47-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
98	AAV.cc47-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
99	AAV.cc47-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
100	AAV.cc47-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
101	AAV.cc47-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
102	AAV.cc47-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
103	AV.cc47-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
104	AAV.cc47-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQGMALRMGMTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
105	AAV.cc47-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIGVSLGGGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
106	AAV.cc48-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
107	AAV.cc48-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
108	AAV.cc48-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMVW QDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
109	AAV.cc48-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
110	AAV.cc48-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMVW QDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIKN TPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRW

		NPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
111	AAV.cc48-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
112	AAV.cc48-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
113	AAV.cc48-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQGalRMGMTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPiWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSkr WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
114	AAV.cc48-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIKHFLQGEQTLKFSVAGPSNMAVQGRN YIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNP GPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNEE EIKTTNPVATESYGQVATNHQSLGEGAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPiWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSkr

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
115	AAV.cc49-81	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLNSSVPSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
116	AAV.cc49-82	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQYMDHQVSTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
117	AAV.cc49-83	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLLD RLMNPLIDQYLYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQTSDSLSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
118	AAV.cc49-84	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWDQR LNNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLLD RLMNPLIDQYLYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNAV GALSTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
119	AAV.cc49-85	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQMPISHHETGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
120	AAV.cc49-86	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQDSGARGATGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
121	AAV.cc49-87	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRHFCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYYLSKTIAGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNVALALGTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
122	AAV.cc49-88	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLGPGNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSALTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRHFCHFSRPDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHQSLED RLMNPLIDQYLYYLSKTIAGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQNGALRMGMTGWVQNQGILPGM VWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILI KNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR

		RWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
123	AAV.cc49-89	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDN ARGLVLPGYKYLPGNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQL KAGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRL EPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAAKRR LNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGSMTMASGGGAPVADN NEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDREVITSTRTWALPTYNNHL YKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR LINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQV FTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQA VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLD RLMNPLIDQYLYYLSKTIMGRERAGQTLKFSVAGPSNMAVQGR NYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGASSWALNGRNSLMN PGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITNE EEIKTTNPVATESYGQVATNHQLSGEAVTGWVQNQGILPGMV WQDRDVYVLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPMLGGFGMKHPPPQILIK NTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR WNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL

[00123] В вариантах осуществления изобретения, где любой аминокислотный остаток, обозначенный как X¹-X⁷, не был заменен, аминокислотный остаток в незамещенном положении может представлять собой аминокислотный остаток дикого типа в эталонной аминокислотной последовательности (например, AAV9 (SEQ ID NO: 1)). В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь аминокислотную замену в остатках 452N, 453G, 454S, 455G, 456Q, 457N и/или 458Q SEQ ID NO: 1 (капсидный белок AAV9; в соответствии с нумерацией VP1) в любой комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут иметь аминокислотную замену в остатках 586S, 587A, 588Q, 589A, 590Q, 591A и/или 592Q в SEQ ID NO: 1 (капсидный белок AAV9; в соответствии с нумерацией VP1) в любой комбинации.

[00124] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка согласно изобретению могут быть получены путем модификации любого капсидного белка AAV, который известен в настоящее время или будет обнаружен позже. Кроме того, капсидный белок AAV, который должен быть подвергнут модификации в соответствии с настоящим изобретением, может представлять собой любой, без каких-либо ограничений, природный капсидный белок AAV (например, капсидный белок AAV2, AAV3a или 3b, AAV4, AAV5, AAV8, AAV9, AAV10 или AAV11 или любой из AAV,

показанных в Таблице 1). Специалистам в данной области известны различные манипуляции с капсидными белками AAV, и настоящее изобретение не ограничивается модификациями природных капсидных белков AAV. Так, например, капсидный белок, подлежащий модификации, может уже иметь одну или более модификаций по сравнению с природным AAV (например, он может быть получен из природного капсидного белка AAV, например, AAV2, AAV3a, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7), AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12 или любого другого AAV, который известен в настоящее время или будет обнаружен позже). Такие капсидные белки AAV также входят в объем настоящего изобретения.

[00125] В некоторых своих аспектах, настоящее изобретение относится к вирусным капсидам, которые могут иметь один или несколько вариантов любого капсидного белка, раскрытых в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсид вируса согласно изобретению может представлять собой капсид парвовируса, который, кроме того, может представлять собой капсид автономного парвовируса или капсид зависимого вируса. Капсид вируса согласно изобретению может представлять собой, но необязательно, капсид AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсиды AAV согласно изобретению могут представлять собой капсид AAV1, AAV2, AAV3a, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh32.33, капсид бычьего AAV, капсид птичьего AAV и/или любой другой AAV, который известен в настоящее время или будет обнаружен позже.

[00126] В некоторых вариантах осуществления изобретения, модифицированные вирусные капсиды согласно изобретению могут быть использованы в качестве носителей капсида. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекулы могут быть упакованы модифицированными вирусными капсидами согласно изобретению и перенесены в клетку, где молекулы могут включать гетерологичную ДНК, РНК, полипептиды, небольшие органические молекулы, металлы или их комбинации. Гетерологичные молекулы определяют здесь как молекулы, которые в природе не обнаруживаются при инфицировании AAV, например, молекулы, не кодируемые геномом AAV дикого типа. Кроме того, терапевтически полезные молекулы для применения согласно изобретению могут быть связаны с внешней стороной капсида химерного вируса для переноса молекул в одну или более клеток-мишеней хозяина. Такие ассоциированные молекулы могут включать ДНК, РНК, небольшие органические молекулы, металлы, углеводы, липиды и/или полипептиды. В некоторых вариантах осуществления изобретения, терапевтически полезная молекула согласно изобретению может быть ковалентно связана (то есть, конъюгирована или химически связана) с капсидными белками. Способы ковалентного связывания молекул известны специалистам в данной области.

[00127] В некоторых вариантах осуществления изобретения, модифицированные вирусные капсиды согласно изобретению могут быть использованы для выработки

антител против вариантов капсидного белка, раскрытых в настоящей заявке. В качестве дополнительной альтернативы, экзогенная аминокислотная последовательность может быть встроена в модифицированный вирусный капсид для презентации антигена клетке, например, для введения индивидууму в целях выработки иммунного ответа на экзогенную аминокислотную последовательность.

[00128] В некоторых вариантах осуществления изобретения, модифицированные капсиды вируса согласно изобретению могут представлять собой капсид вируса для нацеливания, содержащий нацеливающую последовательность (например, замененную или встроенную в капсид вируса), которая может направлять капсид вируса на взаимодействие с молекулами клеточной поверхности, присутствующими на нужной(ых) ткани(ях)-мишени (см., например, публикацию Международной патентной заявки WO 00/28004 и Nauck et al., (2003) *J. Virology* 77:2768-2774); Shi et al., *Human Gene Therapy* 17:353-361 (2006) [где описано встраивание мотива связывания интегринового рецептора RGD в положениях 520 и/или 584 капсидной субъединицы AAV]; и патент США № 7314912 [где описано встраивание пептида P1, содержащего мотив RGD, после аминокислот в положениях 447, 534, 573 и 587 субъединицы капсида AAV2]). Другие положения внутри субъединицы капсида AAV, допускающие такие вставки, известны специалистам в данной области (например, положения 449 и 588, описанные Grifman et al., *Molecular Therapy* 3:964-975 (2001)).

[00129] Так, например, капсид вируса согласно изобретению может иметь относительно неэффективный тропизм по отношению к определенным представляющим интерес тканям-мишеням (например, к тканям печени, скелетных мышц, сердца, мышцы диафрагмы, почек, головного мозга, желудка, кишечника, кожи, к эндотелиальным клеткам и/или к тканям легких). Нацеливающая последовательность может быть успешно включена в эти векторы с низкой трансдукцией так, чтобы сообщать капсиду вируса желаемый тропизм и, необязательно, селективный тропизм в отношении конкретной(ых) ткани (тканей). Капсидные белки, капсиды и векторы AAV, содержащие нацеливающие последовательности, описаны, например, в публикации Международной патентной заявки WO 00/28004. В качестве другого примера, одна или несколько неприродных аминокислот, как описано Wang et al., *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* 35:225-49 (2006), могут быть включены в субъединицу капсида AAV согласно изобретению в ортогональном сайте в качестве средства для перенацеливания вектора с низкой трансдукцией на желаемую(ые) ткань(и)-мишень. Эти неприродные аминокислоты могут быть с успехом использованы для химического связывания представляющих интерес молекул с капсидным белком AAV, включая, но не ограничиваясь ими: гликаны (связывающиеся с маннозой для нацеливания на дендритные клетки); RGD, бомбезин или нейропептид для нацеленной доставки к конкретным типам раковых клеток; РНК-аптамеры или пептиды, выбранные из пептидов фагового представления, нацеленных на специфические рецепторы клеточной поверхности, такие как рецепторы фактора роста, интегрины и т.п. Способы химической модификации аминокислот известны специалистам

в данной области (см., например, Greg T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, 1-е издание, Academic Press, 1996).

[00130] В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающая последовательность может представлять собой капсидную последовательность вируса (например, автономную капсидную последовательность парвовируса, капсидную последовательность AAV или любую другую капсидную последовательность вируса), которая направляет инфекцию в клетку(клетки) конкретного(ых) типа(ов).

[00131] В качестве другого неограничивающего примера, гепарин-связывающий домен (например, гепарин-связывающий домен респираторно-синцитиального вируса) может быть встроен в субъединицу капсида или заменен в этой субъединице, которая обычно не связывается с рецепторами HS (например, AAV9), чтобы обеспечить связывание гепарина с полученным мутантом. В другом неограничивающем примере, домен связывания глобозидного рецептора капсида B19 может быть заменен капсидным белком AAV согласно изобретению для нацеливания вирусного капсида или содержащего его вирусного вектора на эритроидные клетки.

[00132] В некоторых вариантах осуществления изобретения, экзогенная нацеливающая последовательность для применения согласно изобретению может представлять собой любую аминокислотную последовательность, кодирующую пептид, который изменяет тропизм вирусного капсида или вирусного вектора, содержащего модифицированный капсидный белок AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающий пептид или белок могут быть природными или, альтернативно, полностью или частично синтетическими. В некоторых примерах, нацеливающие последовательности могут включать лиганды и другие пептиды, которые связываются с рецепторами клеточной поверхности и гликопротеинами, такие как пептидные последовательности RGD, брадикинин, гормоны, пептидные факторы роста (например, эпидермальный фактор роста, фактор роста нервных клеток, фактор роста фибробластов, тромбоцитарный фактор роста, инсулиноподобные факторы роста I и II и т.п.), цитокины, меланоцит-стимулирующий гормон (например, α , β или γ), нейропептиды и эндорфины и т.п., а также их фрагменты, которые сохраняют способность клеток-мишеней связываться со своими родственными рецепторами. Другие иллюстративные пептиды и белки включают субстанцию P, фактор роста кератиноцитов, нейропептид Y, пептид, высвобождающий гастрин, интерлейкин 2, лизоцим куриного яичного белка, эритропоэтин, гонадолиберин, кортикостатин, β -эндорфин, лейэнкефалин, риморфин, α -неоэнкефалин, ангиотензин, пневмодин, вазоактивный кишечный пептид, нейротензин, мотилин и их фрагменты, описанные выше. В качестве еще одной альтернативы, связывающий домен токсина (например, столбнячного токсина или змеиных токсинов, таких как α -бунгаротоксин и т.п.) может быть заменен в капсидном белке в качестве нацеливающей последовательности. В некоторых других вариантах осуществления изобретения, капсидный белок AAV может быть модифицирован путем замены «неклассического» сигнального пептида импорта/экспорта (например, факторов роста

фибробластов-1 и -2, интерлейкина 1, белка Tat ВИЧ-1, белка VP22 вируса герпеса, и т.п.), как описано Cleves (Current Biology 7:R318 (1997)), на капсидный белок AAV. Также включены пептидные мотивы, которые направляют поглощение специфическими клетками, например, пептидный мотив FVFLP (SEQ ID NO: 41) запускает поглощение клетками печени. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нацеливающая последовательность для применения согласно изобретению может представлять собой пептид, который может быть использован для химического связывания (например, он может содержать остатки аргинина и/или лизина, которые могут быть химически связаны посредством своих R-групп) с другой молекулой, которая нацелена на проникновение в клетку.

[00133] В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы AAV (например, ssAVV) согласно изобретению могут иметь эквивалентную или повышенную эффективность трансдукции по сравнению с эффективностью трансдукции серотипа AAV, из которого был получен вариант капсидного белка, вирусный капсид и/или вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы (например, ssAVV), раскрытые в настоящей заявке, могут иметь пониженную эффективность трансдукции по сравнению с эффективностью трансдукции серотипа AAV, из которого были получены вариант капсидного белка, вирусный капсид и/или вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы (например, ssAVV), раскрытые в настоящей заявке, могут иметь эквивалентный или повышенный тропизм по сравнению с тропизмом серотипа AAV, из которого были получены вариант капсидного белка, вирусный капсид и/или вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы (например, ssAVV), раскрытые в настоящей заявке, могут иметь измененный или какой-либо иной тропизм по сравнению с тропизмом серотипа AAV, из которого были получены вариант капсидного белка, вирусный капсид и/или вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы (например, ssAVV), раскрытые в настоящей заявке, могут обладать тропизмом по отношению к ткани головного мозга или могут быть сконструированы так, чтобы они обладали таким тропизмом. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы AAV (например, ssAVV), раскрытые в настоящей заявке, могут продуцировать ослабленный иммунологический ответ по сравнению с иммунологическим ответом серотипа AAV, из которого были получены вариант капсидного белка, вирусный капсид и/или вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения, варианты капсидного белка, вирусные капсиды и/или векторы AAV (например, ssAVV), раскрытые в настоящей заявке, могут быть введены индивидууму в виде дробных доз (например, приблизительно двух доз, приблизительно трех доз, приблизительно четырех доз, приблизительно 5 доз, приблизительно 10 доз, приблизительно 15 доз, приблизительно 20 доз, приблизительно

40 доз, и столько доз, сколько это необходимо для мониторинга одного или более желаемых ответов) по сравнению с числом доз, которые можно вводить с использованием серотипа AAV, из которого были получены вариант капсидного белка, вирусный капсид и/или вектор.

(A) Конструирование капсида и ssAAV

[00134] В некоторых вариантах осуществления изобретения, для идентификации раскрытых здесь вариантов капсидного белка векторов AAV (например, ssAAV), могут быть применены методы рационального конструирования и/или введения мутаций. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут быть применены для получения вектора AAV, который будет «ускользать» от нейтрализующих антител. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут быть применены для получения вектора AAV, обладающего повышенной эффективностью переноса генов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут быть применены для получения вектора AAV, обладающего повышенной эффективностью переноса генов у более, чем одного вида млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут быть применены для получения вектора AAV, который специфически нацелен на представляющую интерес клетку или ткань (например, клетку почки).

[00135] В некоторых вариантах осуществления изобретения, рекомбинантный AAV, описанный в настоящей заявке, имеет повышенную эффективность переноса генов у одного или более видов млекопитающих по сравнению с рекомбинантным AAV, имеющим капсидный белок, который полностью идентичен, за исключением отсутствия одной или более аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления изобретения, повышенная эффективность переноса генов наблюдается еще у одного из следующих видов: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макаки), или *Homo sapiens* (человека). В некоторых вариантах осуществления изобретения, повышенная эффективность переноса генов происходит в клетках или тканях одного или более из следующих типов: спинного мозга (например, глиальных клеток, нейронов, эндотелиальных клеток), спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени. В некоторых вариантах осуществления изобретения, повышенная эффективность переноса генов происходит в клетках почек или в тканях почек.

[00136] В некоторых своих аспектах, настоящее изобретение относится к способам получения векторов AAV, раскрытых в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы могут включать одну или более из следующих стадий: а) идентификации контактирующих аминокислотных остатков, которые образуют трехмерный антигенный футпринт на капсидном белке AAV; б) создания библиотеки капсидных белков AAV, содержащих аминокислотные замены контактирующих аминокислотных остатков, идентифицированных в (а); в) получения частиц AAV,

содержащих капсидные белки, из библиотеки капсидных белков AAV (b); d) контактирования частиц AAV (c) с клетками в условиях, при которых может происходить инфицирование и репликация; e) отбора частиц AAV, которые могут завершить по меньшей мере один инфекционный цикл и реплицироваться до титров, сходных с титром контрольных частиц AAV; f) контактирования частиц AAV, выбранных в (e), с нейтрализующими антителами и клетками в условиях, при которых может происходить инфицирование и репликация; и g) отбора частиц AAV, которые не нейтрализуются нейтрализующими антителами (f). Неограничивающие примеры способов идентификации контактирующих аминокислотных остатков включают картирование пептидных эпитопов и/или криоэлектронную микроскопию. Специалисту в данной области известно, что существует постоянно появляющееся множество способов и протоколов, которые могут быть применены для создания библиотеки капсидных белков AAV (например, рациональное конструирование, штрих-кодирование, прямая эволюция, обнаружение *in silico*). Для применения в соответствии с настоящим изобретением может быть применен и/или оптимизирован любой способ создания библиотеки капсидного белка AAV, который уже известен или будет разработан в будущем при условии, что он будет подходящим для его применения согласно изобретению.

[00137] В некоторых вариантах осуществления изобретения, создание библиотеки капсидных белков AAV, содержащих аминокислотные замены контактирующих аминокислотных остатков, идентифицированных в капсидном белке AAV, позволит получить библиотеку родительских капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы получения векторов ssAAV согласно изобретению могут включать введение млекопитающему библиотеки родительских капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, введение библиотеки родительских капсидных белков AAV млекопитающему может представлять собой системное введение млекопитающему. В некоторых вариантах осуществления изобретения, библиотека родительских капсидных белков AAV может быть введена млекопитающему, принадлежащему к виду *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макаки) или *Homo sapiens* (человека). В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть обогащены путем сбора из клетки и/или ткани млекопитающего после введения библиотеки родительских капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть обогащены путем сбора из клетки и/или ткани млекопитающего после введения библиотеки родительских капсидных белков AAV, где клетка и/или ткань включают клетки и/или ткани спинного мозга (например, глиальные клетки, нейроны, эндотелиальные клетки), спинномозгового узла, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть собраны у млекопитающего через период времени от приблизительно 1 дня до приблизительно 1

месяца (например, приблизительно через 1 день, 5 дней, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, один месяц) после введения библиотеки родительских капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки, собранные у млекопитающего после введения библиотеки родительских капсидных белков AAV, могут быть использованы для создания другой библиотеки капсидных белков AAV, называемой библиотекой эволюционировавших капсидных белков AAV.

[00138] В некоторых вариантах осуществления изобретения, библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV может быть введена млекопитающим вида *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макак) или *Homo sapiens* (человека), при условии, что животные этих видов будут отличаться от животных видов, которым была введена библиотека родительских капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть обогащены путем сбора из клетки и/или ткани млекопитающего после введения библиотеки эволюционировавших капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть обогащены путем сбора из клетки и/или ткани млекопитающего после введения библиотеки эволюционировавших капсидных белков AAV, где клетка и/или ткань включают клетки и/или ткани спинного мозга (например, глиальные клетки, нейроны, эндотелиальные клетки), спинномозгового узла, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть собраны и идентифицированы у млекопитающего после введения библиотеки эволюционировавших капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки могут быть собраны и идентифицированы у млекопитающего через период времени от приблизительно 1 дня до приблизительно 1 месяца (например, приблизительно через 1 день, 5 дней, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, один месяц) после введения библиотеки эволюционировавших капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, капсидные белки, собранные и идентифицированные у млекопитающего после введения библиотеки эволюционировавших капсидных белков AAV, могут быть использованы для создания дополнительной, второй библиотеки эволюционировавших капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вторая библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV может быть введена млекопитающему, принадлежащему к видам *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макак) или *Homo sapiens* (человека), при условии, что млекопитающие этого вида будут отличаться от млекопитающих вида, которым была введена первая библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вторая библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV может быть введена млекопитающему, принадлежащему к видам *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней),

Canis Familiaris (собак), приматов, не являющихся человеком (Макаса, макак) или Homo sapiens (человека), при условии, что млекопитающие этого вида будут отличаться от млекопитающих вида, которым была введена первая библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV и при условии, что эти млекопитающие являются такими же, как млекопитающие, которым была введена библиотека родительских капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вторая библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV может быть введена млекопитающему, принадлежащему к видам Mus Musculus (мышей), Sus scrofa (свиней), Canis Familiaris (собак), приматов, не являющихся человеком (Макаса, макак) или Homo sapiens (человека), при условии, что млекопитающие этого вида будут отличаться от млекопитающих вида, которым была введена первая библиотека эволюционировавших капсидных белков AAV и при условии, что эти млекопитающие будут отличаться от млекопитающих, которым была введена библиотека родительских капсидных белков AAV.

[00139] В некоторых вариантах осуществления изобретения, каждое поколение эволюционной библиотеки можно назвать «циклом» совместного создания библиотеки капсидных белков AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы совместного создания библиотеки капсидных белков AAV согласно изобретению могут включать проведение от приблизительно одного до приблизительно 10 (например, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) циклов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, каждый описанный здесь цикл может быть проведен для видов, отличающихся от видов, для которых был проведен предшествующий цикл. В некоторых примерах, описанные здесь способы совместного создания библиотеки капсидных белков AAV могут включать первый цикл для мыши, второй цикл для свиньи, третий цикл для мыши, четвертый цикл для свиньи и так далее. В некоторых примерах, описанные здесь способы совместного создания библиотеки капсидных белков AAV могут включать первый цикл для мыши, второй цикл для примата, не являющегося человеком, третий цикл для мыши, четвертый цикл для примата, не являющегося человеком, и т.п. В некоторых примерах, описанные здесь способы совместного создания библиотеки капсидных белков AAV могут включать первый цикл для мыши, второй цикл для свиньи, третий цикл для примата, не являющегося человеком, четвертый цикл для мыши, и т.п. В некоторых примерах, описанные здесь способы совместного создания библиотеки капсидных белков AAV могут включать первый цикл для свиньи, второй цикл для мыши, третий цикл для примата, не являющегося человеком (например, для обезьяны), и т.п.

[00140] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способ направленной эволюции новых штаммов аденоассоциированных вирусов включает пассирование библиотек AAV среди млекопитающих нескольких видов, где библиотеки AAV содержат множество рекомбинантных векторов AAV, при этом, каждый рекомбинантный вектор AAV содержит вариант капсидного белка, включающий одну или более аминокислотных мутаций по сравнению с капсидным белком AAV дикого типа. В некоторых вариантах

осуществления изобретения, каждый рекомбинантный вектор AAV в библиотеках AAV содержит одну или более аминокислотных мутаций по сравнению с капсидным белком AAV9 дикого типа (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления изобретения, одна или более аминокислотных мутаций находятся в областях, соответствующих аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1 или 586-592 SEQ ID NO: 1, или мутации обнаруживаются в обеих областях, соответствующих аминокислотам 452-458 и 586-592 SEQ ID NO: 1.

[00141] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способ направленной эволюции новых штаммов AAV включает введение первой библиотеки AAV млекопитающим первого вида. Затем можно секвенировать AAV из первой библиотеки AAV, присутствующей в одной или более тканях-мишенях млекопитающих первого вида, и использовать эти AAV для создания второй библиотеки AAV. Вторая библиотека AAV может быть затем введена млекопитающим второго вида, где млекопитающие первого вида и второго вида отличаются друг от друга. Затем могут быть секвенированы AAV из второй библиотеки AAV, присутствующие в одной или более тканях-мишенях млекопитающих второго вида. В некоторых вариантах осуществления изобретения, все млекопитающие первого вида и млекопитающие второго вида независимо выбраны из группы, состоящей из: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макак) или *Homo sapiens* (человека). Эти стадии могут повторяться три, четыре, пять, шесть и более раз. В некоторых вариантах осуществления изобретения, одна или более тканей-мишеней млекопитающих первого вида и млекопитающих второго вида (или любых последующих видов) выбраны из тканей спинного мозга (например, глиальных клеток, нейронов, эндотелиальных клеток), спинномозгового узла, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации.

(В) Векторы AAV

[00142] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к векторам AAV, содержащим один или несколько вариантов капсидного белка согласно изобретению. Используемый здесь термин «вектор» относится к любой молекуле или фрагменту, которые транспортируют, трансдуцируют или иным образом действуют как носитель гетерологичной молекулы. «Вирусный вектор» представляет собой вектор, который содержит одну или более полинуклеотидных областей, кодирующих или содержащих представляющую интерес молекулу полезной нагрузки, например, трансген, полинуклеотид, кодирующий полипептид или мультиполипептид, или модулирующую нуклеиновую кислоту. Вирусные векторы согласно изобретению могут быть получены рекомбинантно с применением способов, известных специалистам в данной области. Такие методы хорошо описаны в литературе, например, в руководствах *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed. 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press;

and Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1989) Academic Press.

[00143] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусные частицы AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь векторный геном для экспрессии одного или более вариантов капсидного белка, раскрытых в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторный геном вектора AAV может быть получен из генома вируса дикого типа, такого как AAV, с применением молекулярных методов для удаления генома дикого типа из вируса (например, AAV) и замены на ненативную нуклеиновую кислоту, такую как гетерологичная полинуклеотидная последовательность (например, кодирующая последовательность представляющего интерес трансгена). Обычно, для векторов AAV, одна или обе последовательности инвертированных концевых повторов (ITR) генома AAV дикого типа сохраняются в векторе AAV, тогда как другие части вирусного генома дикого типа заменяются ненативной последовательностью, такой как гетерологичная полинуклеотидная последовательность, между сохраненными ITR. Векторные геномы, раскрытые в настоящей заявке, могут включать элементы остова, полученные из генома AAV, кодирующую последовательность для варианта капсидного белка, раскрытого в настоящей заявке, и подходящий промотор в функциональной связи с кодирующей последовательностью. В некоторых примерах, раскрытые здесь векторные геномы могут дополнительно содержать регуляторные последовательности, регулирующие экспрессию и/или секрецию кодируемого белка. Такими примерами являются, но не ограничиваются ими, энхансеры, сайты сигнала полиаденилирования, внутренние сайты связывания с рибосомой (IRES), последовательности, кодирующие домены белковой трансдукции (PTD), сайты-мишени для микроРНК или их комбинации.

[00144] В некоторых примерах, описанные здесь векторные геномы могут быть одноцепочечными. В других примерах, раскрытые здесь векторные геномы могут быть двухцепочечными. Так, например, векторный геном, описанный в настоящей заявке, может представлять собой аутокомплементарный векторный геном AAV, который может содержать двухцепочечные части.

[00145] (1) *Элементы остова AAV*

[00146] В некоторых вариантах осуществления изобретения, геномы векторов, раскрытые в настоящей заявке, могут иметь один или более элементов остова, полученных из генома AAV, которые относятся к минимальным элементам генома AAV, необходимым для обеспечения биологической активности векторов AAV. Так, например, элементы остова, происходящие от генома AAV, могут включать сайт упаковки вектора для сборки в вирусную частицу AAV, один или несколько вариантов капсидного белка, раскрытых в настоящей заявке, элементы, необходимые для репликации вектора и/или для экспрессии содержащейся в нем последовательности, кодирующей трансген, в клетках-хозяевах.

[00147] В некоторых примерах, раскрытые здесь остовы векторного генома могут включать по меньшей мере одну последовательность инвертированного концевого

повтора (ITR). В некоторых примерах, остовы генома вектора согласно изобретению могут включать две последовательности ITR. В некоторых примерах, одна последовательность ITR может представлять собой 5'-конец полинуклеотидной последовательности, кодирующей трансген. В некоторых примерах, одна последовательность ITR может представлять собой 3'-конец полинуклеотидной последовательности, кодирующей трансген. В некоторых примерах, полинуклеотидная последовательность, кодирующая трансген согласно изобретению, может быть фланкирована с любой стороны последовательности ITR. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления изобретения, геном вектора содержит трансген, расположенный между первой ITR и второй ITR.

[00148] В некоторых вариантах осуществления изобретения, геномы векторов согласно изобретению могут включать последовательности или компоненты, происходящие по меньшей мере от одного отдельного серотипа AAV. В некоторых примерах, остовы генома вектора AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут включать по меньшей мере последовательность ITR из одного отдельного серотипа AAV. В некоторых примерах, остовы генома вектора AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут включать по меньшей мере последовательность ITR из одного отдельного серотипа AAV человека. Такой человеческий AAV может происходить от любого известного серотипа, например, от любого из серотипов 1-11. В некоторых примерах, используемые здесь серотипы AAV обладают тропизмом по отношению к тканям центральной нервной системы (ЦНС), тканям сердца, тканям скелетных мышц и/или тканям печени. В некоторых примерах, раскрытые здесь остовы генома вектора AAV могут иметь последовательность ITR серотипа AAV9.

[00149] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут представлять собой псевдотипированный вектор AAV (то есть, они могут содержать последовательности или компоненты, происходящие по меньшей мере от двух различных серотипов AAV). В некоторых вариантах осуществления изобретения, псевдотипированный вектор AAV согласно изобретению может включать остов генома AAV, полученный от одного серотипа AAV, и белок капсида, происходящий по меньшей мере частично от другого серотипа AAV. В некоторых примерах, псевдотипированные векторы AAV согласно изобретению могут иметь остов генома вектора AAV2 и капсидный белок, происходящий от серотипа AAV, обладающего тропизмом по отношению к ткани сердца (например, AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV8 или AAV9).

[00150] Для подтверждения успешного переноса генов с помощью вирусного вектора, важное значение может иметь мониторинг распределения вектора и эффективности экспрессии генов, опосредованной вектором. Это может быть достигнуто путем субклонирования репортерного гена в остов генома вектора. В некоторых примерах, раскрытые здесь остовы генома вектора AAV могут содержать репортерный ген. Для этой цели обычно используют несколько репортерных генов, которые включают,

но не ограничиваются ими, белки, флуоресцирующие в различных цветовых диапазонах спектра (включая белок, флуоресцирующий в зеленом диапазоне спектра (GFP); белок, флуоресцирующий в красном диапазоне спектра (RFP)); β -галактозидазу *E. coli* (LacZ) и различные формы люциферазы (Luc). В некоторых примерах, раскрытые здесь остовы векторов AAV могут содержать GFP.

[00151] Описанные здесь векторные конструкции могут быть получены с применением известных способов (см., например, *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel, F. et al., eds, Wiley and Sons, New York 1995). Длина фрагмента может быть выбрана таким образом, чтобы рекомбинантный геном не превышал упаковочную емкость частицы AAV. При необходимости, в конструкцию может быть добавлена «заполняющая» последовательность ДНК для поддержания стандартного размера генома AAV в целях сравнения. Такой фрагмент может быть получен из невирусных источников, например, lacZ или других генов, которые известны и доступны специалистам в данной области.

[00152] (2) *Аутокомплементарные вирусные векторы AAV*

[00153] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут быть аутокомплементарными векторами AAV (scAAV). Аутокомплементарные векторы AAV (scAAV) содержат комплементарные последовательности, которые способны спонтанно гибридизоваться (подвергаться рефолдингу с образованием двухцепочечного генома) при проникновении в инфицированные клетки, что устраняет необходимость преобразования одноцепочечного ДНК-вектора в соответствии с механизмом репликации ДНК клетки. AAV согласно изобретению, имеющий аутокомплементарный геном, может быстро образовывать двухцепочечную молекулу ДНК благодаря своим частично комплементарным последовательностям (например, комплементарным кодирующим и некодирующим цепям последовательности, кодирующей трансген).

[00154] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор scAAV, описанный в настоящей заявке, может содержать первую гетерологичную полинуклеотидную последовательность и вторую гетерологичную полинуклеотидную последовательность, которые могут образовывать внутрицепочечные пары оснований. В некоторых примерах, первая гетерологичная полинуклеотидная последовательность и вторая гетерологичная полинуклеотидная последовательность связаны последовательностью, которая облегчает внутрицепочечное спаривание оснований, например, для образования структуры ДНК в виде шпильки. В некоторых примерах, димерная структура вектора scAAV после его проникновения в клетку может быть стабилизирована посредством мутации или делеции одного из двух терминальных сайтов расщепления (trs). Поскольку trs представляют собой сайты связывания Rep, содержащиеся в каждом ITR, то мутация или делеция таких trs могут предотвращать расщепление димерной структуры вектора scAAV белками Rep AAV с образованием мономеров. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусный вектор scAAV, описанный в настоящей заявке, может включать усеченные 5'-инвертированные концевые

повторы (ITR), усеченные 3'-ITR или то и другое. В некоторых примерах, вектор scAAV, описанный в настоящей заявке, может содержать усеченный 3'-ITR, в котором D-область или ее часть (например, терминальная последовательность расщепления, находящаяся в этой области) может быть делетирована. Такой усеченный 3'-ITR может быть расположен между первой гетерологичной полинуклеотидной последовательностью и второй гетерологичной полинуклеотидной последовательностью, указанными выше.

(3) Промоторы

[00155] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, содержат дополнительные элементы, необходимые для экспрессии, такие как по меньшей мере один подходящий промотор, который регулирует экспрессию последовательности, кодирующей трансген. Такие промоторы могут представлять собой повсеместно встречающиеся, тканеспецифические, сильные, слабые, регулируемые, химерные промоторы и т.д., обеспечивающие эффективное и подходящее продуцирование белка в инфицированной ткани. Промотор может быть гомологичен кодируемому белку или он может быть гетерологичным, включая клеточные, вирусные, грибковые, растительные или синтетические промоторы. Наиболее предпочтительные промоторы для использования согласно изобретению могут быть функциональными в клетках человека. Неограничивающими примерами повсеместно встречающихся промоторов являются вирусные промоторы, а в частности, промотор CMV, промотор RSV, промотор SV40 и т.п., и клеточные промоторы, такие как промотор PGK (фосфоглицераткиназы). В некоторых вариантах осуществления изобретения, вирусные промоторы могут представлять собой промотор CMV, промотор SV40 или любую их комбинацию.

[00156] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут содержать дополнительные элементы, необходимые для экспрессии, такие как по меньшей мере один подходящий промотор, который регулирует экспрессию кодирующей трансген последовательности после инфицирования соответствующих клеток. Подходящими промоторами для применения согласно изобретению являются, помимо промоторов AAV, например, промотор цитомегаловируса (CMV) или гибридный промотор куриного бета-актина/цитомегаловируса (CAG); промотор, специфичный для эндотелиальных клеток, такой как промотор VE-кадгерина, а также промоторы стероидов и промоторы металлотионеина. В некоторых вариантах осуществления изобретения, промотор, используемый в раскрытых здесь векторах, может представлять собой промотор CAG.

[00157] В некоторых вариантах осуществления изобретения, последовательность, кодирующая трансген согласно изобретению, содержит тканеспецифический промотор, который функционально связан с экспрессируемой последовательностью, кодирующей трансген. Соответственно, специфичность векторов согласно изобретению для ткани (например, головного мозга, сердца, мышцы, печени) может быть еще больше увеличена. В некоторых примерах, раскрытый здесь вектор может иметь тканеспецифический

промотор, активность которого в конкретной ткани по меньшей мере приблизительно в 2, 5, 10, 20, 50 или 100 раз выше, чем активность в ткани, которая не является специфической тканью. В некоторых примерах, тканеспецифический промотор согласно изобретению представляет собой тканеспецифический промотор человека. В некоторых примерах, экспрессионный кластер может также включать энхансерный элемент для повышения уровней экспрессии экзогенного белка. Кроме того, экспрессионный кластер может дополнительно содержать последовательности полиаденилирования, такие как последовательности полиаденилирования SV40 или последовательности полиаденилирования бычьего гормона роста.

(4) Другие регуляторные элементы для экспрессии генов

[00158] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут включать один или несколько обычных регуляторных элементов, которые функционально связаны с последовательностью, кодирующей трансген, так, чтобы это обеспечивало транскрипцию, трансляцию и/или экспрессию в клетке, трансфицированной плазмидным вектором или инфицированной вирусом, продуцируемым в соответствии с настоящим изобретением. Используемый здесь термин «функционально связанные» последовательности может включать последовательности регуляции экспрессии, которые являются смежными с последовательностью, кодирующей трансген, и последовательности регуляции экспрессии, которые действуют в транс-ориентации или на определенном расстоянии и обеспечивают регуляцию экспрессии последовательности, кодирующей трансген. Последовательности регуляции экспрессии могут дополнительно включать соответствующие последовательности инициации, терминации транскрипции, последовательности промотора и энхансера; эффективные сигналы процессинга РНК, такие как сигналы сплайсинга и полиаденилирования (poly-A); последовательности, стабилизирующие цитоплазматическую мРНК; последовательности, повышающие эффективность трансляции (например, консенсусную последовательность Козака); последовательности, повышающие стабильность белка; и, при необходимости, последовательности, которые усиливают секрецию кодируемого продукта. Специалистам известно большое количество последовательностей регуляции экспрессии, включая промоторы, которые являются нативными, конститутивными, индуцибельными и/или тканеспецифическими, и все эти последовательности могут быть использованы в настоящем изобретении.

[00159] В некоторых вариантах осуществления изобретения, в раскрытый здесь вектор AAV, для изменения его тропизма, может быть включен модифицированный капсид, например, белки или пептиды невирусного происхождения или структурно модифицированные белки или пептиды. Так, например, капсид может включать лиганд конкретного рецептора или рецептора конкретного лиганда для нацеливания вектора на клетки определенного(ых) типа(ов), экспрессирующие указанный рецептор или лиганд, соответственно.

(C) Серотип вирусных частиц AAV

[00160] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут быть получены из AAV различных серотипов или могут происходить от них. Термин «серотип» относится к AAV, имеющим капсиды, которые серологически отличаются от капсидов AAV других серотипов. Серологические особенности определяются по отсутствию перекрестной реактивности между антителами против конкретного AAV по сравнению с другими AAV. Перекрестная реактивность может быть определена с применением известных методов. Так, например, перекрестная реактивность согласно изобретению может быть определена с помощью анализа на нейтрализующие антитела. Для проведения этого анализа получают поликлональную сыворотку против конкретного AAV у кроликов или другого подходящего животного-модели с использованием аденоассоциированных вирусов. В этом анализе, сыворотку, полученную против определенного AAV, тестируют на ее способность нейтрализовать либо тот же самый (гомологичный), либо гетерологичный AAV. Разведение, при котором достигается 50% нейтрализация, рассматривается как титр нейтрализующих антител. Если для двух AAV отношение гетерологичного титра к гомологичному титру составляет менее 16 в обратном порядке, то эти два вектора рассматриваются как векторы с одним и тем же серотипом. И наоборот, если отношение гетерологичного титра к гомологичному титру равно 16 или более в обратном порядке, то два AAV рассматриваются как AAV с различными серотипами.

[00161] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут быть получены путем смешивания AAV по меньшей мере двух серотипов или вирусов других типов с получением химерных (например, псевдотипированных) вирусов AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут представлять собой вектор AAV серотипа человека. Такой человеческий AAV может происходить от любого известного серотипа, например, от любого из серотипов 1-11.

(D) Способы получения частиц AAV

[00162] В некоторых вариантах осуществления изобретения, геномы векторов AAV, описанные в настоящей заявке, могут быть упакованы в вирусные частицы, которые могут быть использованы в целях доставки генома для экспрессии кодирующей трансген последовательности в клетках-мишенях. В некоторых вариантах осуществления изобретения, геномы векторов AAV, раскрытые в настоящей заявке, могут быть упакованы в частицы путем временной трансфекции с использованием линий клеток-продуцентов, объединения вирусных элементов в гибриды Ad-AAV, использования систем герпесвирусов или продуцирования в клетках насекомых с использованием бакуловирусов.

[00163] Способ создания упаковывающей клетки для применения согласно изобретению может включать создание клеточной линии, которая стабильно экспрессирует все необходимые компоненты для получения частиц AAV. Так, например,

плазмиду (или несколько плазмид), содержащую геном гAAV, в котором отсутствуют гены гер и сар AAV, гены гер и сар AAV, отделенные от генома гAAV, и селективный маркер, такой как ген резистентности к неомицину, интегрируют в геном клетки. Геномы AAV были введены в бактериальные плазмиды с помощью таких процедур, как присоединение GC по концам, добавление синтетических линкеров, содержащих сайты расщепления рестриктирующей эндонуклеазой, или путем прямого лигирования по тупым концам. Затем упаковывающую клеточную линию инфицируют вирусом-помощником, таким как аденовирус. Преимущества этого метода заключаются в том, что эти клетки поддаются отбору и являются подходящими для крупномасштабного продуцирования гAAV. Подходящими примерами применяемых здесь способов для введения геномов гAAV и/или генов гер и сар в упаковывающие клетки, являются способы, в которых используют аденовирус или бакуловирус, но не плазмиды.

(E) Свойства векторов AAV и частиц AAV

[00164] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь одно или более преимуществ по сравнению с природными выделенными векторами AAV. Используемый здесь термин «природный выделенный вектор AAV» относится к вектору, который не содержит один или более вариантов капсидного белка согласно изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь повышенную эффективность переноса генов в клетку по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут обладать повышенной эффективностью переноса генов в клетку, то есть, по меньшей мере приблизительно в 2-50 раз (например, приблизительно в 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 раз) превышающей эффективность переноса генов в клетку посредством природных выделенных векторов AAV.

[00165] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь повышенную эффективность переноса генов в клетку и/или в ткань млекопитающих одного или более видов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь повышенную эффективность переноса генов в клетку и/или ткань млекопитающих одного или более видов, например, *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макаки) или *Homo sapiens* (человека) и любых их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь повышенную эффективность переноса генов в клетку и/или ткань млекопитающего, а именно, в клетку и/или ткань спинного мозга (например, глиальные клетки, нейроны, эндотелиальные клетки), спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки, печени и любой их

комбинации.

[00166] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь более высокий титр вектора по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут иметь титр, который по меньшей мере приблизительно в 2-50 раз (например, приблизительно в 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 раз) превышает титр вектора по сравнению с природными выделенными векторами AAV.

[00167] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут быть менее восприимчивы к опосредованной антителами нейтрализации по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут быть менее восприимчивы к опосредованной антителами нейтрализации, например, приблизительно в 2-50 раз (например, приблизительно в 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 раз) по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут быть менее восприимчивы к опосредованной антителами нейтрализации по меньшей мере приблизительно через 1 час - 24 часа (например, приблизительно через 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 часа) после введения такого вектора индивидууму по сравнению с природными выделенными векторами AAV.

[00168] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут продуцировать более низкие уровни антител против AAV после по меньшей мере одного их введения индивидууму по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут продуцировать приблизительно в 2-50 раз (например, приблизительно в 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 раз) меньше антител против AAV после по меньшей мере одного введения такого вектора индивидууму по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, генотерапия, включающая введение векторов AAV (например, ssAAV) и/или частиц AAV согласно изобретению, может быть проведена приблизительно от 2 до приблизительно 10 раз (например, приблизительно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 раз) индивидууму, у которого не будет вырабатываться восприимчивость к опосредованной антителами нейтрализации.

[00169] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут экспрессироваться в клетках или тканях любого типа более, чем у одного млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут экспрессироваться в клетках или тканях любого типа более, чем у одного млекопитающего, включая человека, мышь, крысу, морскую свинку,

собаку, кошку, лошадь, корову, свинью или приматов, не являющихся человеком (например, мартышек, шимпанзе, павианов, горилл). В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV (например, ссAAV) и/или частицы AAV согласно изобретению могут экспрессироваться в клетках или тканях любого типа у человека, мыши, собаки и примата, не являющегося человеком.

III. Фармацевтические композиции

[00170] В некоторых вариантах осуществления изобретения, любой из AAV-векторов (например, ссAAV), вирусных капсидов и/или вирусных частиц AAV, описанных в настоящей заявке, может быть получен для приготовления фармацевтической композиции. В некоторых примерах, фармацевтическая композиция согласно изобретению может дополнительно включать фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или наполнитель. Любая из фармацевтических композиций, используемых в способах согласно изобретению, может содержать фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы в форме лиофилизированных препаратов или водных растворов.

[00171] Носитель в фармацевтической композиции должен быть «приемлемым» в том смысле, что он будет совместим с активным ингредиентом композиции и, предпочтительно, способен стабилизировать активный ингредиент и не будет давать негативный эффект у индивидуума, проходящего лечение. Так, например, термин «фармацевтически приемлемый» может относиться к молекулярным соединениям и другим ингредиентам композиций, включающим такие компоненты, которые являются физиологически переносимыми и обычно не вызывают неблагоприятных реакций при их введении млекопитающему (например, человеку). В некоторых примерах, «фармацевтически приемлемый» носитель, используемый в фармацевтических композициях, раскрытых в настоящей заявке, может быть одобрен Регуляторными органами Федерального правительства или Правительства штата или указан в Фармакопее США или в другой общепризнанной фармакопее для введения млекопитающим, а более конкретно, человеку.

[00172] Фармацевтически приемлемые носители, включая буферы, хорошо известны специалистам в данной области и могут включать фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты; низкомолекулярные полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; аминокислоты; гидрофобные полимеры; моносахариды; дисахариды; и другие углеводы; металлокомплексы; и/или неионные поверхностно-активные вещества. См., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover.

[00173] В некоторых вариантах осуществления изобретения, фармацевтические композиции или составы предназначены для парентерального введения, такого как внутривенная, интрацеребровентрикулярная инъекция, инъекция в большую цистерну, внутривенная инъекция или их комбинация. Такие фармацевтически

приемлемые носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масло, включая масло нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такое как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло и т.п. Физиологические растворы и водные растворы декстрозы, полиэтиленгликоля (ПЭГ) и глицерина также могут быть использованы в качестве жидких носителей, а в частности, растворов для инъекций. Фармацевтические композиции, описанные в настоящей заявке, могут дополнительно содержать другие ингредиенты, например консерванты, буферы, агенты, придающие тоничность, антиоксиданты и стабилизаторы, неионные смачивающие или осветляющие агенты, агенты, повышающие вязкость, и т.п. Фармацевтические композиции согласно изобретению могут быть расфасованы в виде унифицированных лекарственных форм, которые представляют собой однократные или дробные дозы.

[00174] Составы, подходящие для парентерального введения, включают водные и безводные стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые сообщают составу изотоничность по отношению к крови предполагаемого реципиента; и водные и безводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Водные растворы могут быть соответствующим образом забуферены (предпочтительно до pH от 3 до 9). Приготовление подходящих парентеральных составов в стерильных условиях может быть легко осуществлено стандартными фармацевтическими методами, хорошо известными специалистам в данной области.

[00175] Фармацевтические композиции, используемые для введения *in vivo*, должны быть стерильными. Это может быть легко достигнуто, например, путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны. Стерильные растворы для инъекций обычно получают путем включения активного вещества (например, векторов AAV (например, ssAAV), вирусных капсидов и/или вирусных частиц AAV) в необходимом количестве в соответствующем растворителе с различными другими ингредиентами, перечисленными выше, по мере необходимости, с последующим стерилизацией на фильтре. Обычно, дисперсии приготавливают путем включения стерилизованного активного ингредиента в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций, предпочтительными способами приготовления являются вакуумная сушка и методика лиофилизации, которые позволяют получить порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора.

[00176] Раскрытые здесь фармацевтические композиции могут также содержать и другие ингредиенты, такие как разбавители и адьюванты. Приемлемые носители, разбавители и адьюванты являются нетоксичными для реципиентов и предпочтительно инертными в используемых дозах и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат или другие органические кислоты; антиоксиданты, такие как аскорбиновая

кислота; низкомолекулярные полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие агенты, такие как EDTA; спирты ряда сахаров, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как Твин, плуроники или полиэтиленгликоли.

IV. Способы применения

[00177] Любая из композиций (например, векторов AAV (например, ssAAV), вирусных капсидов и/или вирусных частиц AAV), описанных в настоящей заявке, может быть использована для ослабления симптомов и/или лечения заболевания или состояния. Таким образом, в некоторых своих аспектах, настоящее изобретение относится к способам ослабления одного или более симптомов и/или лечения заболевания или состояния у индивидуума, нуждающегося в таком лечении, с помощью раскрытых здесь композиций, а также фармацевтических композиций, содержащих эти композиции. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом, подвергаемым лечению описанными здесь способами, может быть человек. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом может быть индивидуум, который ранее не подвергался воздействию AAV дикого типа или рекомбинантного (rAAV) вектора. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом может быть индивидуум, которому ранее не вводили вектор rAAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом может быть индивидуум, которому ранее вводили вектор rAAV, например вектор rAAV, описанный в настоящей заявке. Индивидуум, подвергшийся воздействию или введению AAV или rAAV, может быть идентифицирован с применением способов, известных специалистам в данной области, например, путем ПЦР-детектирования вирусной ДНК или путем определения титра антител против AAV или rAAV, против капсида или против трансгена. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом может быть индивидуум, которому не проводили заместительную ферментную терапию (например, путем введения ферментного белка). Индивидуум, которому проводили заместительную ферментную терапию, может быть идентифицирован с применением способов, известных специалистам в данной области, например, путем определения титра антител к ферменту. Однако, в некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуум ранее проходил лечение посредством заместительной ферментной терапии. В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуумом является индивидуум, который проходил лечение в соответствии с одним или более подходами по очищению от нейтрализующих антител (NAb) (например, плазмаферезу, иммуносупрессии, ферментативному расщеплению). В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидууму, нуждающемуся в лечении с применением способов согласно изобретению, может не потребоваться очищение от нейтрализующих антител (NAb) перед введением любой из

композиций (например, векторов AAV (например, ssAAV), вирусных капсидов и/или вирусных частиц AAV) согласно изобретению.

[00178] В некоторых вариантах осуществления изобретения, индивидуум страдает заболеванием или у него имеется подозрение на заболевание, которое можно лечить с помощью генотерапии. Репрезентативными заболеваниями или состояниями, которые можно лечить с применением раскрытых здесь способов, могут быть, но не ограничиваются ими: кистозный фиброз (трансмембранный регуляторный белок при кистозном фиброзе) и другие заболевания легких, гемофилия А (фактор VIII), гемофилия В (фактор IX), талассемия (β -глобин), анемия (эритропоэтин) и другие заболевания крови, болезнь Альцгеймера (GDF; неприлизин), рассеянный склероз (β -интерферон), болезнь Паркинсона (нейротропный фактор, полученный из линии глиальных клеток [GDNF]), болезнь Гентингтона (РНКи для удаления повторов), боковой амиотрофический склероз, эпилепсия (галанин, нейротропные факторы) и другие неврологические расстройства, рак (эндостатин, ангиостатин, TRAIL, FAS-лиганд, цитокины, включая интерфероны; РНКи, включая РНКи против VEGF или множества продуктов гена резистентности к лекарственным средствам, miR-26a [например, для гепатоцеллюлярной карциномы]), сахарный диабет (инсулин), мышечные дистрофии, включая дистрофию Дюшенна (дистрофин, мини-дистрофин, инсулиноподобный фактор роста I, саркогликан [например, α , β , γ], РНКи против миостатина, пропептида миостатина, фоллистатина, растворимого рецептора активина типа II, противовоспалительных полипептидов, таких как доминантный мутант Икарра В, саркоспан, утрофин, миниутрофин, бессмысловые последовательности или РНКи против сплайсинговых стыков в гене дистрофина для индуцирования вырезания экзонов (см., например, WO/2003/095647), бессмысловые последовательности против мРНК U7 для индуцирования вырезания экзонов (см., например, WO/2006/021724) и антитела или фрагменты антител против миостатина или пропептида миостатина), болезнь Беккера, болезнь Гоше (глюкоцереброзидаза), болезнь Герлера (α -L-идуронидаза), дефицит аденозиндезаминазы (аденозиндезаминаза), болезни накопления гликогена (например, болезнь Фабри [α -галактозидаза] и болезнь Помпе [α -глюкозидаза в комбинации с лизосомной кислотой]) и другие нарушения обмена веществ, врожденная эмфизема (α -1-антитрипсин), синдром Леша-Нихана (гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза), болезнь Нимана-Пика (сфингомиелиназа), болезнь Тея-Сакса (лизосомная гексозаминидаза А), болезнь кленового сиропа (дегидрогеназа кетокислот с разветвленной цепью), дегенеративные заболевания сетчатки (и другие заболевания глаз и сетчатки; например, PDGF для устранения дегенерации желтого пятна и/или вазохибин или другие ингибиторы VEGF или другие ингибиторы ангиогенеза для лечения/профилактики заболеваний сетчатки, например, при диабете типа 1), заболевания «твердых» органов, таких как головной мозг (включая болезнь Паркинсона [GDNF], астроцитомы [эндостатин, ангиостатин и/или РНКи против VEGF], глиобластомы [эндостатин, ангиостатин и/или РНКи против VEGF]), болезни печени, почек, сердца, включая застойную сердечную недостаточность или заболевание периферических артерий

(ЗПА) (например, подвергаемую лечению путем доставки ингибитора протеинфосфатазы I (II) и их фрагментов (например, ПС), *serca2a*, белков «цинковые пальцы», которые регулируют уровень гена фосфоламбана, *Barkct*, P2-адренорецептора, p2-адренорецептора киназы (BARK), фосфоинозитид-3-киназы (PI3-киназы), S100A1, парвальбумина, аденилатциклазы типа 6, молекулы, которая вызывает нокдаун рецепторной киназы, связанной с G-белком, типа 2, такой как усеченная конститутивно активная *bARKct*; кальсарцина, РНКи против фосфоламбана; молекул, ингибирующих фосфоламбан или доминантно-негативных молекул, таких как фосфоламбан S16E и т.п.), артрит (инсулиноподобные факторы роста), заболевания суставов (инсулиноподобный фактор роста 1 и/или 2), гиперплазия интимы (например, подвергаемая лечению путем доставки *enos*, *inos*), заболевания, для лечения которых необходимо повышение выживаемости трансплантата сердца (супероксиддисмутаза), СПИД (растворимый CD4), атрофия мышц (инсулиноподобный фактор роста I), почечная недостаточность (эритропоэтин), анемия (эритропоэтин), артрит (противовоспалительные факторы, такие как IRAP и растворимый рецептор TNF α), гепатит (альфа-интерферон), дефицит рецептора ЛПНП (рецептор ЛПНП), гипераммониемия (орнитинтранскарбамилаза), болезнь Краббе (галактоцереброзидаза), болезнь Баттена, спинально-церебральные атаксии, включая SCA1, SCA2 и SCA3, фенилкетонурия (фенилаланингидроксилаза), аутоиммунные заболевания и т.п.

[00179] В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV, композиции AAV и способы их применения согласно изобретению могут быть использованы для лечения заболевания почек или почечного нарушения, такого как синдром Альпорта, доброкачественная наследственная гематурия, поликистоз почек (например, типа 1 или типа 2), болезнь фон Липпеля-Линдау, нефрогенный несахарный диабет, семейная гипокальциурическая гиперкальциемия, нефролитиаз, гипофосфатемический рахит, болезнь Фабри, нефронофития или резистентный к стероидам нефротический синдром.

[00180] Для осуществления способов, раскрытых в настоящей заявке, эффективное количество композиций (например, векторов AAV (например, *ssAAV*), вирусных капсидов и/или вирусных частиц AAV) или содержащей их фармацевтической композиции может быть введено индивидууму, нуждающемуся в лечении, подходящим способом (например, внутримышечно, внутривенно, путем интрацеребровентрикулярной инъекции, инъекции в большую цистерну, инъекции в стекловидное тело, субретинальной инъекции, субконъюнктивальной инъекции, ретробульбарной инъекции, внутрикамерной инъекции, супрахориоидальной инъекции, интракоронарной инъекции, внутриартериальной инъекции и/или внутривисцеральной инъекции) в подходящем количестве, как описано в настоящей заявке.

[00181] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение также относится к способам введения одного или более векторов AAV (например, *ssAAV*) в клетку, где указанные способы включают контактирование клетки с раскрытой здесь композицией. В

некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению могут включать доставку одного или более векторов AAV (например, ssAAV) согласно изобретению в клетку, где указанная доставка включает контактирование клетки или слоя с вирусным вектором, где вирусный вектор содержит вариант капсидного белка AAV согласно изобретению. В некоторых вариантах этого способа, векторы AAV (например, ssAAV) могут доставлять в клетку одну или более гетерологичных молекул. В соответствии с этими вариантами осуществления изобретения, векторы AAV (например, ssAAV) согласно изобретению могут доставлять в клетку одну или более терапевтических гетерологичных молекул. В некоторых примерах, одна или несколько терапевтических гетерологичных молекул, доставляемых в клетку с применением описанных здесь способов, могут представлять собой терапевтический белок, терапевтическую ДНК и/или терапевтическую РНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения, терапевтический белок может представлять собой моноклональное антитело или слитый белок. В некоторых вариантах осуществления изобретения, терапевтическая ДНК и/или РНК может представлять собой антисмысловой олигонуклеотид, киРНК, кшРНК, мРНК, ДНК-олигонуклеотид и т.п.

[00182] В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение также относится к способам введения вектора AAV (например, ssAAV) в ткань ЦНС, ткань сердца, ткань почек, ткань печени, ткань скелетной мышцы или любую их комбинацию, где указанные способы включают контактирование клетки с вирусным вектором и/или с композицией согласно изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения, векторы AAV согласно изобретению могут быть доставлены в конкретную ткань путем введения частиц AAV, содержащих один или несколько раскрытых здесь вариантов капсидного белка AAV с повышенным тропизмом по отношению к ткани ЦНС, ткани сердца, ткани почек, ткани печени, ткани скелетной мышцы или любой их комбинации.

[00183] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения в ткань по меньшей мере одного вектора AAV (например, ssAAV), вирусного капсида и/или вирусной частицы AAV, содержащей одну или более молекул нуклеиновой кислоты, существенно модулируют экспрессию по меньшей мере одного белка и/или гена по сравнению с исходным уровнем. Используемый здесь термин «исходный уровень» относится к экспрессии по меньшей мере одного трансгена (и кодируемого продукта трансгена) до введения векторов AAV (например, ssAAV) согласно изобретению. Используемый здесь термин «существенно модулирует экспрессию» относится по меньшей мере к однократному изменению уровня экспрессии (например, к повышению или снижению экспрессии) по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения в ткань по меньшей мере одной частицы AAV или вектора AAV (например, ssAAV), содержащих один или несколько вариантов капсидного белка AAV, раскрытых в настоящей заявке, модулируют экспрессию по меньшей мере одного белка и/или гена по сравнению с исходным уровнем по меньшей мере приблизительно в 2-50 раз (например, приблизительно в 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50

раз). В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одной частицы AAV или вектора AAV, содержащего один или несколько вариантов капсидного белка AAV, раскрытых в настоящей заявке, в ткань модулируют экспрессию по меньшей мере одного белка и/или гена по сравнению с исходным уровнем по меньшей мере приблизительно в 2-50 раз (например, приблизительно в 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 раз), если по меньшей мере одна частица AAV или вектор AAV (например, ssAAV) доставляются в ткань ЦНС, ткань почек, ткань сердца, ткань печени, ткань скелетной мышцы или любую их комбинацию.

[00184] В любом из способов, описанных в настоящей заявке, эффективное количество композиций (например, векторов AAV, вирусных капсидов, частиц AAV, геномов AAV, ssAAV), описанных в настоящей заявке, может быть введено индивидууму, нуждающемуся в этом, для ослабления одного или более симптомов, ассоциированных с заболеванием и/или состоянием. Используемый здесь термин «эффективное количество» означает дозу раскрытой здесь композиции, которая является достаточной для достижения терапевтического эффекта у индивидуума, страдающего таким заболеванием и/или патологическим состоянием. В некоторых вариантах осуществления изобретения, эффективное количество может представлять собой количество, которое уменьшает по меньшей мере один симптом заболевания или состояния у индивидуума.

[00185] В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одного вектора AAV (например, ssAAV), как описано в настоящей заявке, могут сообщать повышенную эффективность переноса генов в клетку по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одного вектора AAV, раскрытого в настоящей заявке, могут обеспечивать по меньшей мере приблизительно 2-50-кратное (например, приблизительно 2-, 4-, 6-, 8-, 10-, 20-, 30-, 40-, 50-кратное) повышение эффективности переноса генов в клетку по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одного вектора AAV, раскрытого в настоящей заявке, могут сообщать повышенную эффективность переноса генов в ткань по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одного вектора AAV, раскрытого в настоящей заявке, могут обеспечивать по меньшей мере приблизительно 2-50-кратное (например, приблизительно 2-, 4-, 6-, 8-, 10-, 20-, 30-, 40-, 50-кратное) повышение эффективности переноса генов в ткань по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одного вектора AAV, раскрытого в настоящей заявке, могут сообщать повышенную эффективность переноса генов у индивидуума по сравнению с природными выделенными векторами AAV. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы введения по меньшей мере одного вектора AAV, раскрытого в настоящей заявке, могут обеспечивать по меньшей мере приблизительно 2-50-кратное (например, приблизительно

2-, 4-, 6-, 8-, 10-, 20-, 30-, 40-, 50-кратное) повышение эффективности переноса генов у индивидуума по сравнению с природными выделенными векторами AAV.

[00186] В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут включать введение по меньшей мере одного вектора AAV (например, ssAAV) индивидууму по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанные здесь способы могут включать введение индивидууму по меньшей мере одной частицы AAV и/или по меньшей мере одного вектора AAV более, чем один раз. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению могут включать введение индивидууму по меньшей мере одного вектора AAV согласно изобретению по меньшей мере от одного раза до по меньшей мере 10 раз (например, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 раз). В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению могут включать введение индивидууму по меньшей мере одного вектора AAV согласно изобретению по меньшей мере два раза, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза или по меньшей мере 5 раз. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению могут включать введение индивидууму по меньшей мере одного вектора AAV согласно изобретению один раз в день, один раз в два дня, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в четыре месяца, один раз в год или два раза в год. В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы согласно изобретению могут включать введение индивидууму по меньшей мере одного вектора AAV согласно изобретению столько раз, сколько это будет необходимо для достижения желаемого ответа. В некоторых примерах, желаемый ответ может представлять собой ослабление по меньшей мере одного симптома заболевания и/или состояния у индивидуума после введения дозы вектора AAV согласно изобретению по сравнению с введением обычного вектора AAV. Специалисту в данной области будет очевидно, что схемы введения доз могут быть оптимизированы в зависимости от заболевания/состояния, тяжести заболевания/состояния, особенностей индивидуума (например, возраста, пола, массы тела) и т.п.

[00187] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV (например, ssAAV) согласно изобретению может быть использован для доставки сге-рекомбиназы. В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV (например, ssAAV) согласно изобретению может быть использован для доставки сге-рекомбиназы, приводящей к условной активации, условной инактивации, активации, инактивации или любой их комбинации для одного или более генов в клетке, ткани и/или у индивидуума. В соответствии с некоторыми из этих вариантов осуществления изобретения, вектор AAV (например, ssAAV) согласно изобретению доставляет сге-рекомбиназу в одну или более клеток и/или тканей конкретных типов.

[00188] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV (например, ssAAV) согласно изобретению может быть использован для доставки системы

CRISPR-Cas. Система «CRISPR/Cas9» или «CRISPR/Cas9-опосредованное редактирование генов» относится к системе CRISPR/Cas типа II, которая была модифицирована для редактирования/конструирования генома. Обычно, она состоит из «руководящей» РНК (рРНК) и неспецифической CRISPR-ассоциированной эндонуклеазы (Cas9). Термин «руководящая РНК (рРНК)» используется здесь как синоним термина «короткая руководящая РНК (крРНК)» или «одноцепочечная руководящая РНК (оцрРНК)». оцрРНК представляет собой короткую синтетическую РНК, состоящую из «каркасной» последовательности, необходимой для связывания Cas9, и определенной специалистом как «спейсерная» или «нацеливающая» последовательность длиной приблизительно 20 нуклеотидов, которая определяет геномную мишень, подлежащую модификации. Геномная мишень Cas9 может быть изменена путем модификации нацеливающей последовательности, присутствующей в оцрРНК.

[00189] В некоторых вариантах осуществления изобретения, вектор AAV содержит геном вектора, где этот геном вектора кодирует молекулу, редактирующую ген. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула для редактирования генов представляет собой нуклеазу. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеаза представляет собой нуклеазу Cas9. В некоторых вариантах осуществления изобретения, нуклеаза представляет собой нуклеазу Cas12a. В некоторых вариантах осуществления изобретения, молекула для редактирования генов представляет собой оцрРНК.

V. Наборы

[00190] Настоящее изобретение также относится к наборам для их применения в целях приготовления любой из описанных здесь композиций (например, векторов AAV, частиц AAV, геномов AAV, вирусных капсидов, ссAAV), и к наборам, которые могут иметь одно или несколько терапевтических применений, как описано в настоящей заявке. Набор для применения согласно изобретению может включать один или несколько контейнеров, дополнительно содержащих композицию (например, векторы AAV, частицы AAV, геномы AAV, вирусные капсиды, ссAAV), как описано в настоящей заявке, в составе фармацевтической композиции.

[00191] В некоторых вариантах осуществления изобретения, набор может дополнительно содержать инструкции по применению композиций (например, векторов AAV, частиц AAV, геномов AAV, вирусных капсидов, ссAAV) в любом из способов, описанных в настоящей заявке. Включенные инструкции могут содержать описание введения композиций или фармацевтической композиции, содержащей эти композиции, индивидууму для достижения предполагаемой активности у индивидуума. Набор может дополнительно содержать описание отбора индивидуума, подходящего для лечения, на основании определения того факта, нуждается ли индивидуум в таком лечении или нет. Инструкции, относящиеся к применению описанных здесь композиций, обычно включают информацию о дозах, схеме введения доз и о способе введения для осуществления предполагаемого лечения.

[00192] Контейнеры могут представлять собой стандартные дозы, объемные упаковки (например, многодозовые упаковки) или субунифицированные дозы. Инструкции, поставляемые в наборах согласно изобретению, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или вкладыше в упаковку. На этикетке или листке-вкладыше указано, что фармацевтические композиции используются для лечения, замедления начала развития и/или облегчения заболевания или расстройства у индивидуума.

[00193] Описанные здесь наборы находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, но не ограничивается ими, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку и т.п. Также рассматриваются упаковки для использования в сочетании с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для интраназального введения или устройство для инфузии. Набор может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). Контейнер может также иметь стерильный порт доступа.

[00194] Наборы могут содержать, но необязательно, дополнительные компоненты, такие как буферы и поясняющая информация. Обычно, набор включает контейнер и этикетку или листок-вкладыш (листки-вкладыши) на контейнере или внутри контейнера. В некоторых своих вариантах, настоящее изобретение относится к готовым изделиям, включающим содержимое наборов, описанных выше.

Примеры

[00195] Хотя настоящее изобретение описано со ссылкой на конкретные варианты его осуществления, однако, специалистам в данной области техники должно быть понятно, что в него могут быть внесены различные изменения и использованы эквиваленты, не выходящие за рамки истинного существа и объема изобретения. Кроме того, в настоящее изобретение может быть внесено множество модификаций для адаптации к конкретной ситуации, к материалу, к составу вещества, к способу, стадии или стадиям такого способа, к цели, духу и объему настоящего изобретения. При этом, предполагается, что все такие модификации входят в объем настоящего изобретения.

Пример 1. Межвидовая эволюция капсидов AAV

[00196] Способ получения совместно эволюционирующих вариантов капсидного белка AAV заключается в следующем. Первая стадия включает идентификацию конформационных трехмерных антигенных эпитопов на поверхности капсида AAV9 с помощью криоэлектронной микроскопии. Затем библиотеки AAV9 были сконструированы посредством мутагенеза с насыщением аминокислотных остатков, идентифицированных в поверхностных петлях. В частности, аминокислотные остатки в варибельной области IV (452-NGSGQNQ-458; SEQ ID NO: 38) и в варибельной области VIII (586-SAQAQAQ-592; SEQ ID NO: 39) были выбраны для мутагенеза с насыщением и получения двух различных библиотек AAV - библиотеки родительских AAV варибельной области IV (VR4) и варибельной области VIII (VR8). Выбранные остатки в

антигенных мотивах подвергали мутагенезу с использованием вырожденных праймеров, в которых каждый кодон заменяли нуклеотидами NNK, и фрагменты гена объединяли вместе посредством сборки Гибсона (метода на основе перекрывания последовательностей). В частности, для создания библиотек AAV VR4 (вариабельной области IV) и VR8 (вариабельной области VIII), олигонуклеотиды, содержащие 21-мер (NNRNNNRNRNNNRNRNRNR; SEQ ID NO: 124) и ветви гомологии с геном Cap AAV9, были синтезированы с помощью технологии Integrated DNA, где «N» соответствует любому нуклеотиду (A, T, G, C), а «R» соответствует либо G, либо C для предотвращения преждевременного образования стоп-кодона в библиотеке капсида.

[00197] Полученные гены, кодирующие капсид и содержащие вырожденную библиотеку мутированных антигенных мотивов, клонировали в геном AAV дикого типа для замены исходной последовательности ДНК, кодирующей Cap, с получением плазмидной библиотеки. В частности, плазида содержала гены, кодирующие AAV2 Rep и AAV9 Cap, фланкированные ITR AAV2, с аминокислотами в AAV9 Cap, мутированными так, чтобы стоп-кодона уменьшали загрязнение плазмиды AAV9 дикого типа.

[00198] Библиотеки родительских плазмид VR4 и VR8 затем переносили в линии клеток-продуцентов НЕК 293 с помощью аденовирусной хелперной плазмиды для создания родительских библиотек капсида AAV VR4 и капсида AAV VR8. Вкратце, клетки НЕК293 трансфицировали при 70-80% конфлюэнтности с полиэтиленгликолем с равными молярными соотношениями pTR-AAV9-библиотеки и аденовирусной хелперной плазмиды pXX680. Клетки HuH7 (гепатоцеллюлярной карциномы человека) культивировали до ~75% конфлюэнтности и инфицировали в течение ночи библиотеками AAV9 с 5000 вирусных геномов на клетку. На следующий день, культуральную среду заменяли средой, содержащей Ad5, при множественности заражения (MOI) 0,5. При цитопатическом эффекте от 50% до 75%, супернатант собирали и инкубировали при 55°C в течение 30 минут для инактивации Ad5. Резистентные к ДНКазе I вирусные геномы в среде определяли количественно, и эти геномы служили в качестве инокулята для последующего раунда инфицирования.

[00199] *Межвидовой скрининг капсида AAV in vivo.* Для отбора новых штаммов AAV9, которые могут «ускользнуть» от нейтрализующих антител (NAb), нацеливаться на центральную нервную систему (ЦНС) и/или действовать более сильно, чем природный AAV9, библиотеки AAV, полученные как описано выше, подвергали нескольким раундам или «циклам» инфицирования у млекопитающих трех различных видов. В первом цикле, библиотеки родительских капсидов AAV VR4 или библиотеки родительских капсидов AAV VR8, полученные как описано выше, вводили внутривенно (i.v.) 4-недельным пороссятам в дозе приблизительно от 3×10^{13} до 5×10^{13} вг/кг (вирусных геномов/килограмм). Поросят умерщвляли через 6 дней после инъекции, и вирусную ДНК амплифицировали с помощью ПЦР из геномной ДНК, выделенной из различных областей головного мозга (мозжечка, лобной доли, височной доли, теменной доли, затылочной

кору, гиппокампа, таламуса и среднего мозга) с использованием олигонуклеотидов, нацеленных на фланкирующие последовательности ДНК VR4 или VR8, которые использовали для амплификации последовательностей библиотеки AAV. Вкратце, для амплификации эволюционировавших библиотек AAV из этого первого цикла, устойчивые к ДНКазе I вирусные геномы выделяли из собранных тканей головного мозга свиней и амплифицировали полимеразой Q5 в течение 10-18 циклов с использованием праймеров 5'-CCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNGTACCTGTACTACTTGTCTCG-3' (SEQ ID NO 42) и 5'-GACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNAGACCATACCGGGTAAG-3' (SEQ ID NO: 43) для переменных областей IV и VIII.

[00200] Адаптер секвенирования Illumina MiSeq для проведения мультиплексной реакции был добавлен во втором раунде ПЦР с использованием полимеразы Q5 в присутствии праймеров. После каждого раунда ПЦР, продукты очищали с помощью набора PureLink PCR Micro (Invitrogen). Качество ампликонов проверяли с помощью биоанализатора (Agilent), а концентрации определяли количественно на спектрометре Qubit (Invitrogen). Ампликоны ПЦР, содержащие библиотеки VR4 или VR8, как было определено путем секвенирования по Сэнгеру, затем объединяли вместе и использовали для получения следующего препарата библиотеки.

[00201] Полученные ампликоны затем клонировали обратно в векторы для создания эволюционировавшей библиотеки плазмид с применением того же метода, который был использован для создания библиотеки родительских плазмид, за исключением того, что вместо сборки Гибсона, ампликоны собирали с помощью множественной ПЦР с удлинением и перекрытием. Библиотеки исходных плазмид VR4 и VR8 затем трансфицировали в клеточные линии-продуценты HEK 293 с помощью аденовирусной хелперной плазмиды для создания библиотек капсида VR4 AAV и эволюционных библиотек капсида VR8 AAV с применением того же метода, который был описан выше. Резистентные к ДНКазе I вирусные геномы в среде определяли количественно и эти геномы служили в качестве инокулята для последующего цикла инфицирования.

[00202] Во втором цикле, после эволюции у свиней, библиотеки родительских капсидов AAV VR4 или библиотеки родительских капсидов AAV VR8, полученные как описано выше, вводили внутривенно (i.v.) 8-недельным мышам C57/B6 в дозе приблизительно от 3×10^{13} до 5×10^{13} вг/кг. Мышей умерщвляли через 6 дней после инъекции, и вирусную ДНК амплифицировали с помощью ПЦР из геномной ДНК, выделенной из различных областей головного мозга (мозжечка, лобной доли, височной доли, теменной доли, затылочной коры, гиппокампа, таламуса и среднего мозга) с использованием олигонуклеотидов, нацеленных на фланкирующие последовательности ДНК VR4 или VR8, которые использовали для амплификации последовательностей библиотеки AAV как описано выше. Полученные ампликоны затем клонировали обратно в векторы для создания другой эволюционировавшей библиотеки плазмид с применением

того же метода, который был использован для создания первой эволюционировавшей библиотеки плазмид. На этот раз, вирусные геномы в среде были количественно определены и служили в качестве инокулята для третьего цикла.

[00203] После эволюции у свиней и мышей, эволюционировавшие библиотеки VR4 или VR8 вводили внутривенно (i.v.) приматам, не являющимся человеком, в возрасте 2 лет (NHP) в дозе приблизительно от 1×10^{13} до 3×10^{13} вг/кг. Вирусную ДНК амплифицировали из геномной ДНК, выделенной из различных областей головного мозга NHP, как описано выше. Амплифицированную вирусную ДНК подвергали крупномасштабному секвенированию с использованием платформы Illumina MiSeq, и полученные данные анализировали следующим образом.

[00204] Демультимплексированные риды были подвергнуты оценке контроля качества с использованием FastQC (v.0.11.5), при этом, ни одна из последовательностей не была отмечена как некачественная, и эти риды были проанализированы с помощью специально разработанного пакета программ Perl с применением методов, аналогичных описанным в публикации Tse et al., PNAS, 2017 Jun 13;114(24):E4812-E4821, которая в полном объеме включена в настоящее описание посредством ссылки. Вкратце, необработанные файлы секвенирования исследовали на наличие представляющих интерес мутагенизированных областей и частоту встречаемости различных нуклеотидных последовательностей в этой области подсчитывали и ранжировали для каждой библиотеки. Нуклеотидные последовательности также были транслированы, и эти аминокислотные последовательности были аналогичным образом подсчитаны и ранжированы. Частоту встречаемости аминокислотных последовательностей в библиотеках затем наносили на график с использованием пакета графических программ R v3.5.2. Второй пакет программ Perl использовали для вычисления встречаемости аминокислот в каждом положении в каждой библиотеке с учетом вклада каждого мутанта в библиотеку.

[00205] После проведения множества раундов эволюции библиотек для млекопитающих трех видов (например, свиней, мышей и NHP (то есть, обезьян)) было получено несколько вариантов капсида AAV9. Варианты капсида AAV9, полученные в результате межвидового скрининга *in vivo* с наибольшей частотой, были секвенированы. На «пузырьковых» графиках показаны разнообразие библиотек, направленная эволюция и обогащение новыми антигенными футпринтами в области VR8 и в области VR4 между родительскими библиотеками (фиг. 1A) и эволюционировавшими библиотеками после трех циклов для трех различных видов (фиг. 1B). Замены, присутствующие в этих AAV, либо в области IV (452-NGSGQNQ-458; SEQ ID NO: 38), либо в области VIII (586-SAQAQAQ-592; SEQ ID NO: 39), показаны в Таблице 5.

Таблица 5

Мутантный капсидный белок	Область аминокислотных	Последовательность аминокислотных замен
--------------------------------------	-----------------------------------	--

AAV9	замен		
AAV.cc41	IV (452-458)	EGGTVHA	(SEQ ID NO: 20)
AAV.cc42	IV (452-458)	FYGTDSA	(SEQ ID NO: 21)
AAV.cc43	IV (452-458)	HGQSASR	(SEQ ID NO: 22)
AAV.cc44	IV (452-458)	DTPTNQA	(SEQ ID NO: 23)
AAV.cc45	IV (452-458)	ITRQAYQ	(SEQ ID NO: 24)
AAV.cc46	IV (452-458)	RMFKSNQ	(SEQ ID NO: 25)
AAV.cc47	IV (452-458)	GVSLGGG	(SEQ ID NO: 26)
AAV.cc48	IV (452-458)	KHFLQGE	(SEQ ID NO: 27)
AAV.cc49	IV (452-458)	MGRERAG	(SEQ ID NO: 28)
AAV.cc81	VIII (586-592)	LNSSVPS	(SEQ ID NO: 29)
AAV.cc82	VIII (586-592)	YMDHQVS	(SEQ ID NO: 30)
AAV.cc83	VIII (586-592)	TSDSLVS	(SEQ ID NO: 31)
AAV.cc84	VIII (586-592)	NAVGALS	(SEQ ID NO: 32)
AAV.cc85	VIII (586-592)	MPISHHE	(SEQ ID NO: 33)
AAV.cc86	VIII (586-592)	DSGARGA	(SEQ ID NO: 34)
AAV.cc87	VIII (586-592)	NVALALG	(SEQ ID NO: 35)
AAV.cc88	VIII (586-592)	GALRMGM	(SEQ ID NO: 36)
AAV.cc89	VIII (586-592)	LSGEGAV	(SEQ ID NO: 37)

Пример 2. Характеризация рекомбинантных AAV у мышей *in vivo*.

[00206] Три рекомбинантных капсидных белка, AAV.cc47 (SEQ ID NO: 8), AAV.cc44 (SEQ ID NO: 5), AAV.cc81 (SEQ ID NO: 11) и AAV.cc84 (SEQ ID NO: 14), в совокупности называемые в этом примере «векторами ссAAV», были отобраны для характеристики *in vivo* у мышей. Затем были созданы рекомбинантные AAV, содержащие эти капсидные белки или нативный AAV9 и упаковку флуоресцентного трансгена. Вкратце, рекомбинантные капсидные белки, полученные в виде векторов, упаковывали либо CBh-GFP (AAV.cc81 и AAV.cc84), либо CBh-mCherry (AAV.cc47 и AAV.cc44). Вкратце, рекомбинантные векторы AAV были получены путем трансфекции клеток HEK293 при конфлюэнтности от 70 до 80% полиэтиленгликолем в соответствии с протоколом тройной плазмидной трансфекции. Рекомбинантные векторы, упаковывающие одноцепочечные геномы, кодирующие белок, флуоресцирующий в зеленом диапазоне спектра и индуцированный гибридным промотором куриного β -актина

(CBh-eGFP), белок, флуоресцирующий в вишневом (красном) диапазоне спектра и индуцированный гибридным промотором куриного β -актина (CBh-mCherry), или аутокомплементарный AAV9, индуцированный либо CBh-eGFP, либо CBh-mCherry, получали этим же методом. См. в целом фиг. 29А-29Б. Затем были проведены стадии, включающие сбор рекомбинантных векторов AAV и последующую очистку. Вкратце, очистку вектора проводили в соответствии с протоколом ультрацентрифугирования в градиенте йодаксинола, замены буфера и концентрирования на центрифужных колонках с отсечкой молекулярной массы 100 кДа (MWCO) vivaspin2 (F-2731-100 Bioexpress). Титры рекомбинантных векторов AAV определяли с помощью количественной ПЦР с использованием праймеров, амплифицирующих области инвертированных концевых повторов (ITR) AAV2 5'-AACATGCTACGCAGAGAGGGAGTGG-3' (SEQ ID NO: 44) и 5'-CATGAGACAAGGAACCCCTAGTGATGGAG-3' (SEQ ID NO: 45).

[00207] Мышам C57/BL6 внутривенно вводили в дозе 5×10^{13} вг/кг на мышь либо аутокомплементарный вектор AAV9, либо один из векторов ssAAV. Мышей умерщвляли через 4 недели после инъекции, собирали несколько органов и трансдукцию оценивали с помощью нативной флуоресценции или иммуногистохимии (ИГХ). На фиг. 2А-2В представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 (фиг. 2А) и AAV.cc47 (фиг. 2В) в вибротомных срезах сердца через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 2С представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных AAV.cc47, наблюдалась более устойчивая экспрессия mCherry в тканях сердца по сравнению с мышами, инфицированными векторами AAV9. На фиг. 2D показано векторное биораспределение AAV9 и AAV.cc47 в тканях сердца мышей. На фиг. 6А-6С представлены репрезентативные изображения, демонстрирующие экспрессию GFP AAV9 (фиг. 6А), AAV.cc81 (фиг. 6В) и AAV.cc84 (фиг. 6С) в вибротомных срезах сердца через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 6D представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных AAV.cc84, наблюдалась более сильная экспрессия GFP в тканях сердца по сравнению с мышами, инфицированными векторами AAV.cc81 или AAV9. На фиг. 26А представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 и AAV.cc44 в вибротомных срезах сердца через 24 часа после фиксации 4% PFA, а на фиг. 26В представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции.

[00208] На фиг. 3А-3В представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 (фиг. 3А) и AAV.cc47 (фиг. 3В) в вибротомных срезах скелетных мышц через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 3С представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных AAV.cc47, наблюдалась более сильная экспрессия mCherry в скелетных мышцах по сравнению с мышами, инфицированными векторами AAV9. На фиг. 7А-7В представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию GFP AAV9 (фиг. 7А) и AAV.cc81 (фиг. 7В) в вибротомных срезах скелетных мышц через

24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 7C представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных AAV.cc81, наблюдалась более сильная экспрессия GFP в скелетных мышцах по сравнению с мышцами, инфицированными векторами AAV9. На фиг. 26C представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 и AAV.cc44 в вибротомных срезах скелетных мышц через 24 часа после фиксации 4% PFA, а на фиг. 26D представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции.

[00209] На фиг. 4A-4B представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 (фиг. 4A) и AAV.cc47 (фиг. 4B) в вибротомных срезах печени через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 4C представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции в печени мышей, инфицированных векторами AAV.cc47 и AAV9. На фиг. 4D показано векторное биораспределение AAV9 и AAV.cc47 в тканях печени мышей. На фиг. 8A-8C представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию GFP AAV9 (фиг. 8A), AAV.cc81 (фиг. 8B) и AAV.cc84 (фиг. 8C) в вибротомных срезах печени через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 8D представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных векторами AAV.cc84, AAV.cc81 или AAV9, не обнаруживалась устойчивая экспрессия GFP в печени. На фиг. 27A представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 и AAV.cc44 в вибротомных срезах печени через 24 часа после фиксации 4% PFA, а на фиг. 27B представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции.

[00210] На фиг. 5A-5B представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 (фиг. 5A) и AAV.cc47 (фиг. 5B) в вибротомных срезах тканей почек через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 5C представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных AAV.cc47, наблюдалась более устойчивая экспрессия mCherry в почках по сравнению с мышцами, инфицированными векторами AAV9. На фиг. 9A-9B представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию GFP AAV9 (фиг. 9A) и AAV.cc81 (фиг. 9B) в вибротомных срезах скелетных мышц через 24 часа после фиксации 4% PFA. На фиг. 9C представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции, где у мышей, инфицированных AAV.cc81, наблюдалась более сильная экспрессия GFP в скелетных мышцах по сравнению с мышцами, инфицированными векторами AAV9. На фиг. 27C представлены репрезентативные изображения, иллюстрирующие экспрессию mCherry AAV9 и AAV.cc47 в вибротомных срезах тканей почек через 24 часа после фиксации 4% PFA, а на фиг. 27D представлен количественный анализ скорректированной общей флуоресценции.

[00211] Срезы головного мозга собирали у мышей через 4 недели после внутривенной инъекции в дозе 5×10^{13} вг/кг на мышшь либо аутокомплементарного вектора

AAV9, либо одного из векторов ссAAV, и экспрессию вектора AAV оценивали в определенных участках головного мозга с помощью иммуногистохимического анализа для обнаружения mCherry или GFP. Как показано на фиг. 10А-10Е и фиг. 28А-28С, все векторы обнаруживали локализацию в ткани головного мозга, однако, надежность экспрессии вектора ссAAV варьировалась в зависимости от области головной мозга и в зависимости от типа варианта.

[00212] В целом, данные, приведенные в этом примере, показали, что эволюционировавшие капсидные варианты белков, присутствующие в большом количестве в тканях ЦНС, обладали повышенным тропизмом по отношению к головному мозгу даже после системной инъекции мышам. Кроме того, эволюционировавшие векторы ссAAV показали сильную экспрессию в других тканях, не относящихся к ЦНС, включая ткани сердца, скелетных мышц и в некоторой степени печени. Неожиданным открытием стало то, что эволюционировавший вектор AVV.cc47, который имел аминокислотные замены только в VR4, продемонстрировал высокие уровни трансдуцирующей экспрессии mCherry в почках. На сегодняшний день не существует каких-либо известных векторов AAV, обладающих высокой эффективностью трансдукции в почках, и из протестированных векторов ссAAV только AAV.cc47 показал данный фенотип (AAV.cc81 и AAV.cc.84, имеющие аминокислотные замены в VR8, не экспрессировались в почках).

Пример 3. Характеризация рекомбинантных AAV у свиней in vivo.

[00213] Векторы ссAAV, упаковывающие репортерный ген флуоресценции, используемый в данном Примере 2, также использовали в Примере 3. В данном случае, пороссятам-отъемышам массой приблизительно 7 кг в возрасте 3 недель вводили путем интратекальной инфузии в дозе 3×10^{13} вг на поросенка приблизительно 7 кг (в 2 мл) аутокомплементарных векторов AAV9 или ссAAV. Поросят забивали через 4 недели после инъекции и собирали головной мозг, спинной мозг, сердце и печень. Трансдукцию оценивали по нативной флуоресценции или с помощью ИГХ, проводимой, как описано в настоящей заявке.

[00214] Делали срезы головного мозга поросят и эти срезы хранили в 4% PFA перед проведением ИГХ ткани для того, чтобы оценить эффективность трансдукции AVV.cc47 (фиг. 11А-11G) и AVV.cc84 (фиг. 12А-12G) в коре лобной доли, в коре теменной доли, в таламусе, в затылочной коре, в стволе головного мозга, в мозжечке и в среднем мозге. Также брали срез спинного мозга поросят и подвергали ИГХ для оценки эффективности трансдукции AVV.cc47 (фиг. 13А) и AVV.cc84 (фиг. 13В) в ткани. Для более тщательного изучения, белое и серое вещество спинного мозга свиньи также исследовали на эффективность трансдукции AVV.cc47 (фиг. 13С и 13Е) и AVV.cc84 (фиг. 13D и 13F), и на этот раз наблюдали либо флуоресценцию mCherry, либо флуоресценцию GFP при увеличении, соответственно.

[00215] Ткани сердца и печени свиньи также собирали во время умерщвления и подвергали ИГХ для оценки эффективности трансдукции AVV.cc47 (фиг. 14А-14С) и

AAV.cc84 (фиг. 14D-14F).

Пример 4. Характеризация рекомбинантных AAV *in vivo* у приматов, не являющихся человеком (NHP)

[00216] Векторы ccAAV, упаковывающие флуоресцентный репортерный ген, используемый в примерах 2 и 3, также использовали в Примере 4. В соответствии с настоящим изобретением, двухлетнему макаку-резусу (NHP) массой приблизительно 3 кг вводили в большую цистерну в дозе $3,5 \times 10^{12}$ вг/кг аутокомплементарный вектор AAV9, AAV.cc47 или AAV.cc84. NHP умерщвляли через 2 недели после инъекции и собирали головной мозг, печень, сердце и спинной мозг. Был проведен ИГХ-анализ mCherry на наличие AAV9 в печени (фиг. 15A) и в сердце (фиг. 15C) и на AAV.cc47 в печени (фиг. 15B) и в сердце (фиг. 15D). На фиг. 15E показано биораспределение векторов AAV9 и AAV.cc47 в печени и в сердце.

[00217] Затем головной мозг NHP подвергали ИГХ-анализу на mCherry для AAV9 и AAV.cc47 и на GFP для AAV.cc84. По сравнению с плацебо-обработанным срезом головного мозга (фиг. 16A), все AAV9, AAV.cc47 и AAV.cc84 показали некоторую трансдукцию в ткани головного мозга (фиг. 16B-16D). Данные свидетельствуют о том, что: (1) капсиды различных видов имели уникальные профили биораспределения и отличались от AAV9; (2) AAV.cc47, по-видимому, распространяется глубже в ткани головного мозга и трансдуцирует больше клеток; и (3) AAV.cc84 также хорошо распространялся в ткани, но трансдуцировал (более специфично) меньшее количество клеток.

Пример 5. Трансдукция AAVcc47 в сердце

[00218] Для подтверждения трансдукции AAVcc47 в сердце, кардиомиоциты iPSC человека трансдуцировали с помощью AAV9 или AAV.cc47, упаковывающего GFP, индуцируемый промотором Cbh (фиг. 17A). Затем был количественно определен процент GFP⁺-клеток в области на нескольких изображениях (фиг. 17B). AAV9 или AAVcc47, упаковывающие CBh:GFP, вводили внутривенно мышам с моделью заболевания сердца у человека (фиг. 17C) и осуществляли флуоресцентную визуализацию очага заболевания сердца (фиг. 17D). AAV9 и AAV.cc47 снова вводили внутривенно мышам с моделью заболевания сердца у человека, но на этот раз путем доставки GFP под контролем промотора, индуцируемого повреждением после инфаркта миокарда. Иммунофлуоресценцию на тропонин Т (красный цвет) и GFP (зеленый цвет) проводили в ткани сердца, взятой у мышей после инъекции (фиг. 17E).

Пример 6. Рекомбинация Cre с векторами ccAAV

[00219] Самцам и самкам мышей Ai9 внутривенно вводили одноцепочечный вектор AAV9 или ccAAV в дозе 1×10^{12} вг/кг (N=3). Животных умерщвляли через 4 недели после инъекции, извлекали несколько органов и трансдукцию оценивали с помощью нативной флуоресценции или IF. На фиг. 18A-18D показаны репрезентативные изображения флуоресценции нативного tdTomato после внутривенного введения векторов AAV9 или ccAAV в сердце мыши, а на фиг. 18E показано биораспределение векторов

AAV9, AAV.cc47 и AAV.cc84 в ткани сердца. На фиг. 19A-19D показаны репрезентативные изображения флуоресценции нативного tdTomato после внутривенного введения векторов AAV9 или ssAAV в печень мыши, а на фиг. 19E показано биораспределение векторов AAV9, AAV.cc47 и AAV.cc84 в ткани печени. На Фиг. 20A-20D показаны репрезентативные изображения флуоресценции нативного tdTomato, окрашенного совместно с DAPI (ядерным маркером) и SPC после внутривенного введения векторов AAV9 или ssAAV в легкие мыши, а на фиг. 20E показано биораспределение векторов AAV9, AAV.cc47 и AAV.cc84 в ткани легких.

Пример 7. Редактирование гена CRISPR/Cas9 вектором ssAAV

[00220] Была использована стратегия двойного вектора с применением одного вектора с усеченным промотором CB, индуцирующим SaCas9, и промотором U6, индуцирующим одну оцрРНК, и второго вектора той же конструкции со второй оцрРНК (фиг. 21A). Самцам и самкам мышей Ai9 вводили внутривенно в дозе 2×10^{12} вг (N=6) двухцепочечные векторы, состоящие из оцрРНК1 и оцрРНК2, смешанных в отношении 50:50 с AAV9 или ssAAV. Животных умерщвляли через 4 недели после инъекции, собирали множество органов и трансдукцию оценивали с помощью нативной флуоресценции или иммунофлуоресценции (IF).

[00221] Нативную флуоресценцию tdTomato оценивали в печени и в сердце мышей Ai9 после введения AAV9 или AAV.cc47 (фиг. 21B). Эффективность редактирования генов определяли путем подсчета общего количества tdTomato⁺-клеток и деления результата на общее количество DAPI⁺-клеток (фиг. 21C). Анализ редактирования с помощью ПЦР проводили на тканях печени и сердца (фиг. 21D).

[00222] Результаты, представленные на фиг. 21A-21D, были подтверждены с использованием той же стратегии двойного вектора с промотором CB, индуцирующим экспрессию SaCas9, и каждый вектор имеет одну руководящую РНК, нацеленную на локус Rosa26. Эти векторы смешивали в равных количествах и вводили внутривенно в дозе 1×10^{14} вг/кг мышам Ai9. Печень мышей Ai9 разрезали и визуализировали на экспрессию нативного TdTomato (фиг. 22A). Количественную оценку эффективности редактирования генов проводили путем подсчета общего количества tdTomato⁺-клеток и нормализации к общему количеству клеток DAPI⁺-клеток (фиг. 22B). Сердца мышей Ai9 разрезали и визуализировали для оценки экспрессии нативного TdTomato (фиг. 22C).

[00223] В качестве средства для количественной оценки CB CRISPR/Cas9, интенсивность флуоресценции оценивали на нескольких изображениях для количественной оценки нативной экспрессии TdTomato в тканях сердца и печени самцов и самок мышей Ai9 (Фиг. 23A-23F). Кроме того, на фиг. 24A и 24B показана оценка относительной интенсивности ПЦР-полосы (оценка контроля, то есть, неотредактированного образца и отредактированного экспериментального образца). А на фиг. 25A и 25B, эффективность редактирования количественно оценивали по следующей формуле: Эффективность редактирования (%) = количество эритроцитов (подсчитанных с использованием изображения j (печень) или вручную (сердце)) / количество ядер,

окрашенных DAPI.

Пример 8. Введение ssAAV путем интрацеребровентрикулярной (ICV) инъекции

[00224] Новорожденным мышам р0 C57/BL6 вводили интрацеребровентрикулярную инъекцию (ICV) в дозе 1×10^{10} вг (N=4) аутокомплементарных векторов AAV9 или ssAAV, конструкции которых изображены на фиг. 29А и 29В. Животных умерщвляли через 4 недели после инъекции.

[00225] Экспрессию репортера детектировали по нативной флуоресценции. На фиг. 30А-30F показаны репрезентативные изображения mCherry или eGFP, экспрессируемых в головном мозге мыши после инъекции ICV AAV9 mCherry (фиг. 30А), AAV.cc44 (фиг. 30В), AAV.cc47 (фиг. 30С), AAV9 eGFP (фиг. 30D), AAV.cc81 (фиг. 30Е) или AAV.cc84 (фиг. 30F).

[00226] Иммунофлуоресценцию (ИФ) также осуществляли на тканях головного мозга, взятых у мышей через 4 недели после заражения. Ткани окрашивали: DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндолом), который визуализировал ядерную ДНК; антителом против NeurN (α -NeurN), которое специфически визуализировало ядра нейронов; и либо антителом против mCherry (α -mCherry), либо антителом против eGFP (α -GFP), которое визуализировало репортерную экспрессию инъецированного вектора AAV. Изображения были собраны для проведения ИФ для каждого антитела и объединены для обнаружения совместной локализации. На фиг. 31А-31В и фиг. 32А-32В показаны репрезентативные изображения области мозжечка, гиппокампа и коры головного мозга после проведения ИФ на тканях головного мозга мышей, собранных через 4 недели после инъекции AAV9 eGFP (фиг. 31А), AAV.cc84 (фиг. 31В), AAV9 mCherry (фиг. 32А) или AAV.cc47 (фиг. 32В). Количество нейронов с позитивным окрашиванием на eGFP и NeurN было количественно определено в мозжечке (фиг. 31С), в гиппокампе (фиг. 31D) и в коре головного мозга (фиг. 31Е) мышей, которым вводили либо AAV9 (eGFP), либо AAV.cc84. Количество нейронов с позитивным окрашиванием на mCherry и NeurN было количественно определено в мозжечке (фиг. 32С), в гиппокампе (фиг. 32D) и в коре головного мозга (фиг. 32Е) у мышей, которым вводили либо AAV9 (mCherry), либо AAV.cc47.

[00227] Специалисту в данной области будет очевидно, что настоящее изобретение хорошо адаптировано для достижения нужных целей и преимуществ, упомянутых в настоящей заявке, а также присущих ему. Описанное здесь изобретение представлено в виде предпочтительных вариантов его осуществления, и не должно рассматриваться как ограничение объема изобретения. Изменения в и другие варианты их применения могут быть внесены в настоящее изобретение специалистами в данной области, и эти изменения входят в объем формулы изобретения.

[00228] В настоящем изобретении не делается никакого допущения, что любая ссылка, включая любой непатентный или патентный документ, цитируемый в настоящем описании, указывает на предшествующий уровень техники. В частности, следует

отметить, что если это не оговорено особо, то ссылка на какой-либо указанный здесь документ не означает признание того, что любой из этих документов является частью общеизвестных знаний в данной области в Соединенных Штатах или в любой другой стране. В любом обсуждении ссылок указывается то, что утверждают их авторы, и заявитель оставляет за собой право оспаривать точность и актуальность любого из цитируемых здесь документов. Все документы, цитируемые в настоящей заявке, в полном объеме включены в настоящее описание посредством ссылки, если это не оговорено особо.

[00229] В случае каких-либо разночтений между любыми определениями и/или описаниями, найденными в цитируемых документах, следует отдать предпочтение определениям и/или описаниям, приведенным в настоящей заявке.

Пронумерованные варианты осуществления изобретения

[00230] Несмотря на прилагаемую формулу изобретения, в настоящем описании также рассматриваются нижеследующие пронумерованные варианты осуществления изобретения, которые составляют часть настоящего изобретения:

[00231] 1. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка содержит пептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19.

[00232] 2. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28.

[00233] 3. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[00234] 4. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28; и где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[00235] 5. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, которая по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентична этой последовательности.

[00236] 6. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, в которую было внесено 1-10, 11-20, 20-30 или 30-50 аминокислотных замен.

[00237] 7. Рекомбинантный вектор AAV согласно любому из вариантов 1-6, где вектор AAV содержит векторный геном.

[00238] 8. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 7, где геном вектора инкапсулирован капсидом AAV, содержащим вариант капсидного белка AAV.

[00239] 9. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 7 или 8, где геном вектора содержит первый инвертированный концевой повтор (ITR) и второй ITR.

[00240] 10. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 9, где геном вектора содержит трансген, расположенный между первым ITR и вторым ITR.

[00241] 11. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 10, где трансген кодирует терапевтическую РНК.

[00242] 12. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 10, где трансген кодирует терапевтический белок.

[00243] 13. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 10, где трансген кодирует молекулу редактирования гена.

[00244] 14. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 13, где молекула для редактирования генов представляет собой нуклеазу.

[00245] 15. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 14, где нуклеаза представляет собой нуклеазу Cas9.

[00246] 16. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 14, где нуклеаза представляет собой нуклеазу Cas12a.

[00247] 17. Рекомбинантный вектор AAV согласно варианту 13, где молекула для редактирования генов представляет собой одноцепочечную направляющую РНК (оцРНК).

[00248] 18. Вариант капсидного белка AAV, содержащий пептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19.

[00249] 19. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28.

[00250] 20. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[00251] 21. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28; и где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

[00252] 22. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, идентичную ей по меньшей мере на

90% или по меньшей мере на 95%.

[00253] 23. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 19, 46-123 или последовательность, в которую было внесено 1-10, 11-20, 20-30 или 30-50 аминокислотных замен.

[00254] 24. Капсид AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV согласно любому из вариантов 18-23.

[00255] 25. Капсид AAV согласно варианту 24, где капсид AAV содержит приблизительно 60 копий варианта капсидного белка AAV или его фрагментов.

[00256] 26. Капсид AAV согласно варианту 25, где варианты белка капсида AAV расположены с икосаэдрической симметрией T=1.

[00257] 27. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсида AAV согласно любому из вариантов 18-23 или капсид AAV согласно любому из вариантов 24-26.

[00258] 28. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный вектор AAV согласно любому из вариантов 1-17 и 27 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

[00259] 29. Способ введения рекомбинантного вектора AAV в клетку-мишень, включающий контактирование клетки-мишени с рекомбинантным вектором AAV согласно любому из вариантов 1-17 и 27, или с фармацевтической композицией согласно варианту 28.

[00260] 30. Способ доставки трансгена в клетку-мишень у индивидуума, включающий введение индивидууму рекомбинантного вектора AAV согласно любому из вариантов 1-17 и 27 или фармацевтической композиции согласно варианту 28.

[00261] 31. Способ согласно любому из вариантов 29 и 30, где клетка-мишень представляет собой клетку почки.

[00262] 32. Способ эволюции новых штаммов аденоассоциированных вирусов, включающий пассирование библиотек AAV у млекопитающих множества видов.

[00263] 33. Способ согласно варианту 32, где указанные библиотеки AAV содержат множество рекомбинантных векторов AAV, где каждый рекомбинантный вектор AAV содержит вариант капсидного белка, включающий одну или более аминокислотных мутаций по сравнению с капсидным белком AAV дикого типа.

[00264] 34. Способ согласно варианту 33, где каждый рекомбинантный вектор AAV в библиотеках AAV содержит одну или более аминокислотных мутаций по сравнению с капсидным белком AAV9 дикого типа (SEQ ID NO: 1).

[00265] 35. Способ согласно варианту 34, где одна или более аминокислотных мутаций находятся в областях, соответствующих аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1 или 586-592 SEQ ID NO: 1, или где мутации обнаружены в обеих областях, соответствующих аминокислотам 452-458 и 586-592 SEQ ID NO: 1.

[00266] 36. Способ согласно любому из вариантов 31-35, где способ включает введение первой библиотеки AAV млекопитающему первого вида.

[00267] 37. Способ согласно варианту 36, где AAV из первой библиотеки AAV, присутствующей в одной или в нескольких тканях-мишенях млекопитающих первого вида, секвенируют и используют для создания второй библиотеки AAV.

[00268] 38. Способ согласно варианту 37, где вторую библиотеку AAV вводят млекопитающему второго вида, где млекопитающее первого вида и млекопитающее второго вида отличаются друг от друга.

[00269] 39. Способ согласно варианту 38, где AAV из второй библиотеки AAV присутствуют в одной или более тканях-мишенях млекопитающих второго вида и подвергаются секвенированию.

[00270] 40. Способ согласно любому из вариантов 36-39, где каждое из млекопитающих первого вида и млекопитающих второго вида независимо выбраны из группы, состоящей из: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макак) или *Homo sapiens* (человека).

[00271] 41. Способ согласно варианту 40, где одну или более тканей-мишеней млекопитающих первого вида выбирают из тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации.

[00272] 42. Способ согласно варианту 40, где одну или более тканей-мишеней млекопитающих второго вида выбирают из тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации.

[00273] 43. Рекомбинантный аденоассоциированный вирус (AAV), содержащий вариант капсидного белка, полученный с применением способа согласно любому из вариантов 31-42.

[00274] 44. Рекомбинантный AAV согласно варианту 43, где AAV имеет повышенную эффективность переноса генов у одного или более видов млекопитающих по сравнению с рекомбинантным AAV, имеющим капсидный белок, который во всем остальном является идентичным, за исключением отсутствия одной или более аминокислотных замен.

[00275] 45. Рекомбинантный AAV согласно варианту 44, где повышенная эффективность переноса генов наблюдается у одного или более из: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макак) или *Homo sapiens* (человека).

[00276] 46. Рекомбинантный AAV согласно вариантам 43-45, где повышенная эффективность переноса генов наблюдается в клетках или тканях одного или более из нижеследующих типов: спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки,

толстой кишки или печени.

[00277] 47. Рекомбинантный AAV согласно варианту 46, где повышенная эффективность переноса генов наблюдается в клетках почек или в тканях почек.

[00278] 48. Способ лечения индивидуума, нуждающегося в этом, где указанный способ включает: введение индивидууму эффективного количества рекомбинантного вектора AAV согласно любому из вариантов 1-17, 27 и 43-47, или фармацевтической композиции согласно варианту 28.

[00279] 49. Способ согласно варианту 48, где индивидуум страдает заболеванием почек или нарушением функции почек.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсидного белка содержит пептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19.

2. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28.

3. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

4. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1,

a. где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28; и

b. где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

5. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, которая по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентична этой последовательности.

6. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV, где вариант капсида AAV имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, в которую было внесено 1-10, 11-20, 20-30 или 30-50 аминокислотных замен.

7. Рекомбинантный вектор AAV по любому из пп. 1-6, где вектор AAV содержит векторный геном.

8. Рекомбинантный вектор AAV по п.7, где геном вектора инкапсулирован капсидом AAV, содержащим вариант капсидного белка AAV.

9. Рекомбинантный вектор AAV по п.7 или 8, где геном вектора содержит первый инвертированный концевой повтор (ITR) и второй ITR.

10. Рекомбинантный вектор AAV по п.9, где геном вектора содержит трансген, расположенный между первым ITR и вторым ITR.

11. Рекомбинантный вектор AAV по п.10, где трансген кодирует терапевтическую РНК.

12. Рекомбинантный вектор AAV по п.10, где трансген кодирует терапевтический белок.

13. Рекомбинантный вектор AAV по п.10, где трансген кодирует молекулу

редактирования гена.

14. Рекомбинантный вектор AAV по п.13, где молекула для редактирования генов представляет собой нуклеазу.

15. Рекомбинантный вектор AAV по п.14, где нуклеаза представляет собой нуклеазу Cas9.

16. Рекомбинантный вектор AAV по п.14, где нуклеаза представляет собой нуклеазу Cas12a.

17. Рекомбинантный вектор AAV по п.13, где молекула для редактирования генов представляет собой одноцепочечную руководящую РНК (оцрРНК).

18. Вариант капсидного белка AAV, содержащий пептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19.

19. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28.

20. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

21. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1,

а. где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 20-28; и

б. где аминокислоты, соответствующие аминокислотам 586-592 SEQ ID NO: 1, заменены пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 29-37.

22. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2-19, 46-123 или последовательность, идентичную ей по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%.

23. Вариант капсидного белка AAV, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 19, 46-123 или последовательность, в которую было внесено 1-10, 11-20, 20-30 или 30-50 аминокислотных замен.

24. Капсид AAV, содержащий вариант капсидного белка AAV по любому из пп. 18-23.

25. Капсид AAV по п.24, где капсид AAV содержит приблизительно 60 копий варианта капсидного белка AAV или его фрагментов.

26. Капсид AAV по п.25, где варианты белка капсида AAV расположены с икосаэдрической симметрией T=1.

27. Рекомбинантный вектор AAV, содержащий вариант капсида AAV по любому из пп. 18-23 или капсид AAV по любому из пп. 24-26.

28. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный вектор AAV по

любому из пп. 1-17 и 27 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

29. Способ введения рекомбинантного вектора AAV в клетку-мишень, включающий контактирование клетки-мишени с рекомбинантным вектором AAV по любому из пп. 1-17 и 27, или с фармацевтической композицией по п.28.

30. Способ доставки трансгена в клетку-мишень у индивидуума, включающий введение индивидууму рекомбинантного вектора AAV по любому из пп. 1-17 и 27 или фармацевтической композиции по п.28.

31. Способ по любому из пп. 29 и 30, где клетка-мишень представляет собой клетку почки.

32. Способ эволюции новых штаммов аденоассоциированных вирусов, включающий пассирование библиотек AAV у млекопитающих множества видов.

33. Способ по п.32, где указанные библиотеки AAV содержат множество рекомбинантных векторов AAV, где каждый рекомбинантный вектор AAV содержит вариант капсидного белка, включающий одну или более аминокислотных мутаций по сравнению с капсидным белком AAV дикого типа.

34. Способ по п.33, где каждый рекомбинантный вектор AAV в библиотеках AAV содержит одну или более аминокислотных мутаций по сравнению с капсидным белком AAV9 дикого типа (SEQ ID NO: 1).

35. Способ по п.34, где одна или более аминокислотных мутаций находятся в областях, соответствующих аминокислотам 452-458 SEQ ID NO: 1 или 586-592 SEQ ID NO: 1, или где мутации обнаружены в обеих областях, соответствующих аминокислотам 452-458 и 586-592 SEQ ID NO: 1.

36. Способ по любому из пп. 31-35, где способ включает введение первой библиотеки AAV млекопитающему первого вида.

37. Способ по п.36, где AAV из первой библиотеки AAV, присутствующей в одной или более тканях-мишенях млекопитающих первого вида, секвенируют и используют для создания второй библиотеки AAV.

38. Способ по п.37, где вторую библиотеку AAV вводят млекопитающему второго вида, где млекопитающее первого вида и млекопитающее второго вида отличаются друг от друга.

39. Способ по п.38, где AAV из второй библиотеки AAV присутствуют в одной или более тканях-мишенях млекопитающих второго вида и подвергаются секвенированию.

40. Способ по любому из пп. 36-39, где каждое из млекопитающих первого вида и млекопитающих второго вида независимо выбраны из группы, состоящей из: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макаки) или *Homo sapiens* (человека).

41. Способ по п.40, где одну или более тканей-мишеней млекопитающих первого вида выбирают из тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации.

42. Способ по п.40, где одну или более тканей-мишеней млекопитающих второго вида выбирают из тканей спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени и любой их комбинации.

43. Рекомбинантный аденоассоциированный вирус (AAV), содержащий вариант капсидного белка, полученный с использованием способа по любому из пп. 31-42.

44. Рекомбинантный AAV по п.43, где AAV имеет повышенную эффективность переноса генов у одного или более видов млекопитающих по сравнению с рекомбинантным AAV, имеющим капсидный белок, который во всем остальном является идентичным, за исключением отсутствия одной или более аминокислотных замен.

45. Рекомбинантный AAV по п.44, где повышенная эффективность переноса генов наблюдается у одного или более из: *Mus Musculus* (мышей), *Sus scrofa* (свиней), *Canis Familiaris* (собак), приматов, не являющихся человеком (*Macaca*, макаки) или *Homo sapiens* (человека).

46. Рекомбинантный AAV по любому из пп. 43-45, где повышенная эффективность переноса генов наблюдается в клетках или тканях одного или более из нижеследующих типов: спинного мозга, спинномозговых узлов, головного мозга, сердца, легких, почек, скелетных мышц, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки или печени.

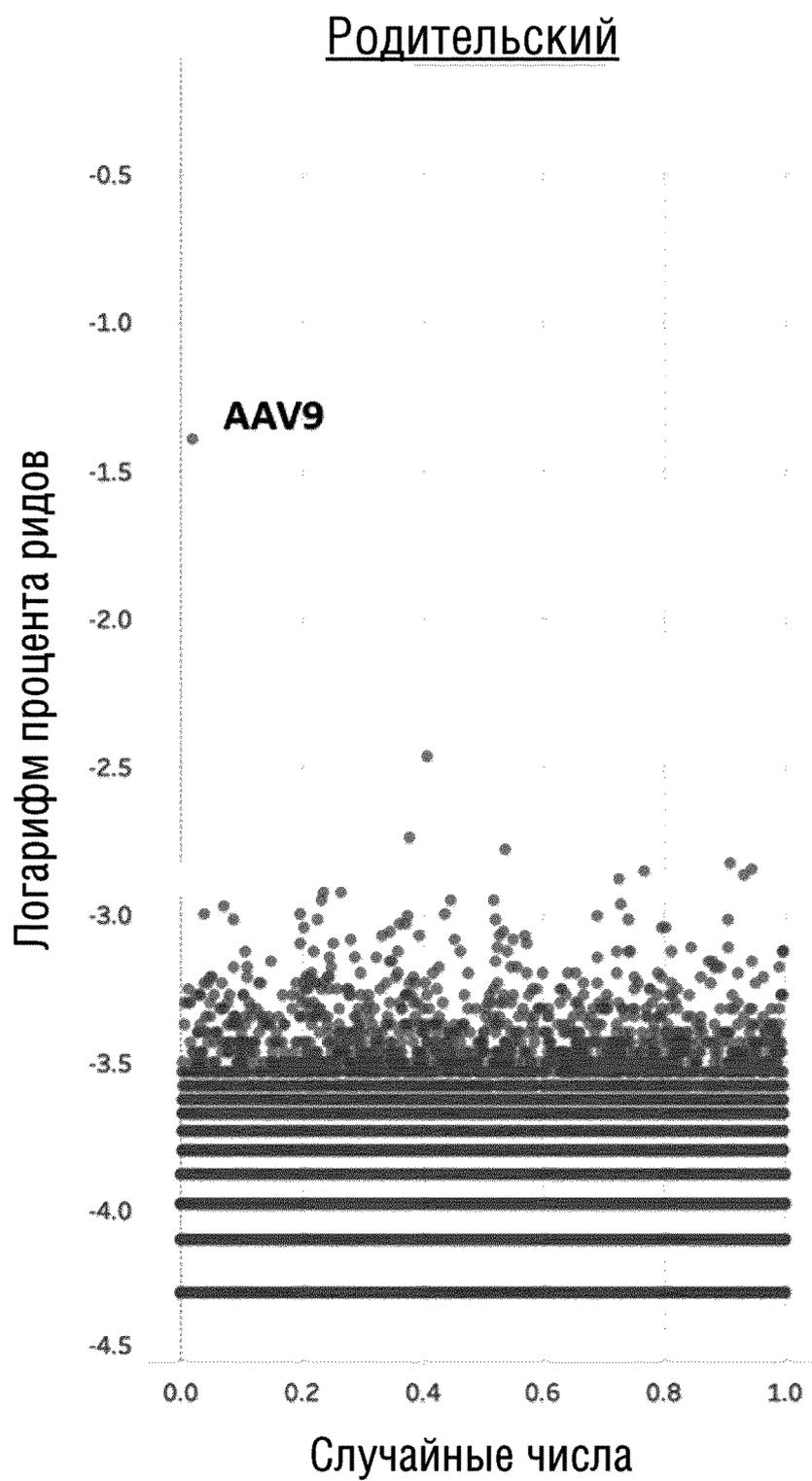
47. Рекомбинантный AAV по п.46, где повышенная эффективность переноса генов наблюдается в клетках почек или в тканях почек.

48. Способ лечения индивидуума, нуждающегося в этом, включающий введение индивидууму эффективного количества рекомбинантного вектора AAV по любому из пп. 1-17, 27 и 43-47 или фармацевтической композиции по п.28.

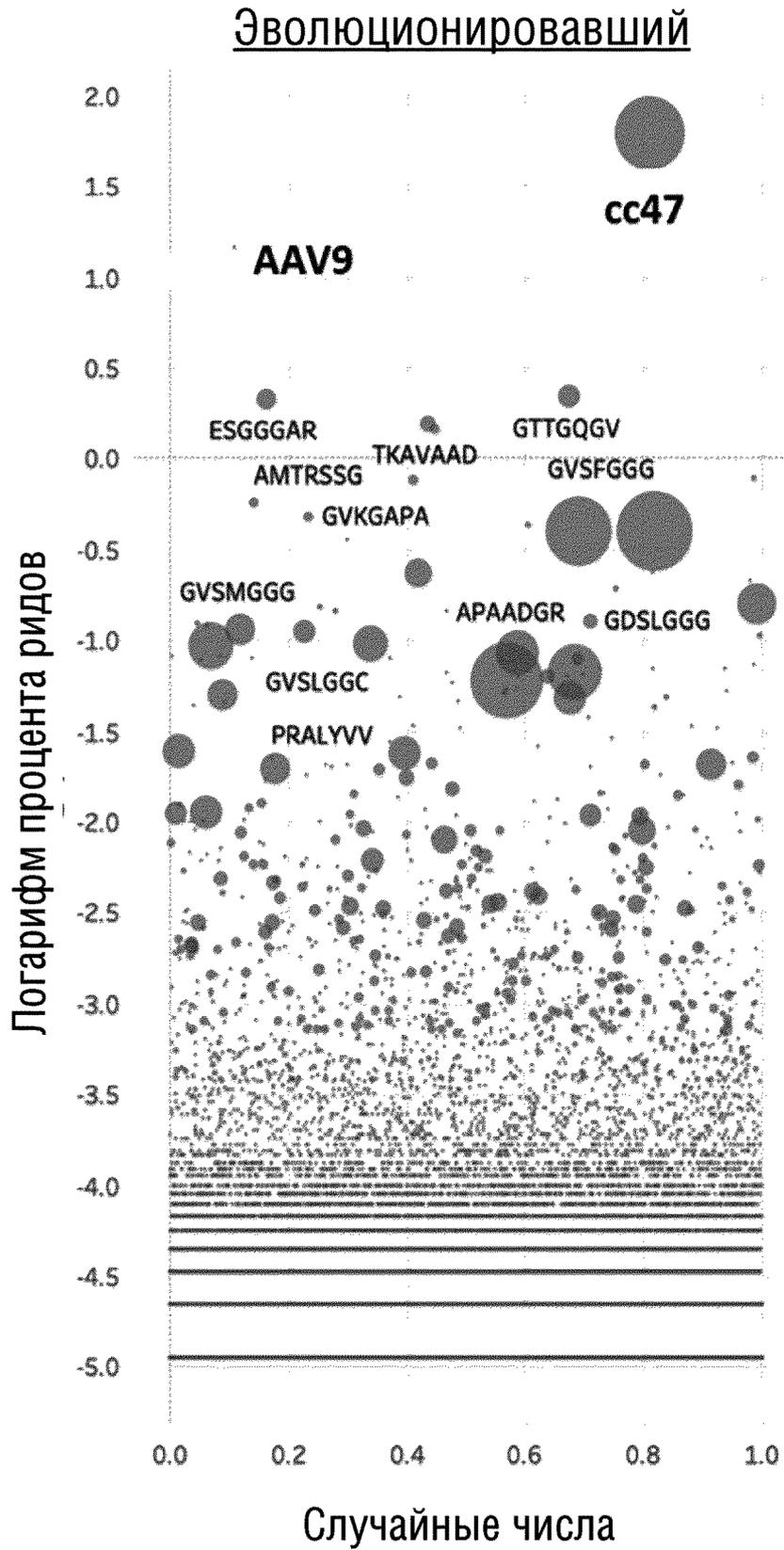
49. Способ по п.48, где индивидуум страдает заболеванием почек или нарушением функции почек.

По доверенности

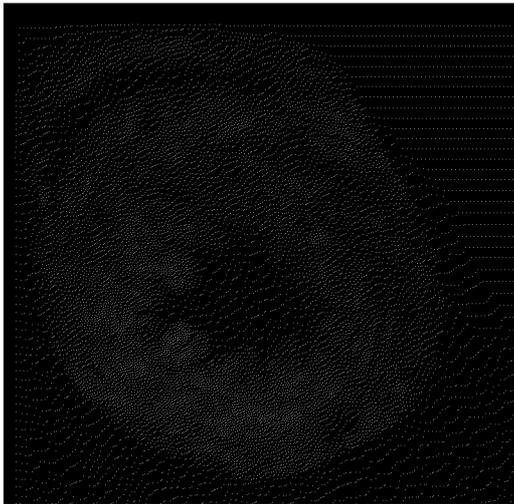
ФИГ.1А



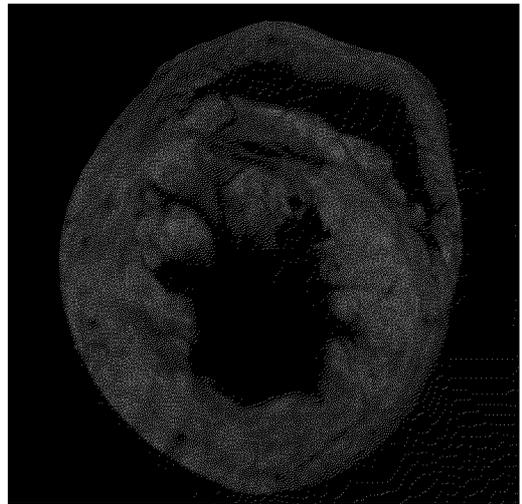
ФИГ.1В



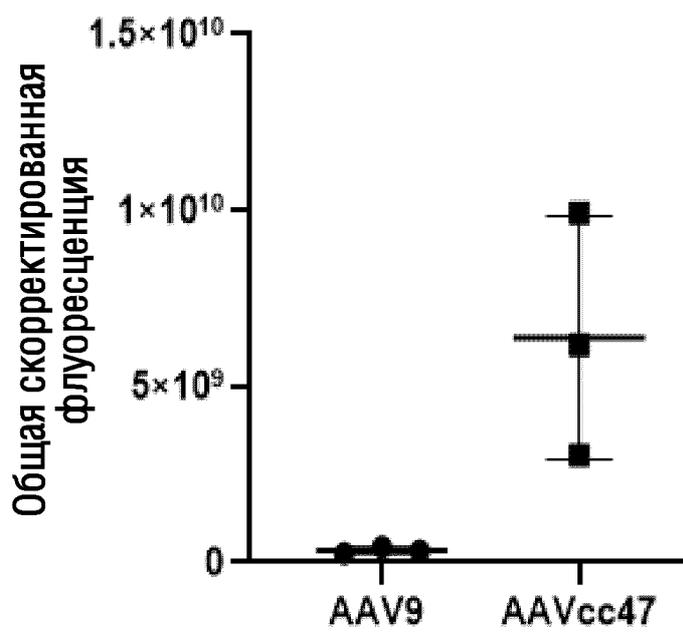
ФИГ.2А



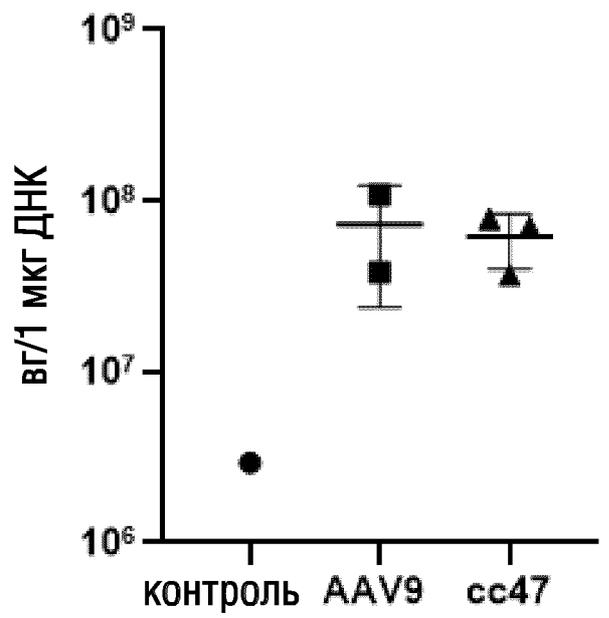
ФИГ.2В



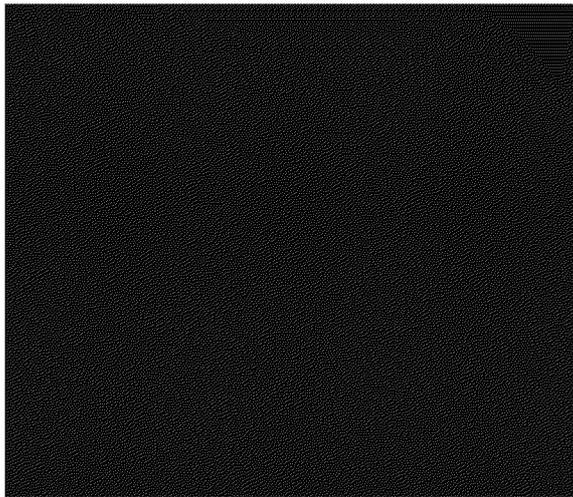
ФИГ.2С



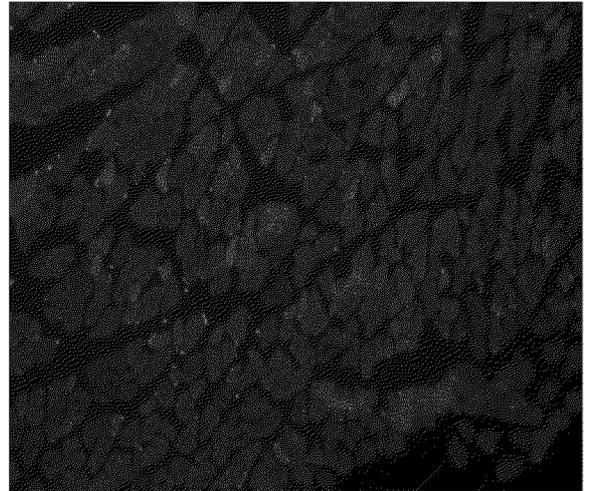
ФИГ.2D



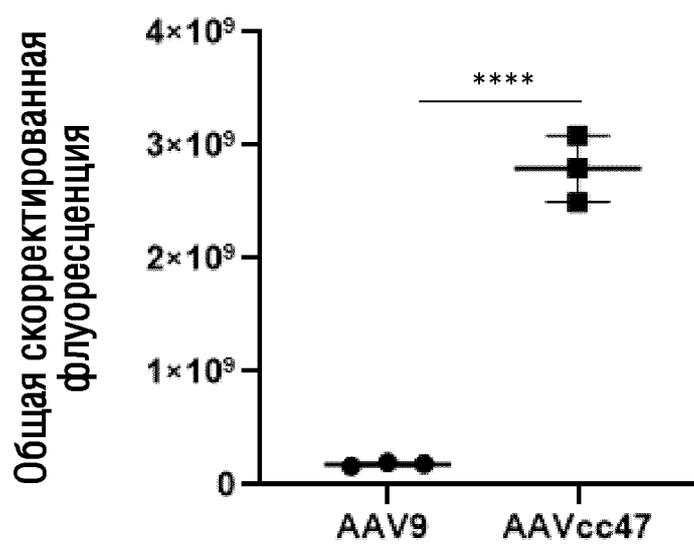
ФИГ.3А



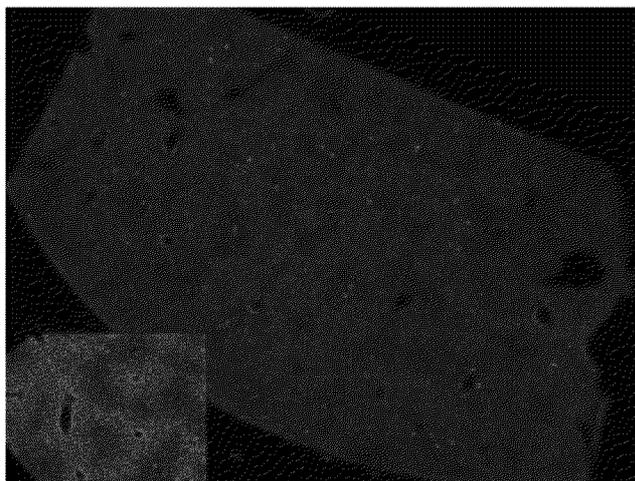
ФИГ.3В



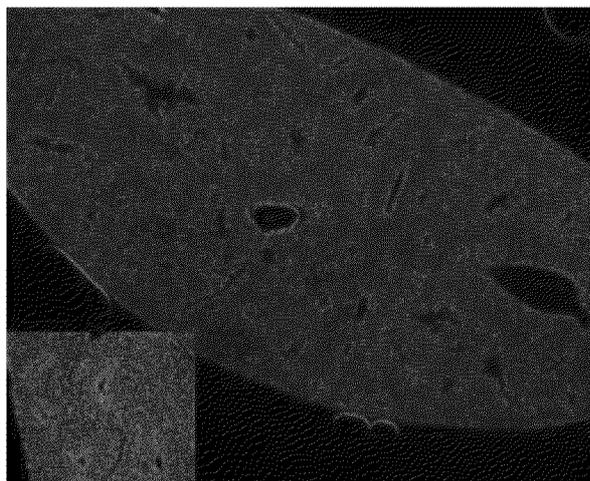
ФИГ.3С



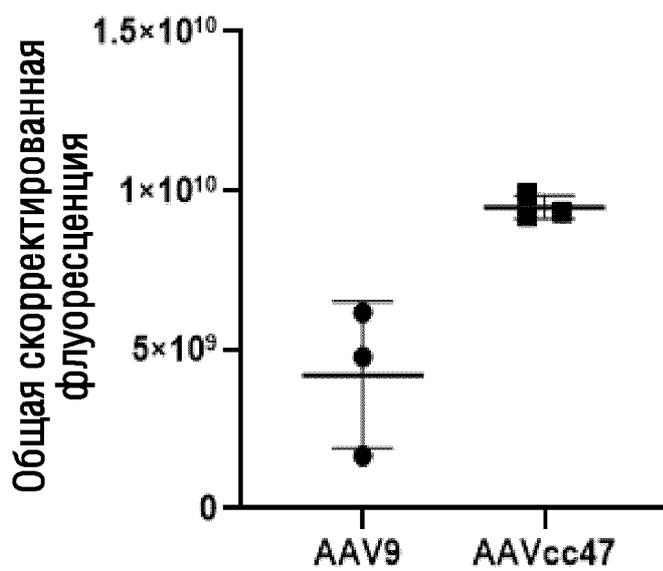
ФИГ.4А



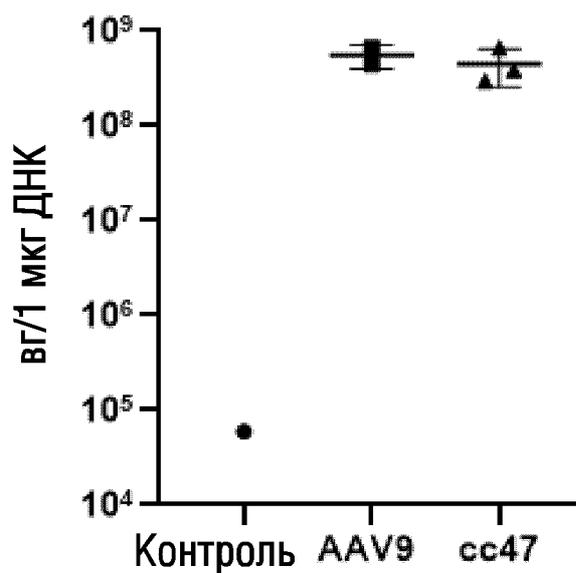
ФИГ.4В



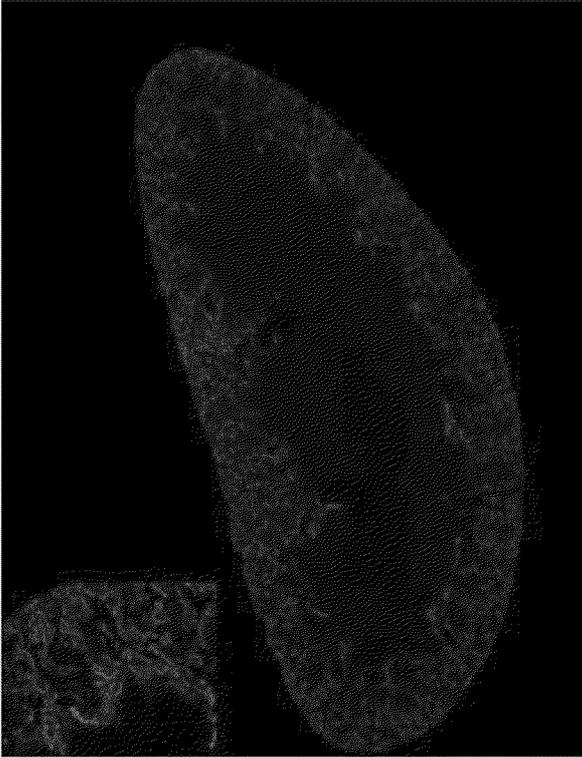
ФИГ.4С



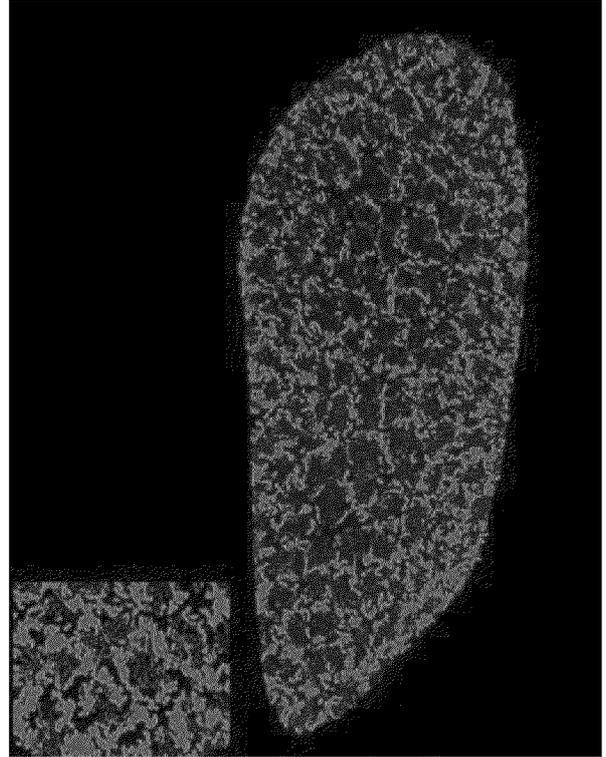
ФИГ.4D



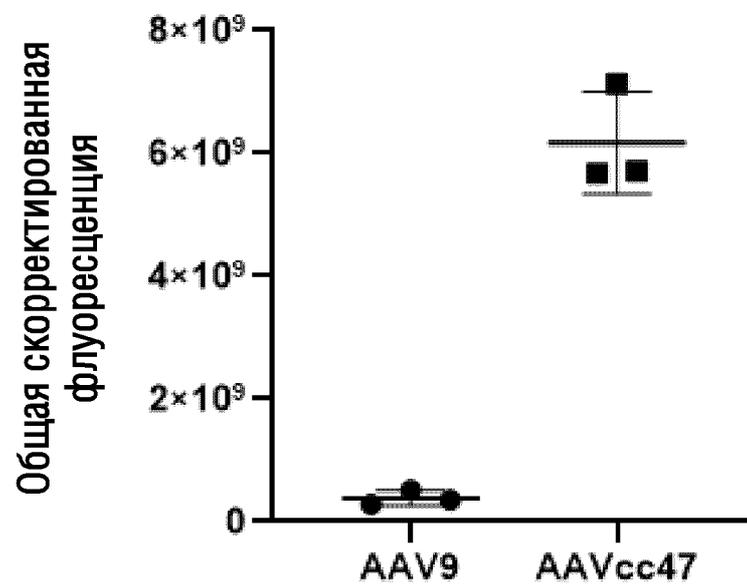
ФИГ.5А



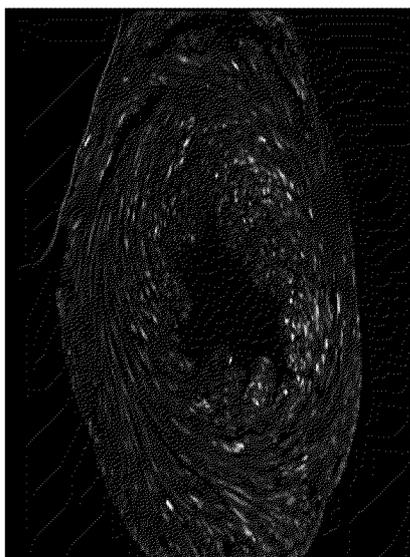
ФИГ.5В



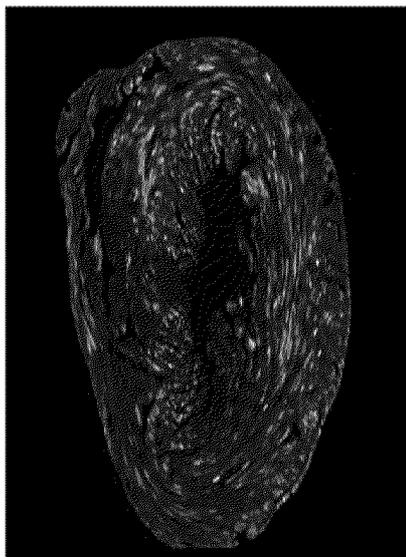
ФИГ.5С



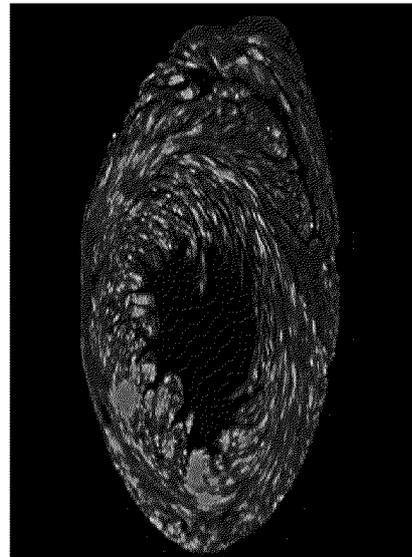
ФИГ.6А



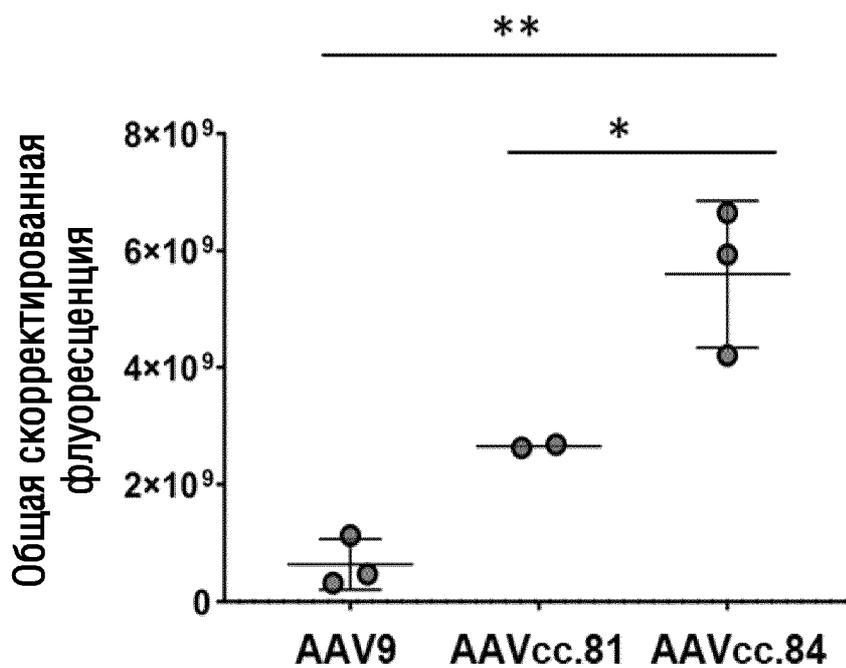
ФИГ.6В



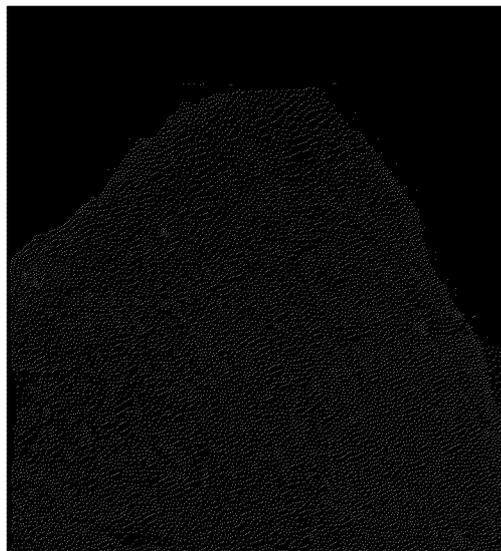
ФИГ.6С



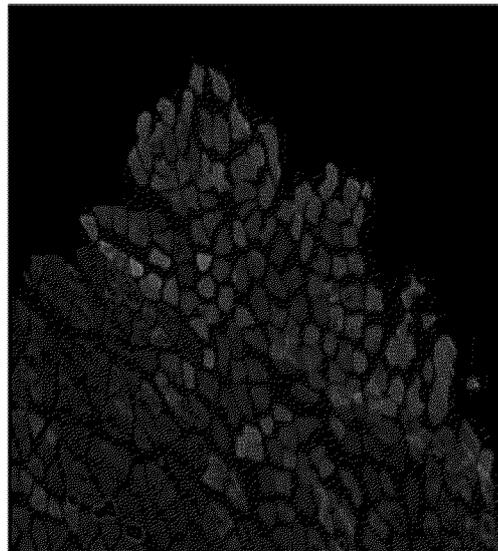
ФИГ.6D



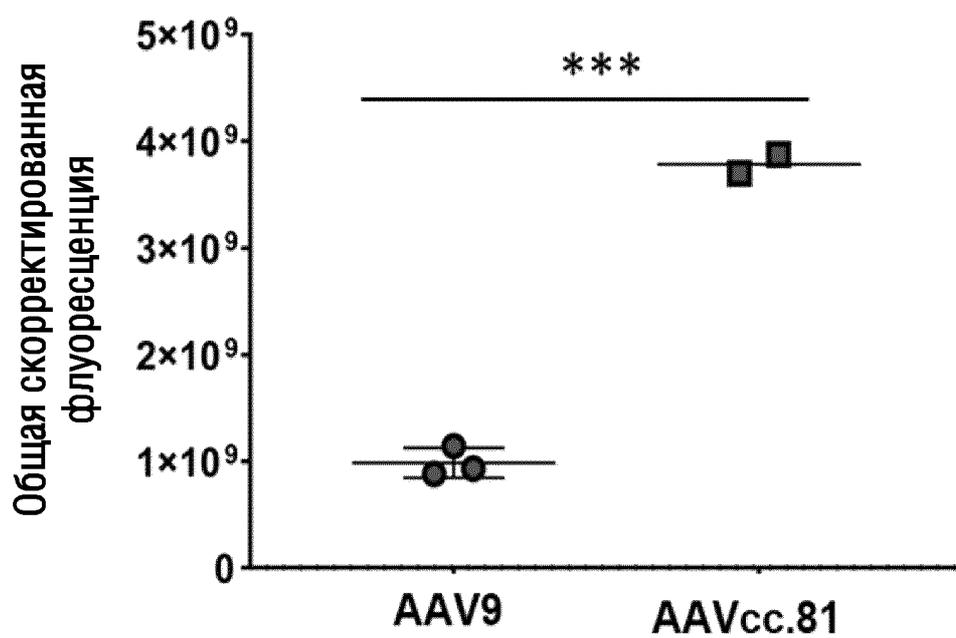
ФИГ.7А



ФИГ.7В



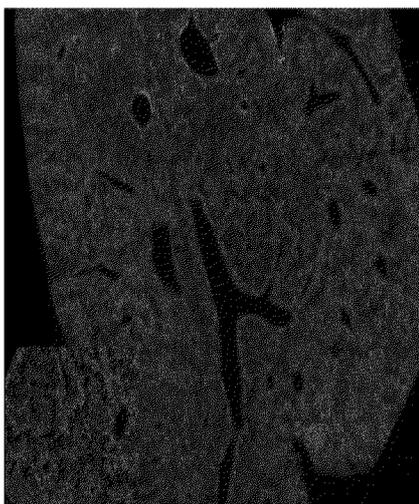
ФИГ.7С



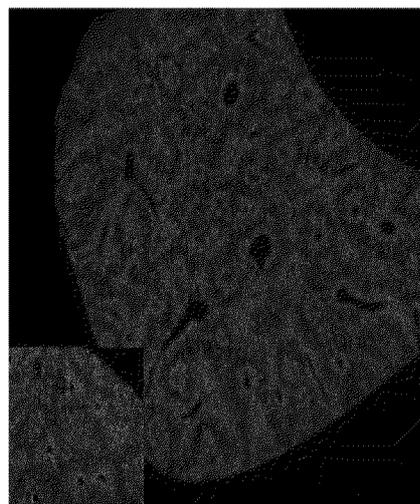
ФИГ.8А



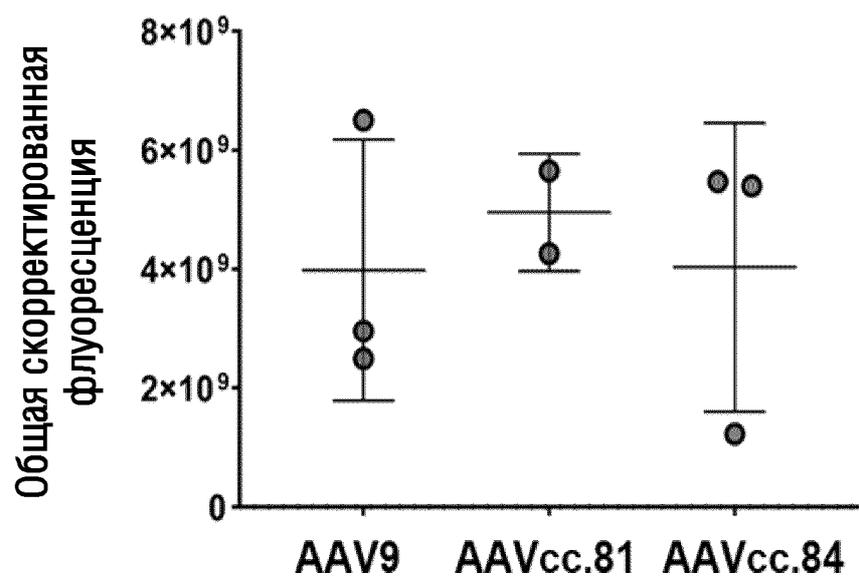
ФИГ.8В



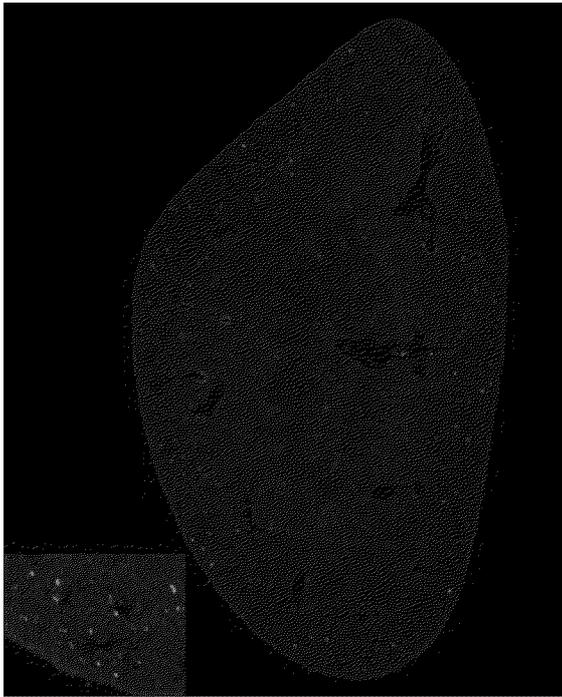
ФИГ.8С



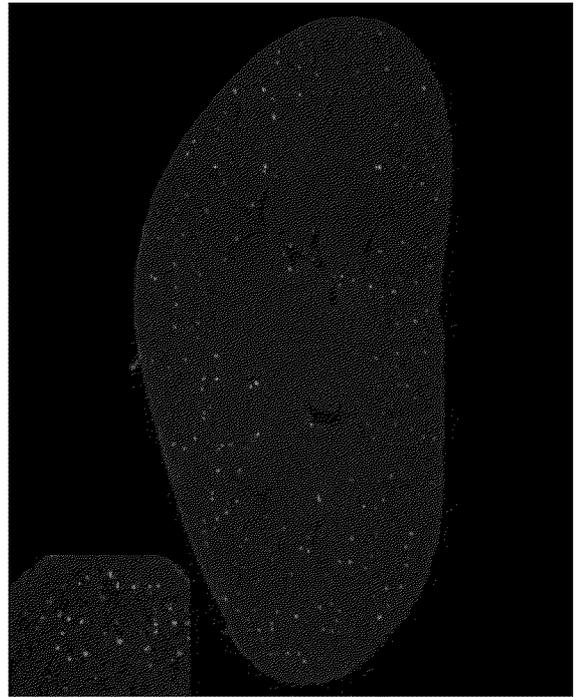
ФИГ.8D



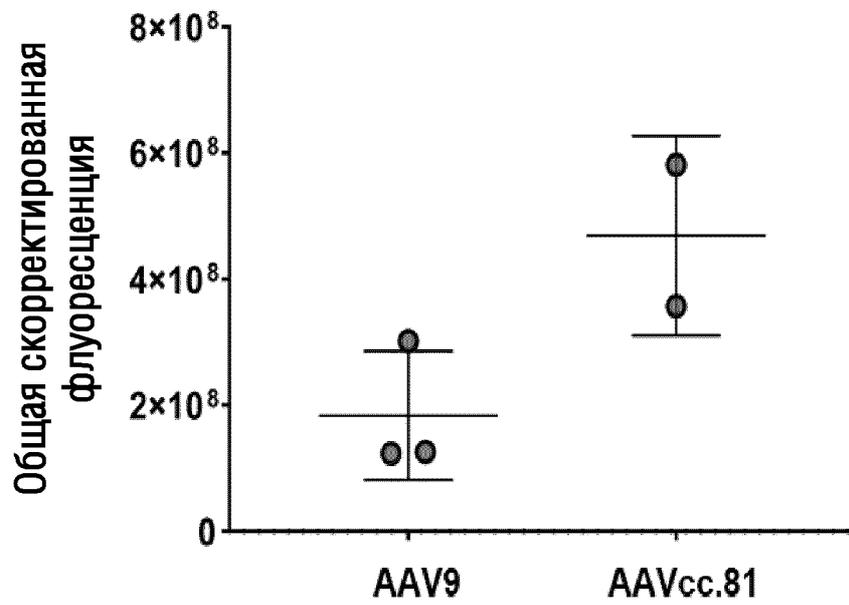
ФИГ.9А



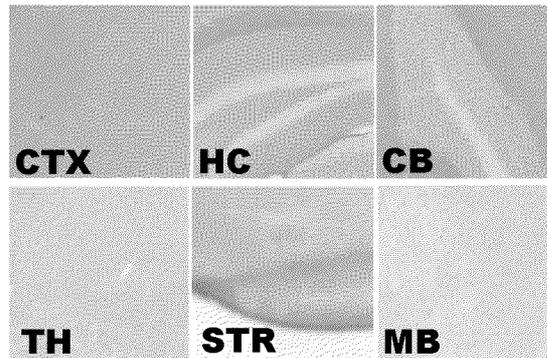
ФИГ.9В



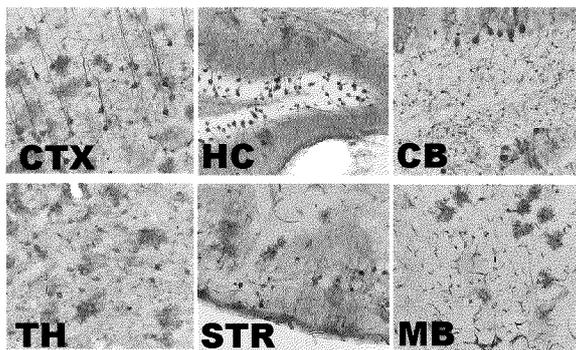
ФИГ.9С



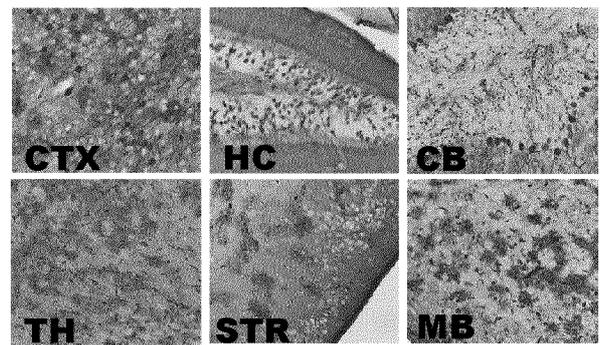
ΦΙΓ.10Α



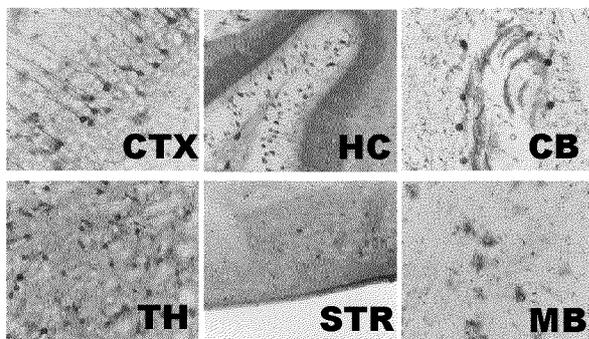
ΦΙΓ.10Β



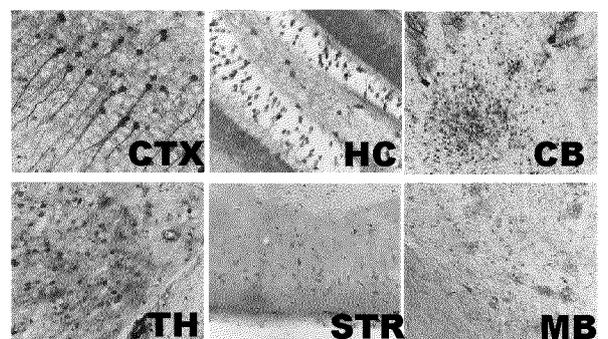
ΦΙΓ.10C



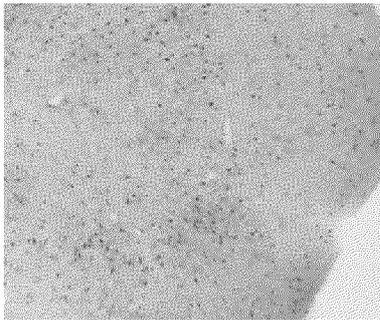
ΦΙΓ.10D



ΦΙΓ.10Ε

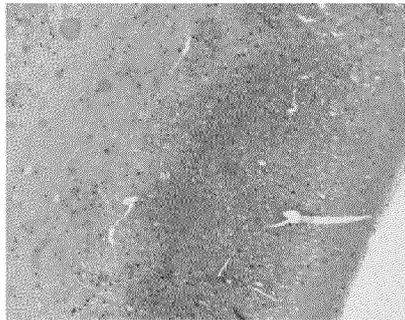


ФИГ.11А



Кора лобной доли

ФИГ.11В



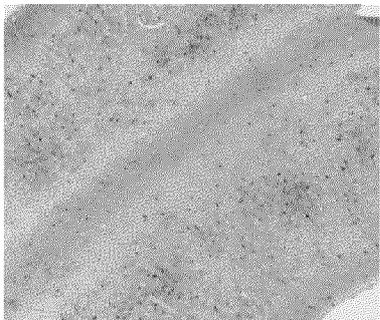
Кора теменной доли

ФИГ.11С



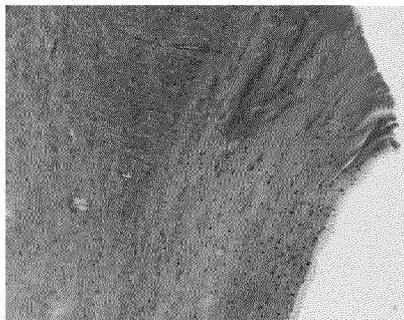
Таламус

ФИГ.11D



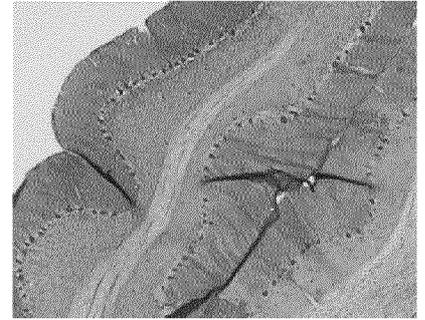
Кора затылочной доли

ФИГ.11E



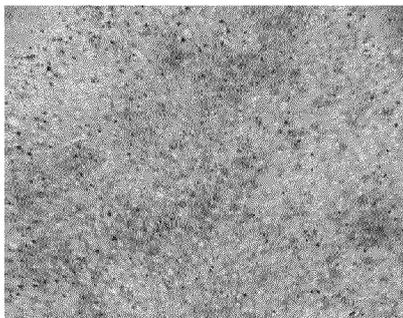
Ствол головного мозга

ФИГ.11F



Мозжечок

ФИГ.11G



Средний мозг

ФИГ.12А



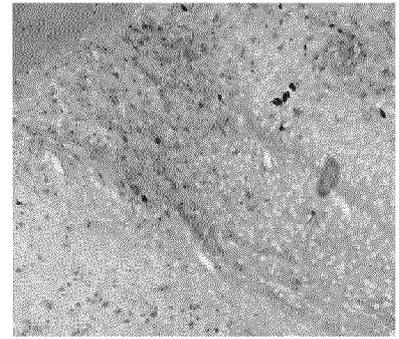
Кора лобной доли

ФИГ.12В



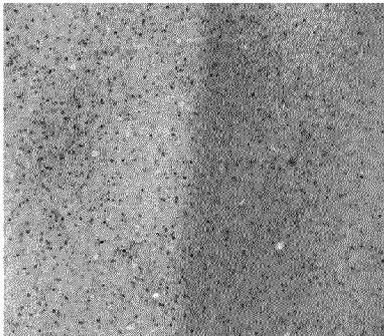
Кора теменной доли

ФИГ.12С



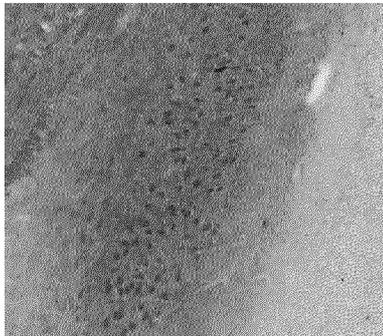
Таламус

ФИГ.12D



Кора затылочной доли

ФИГ.12Е



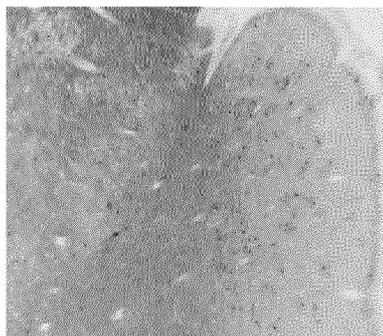
Ствол головного мозга

ФИГ.12F



Мозжечок

ФИГ.12G



Средний мозг

ФИГ.13А



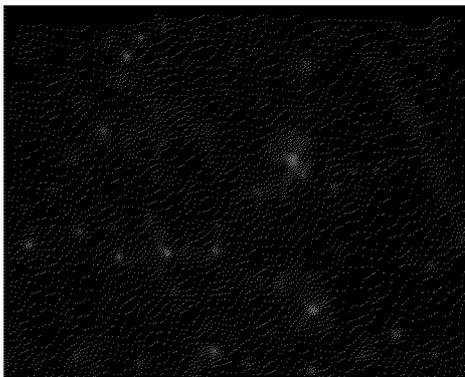
AAVcc.47

ФИГ.13В



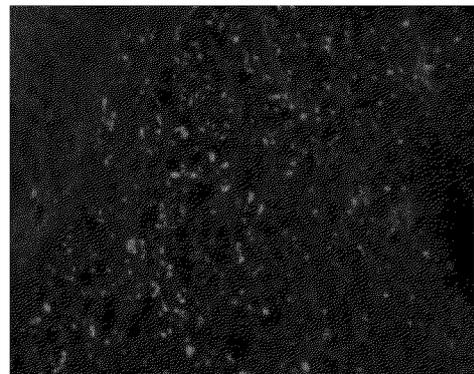
AAVcc.84

ФИГ.13С



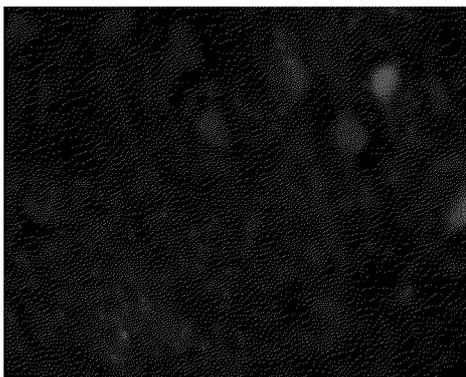
Белое вещество

ФИГ.13D



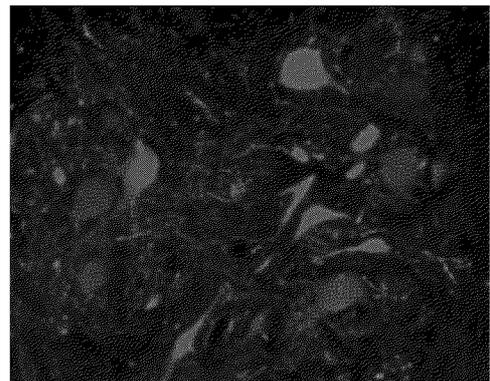
Белое вещество

ФИГ.13Е



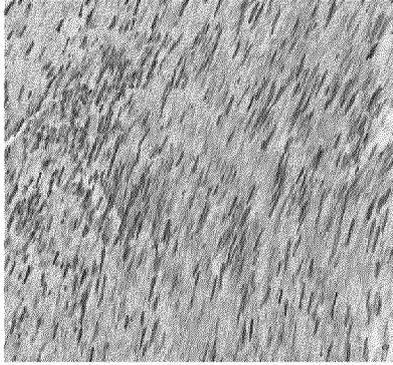
Серое вещество

ФИГ.13F



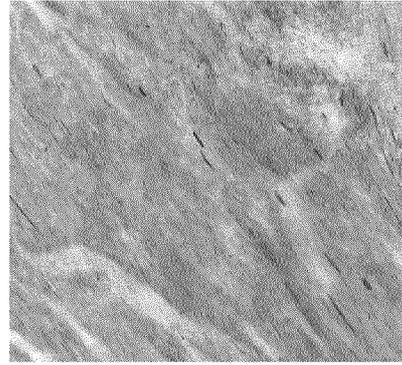
Серое вещество

ФИГ.14А



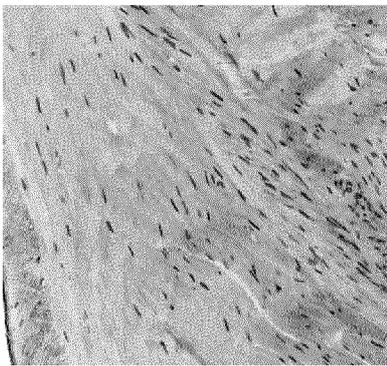
Левый желудочек

ФИГ.14D



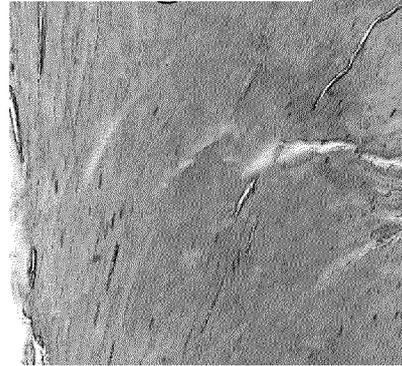
Левый желудочек

ФИГ.14В



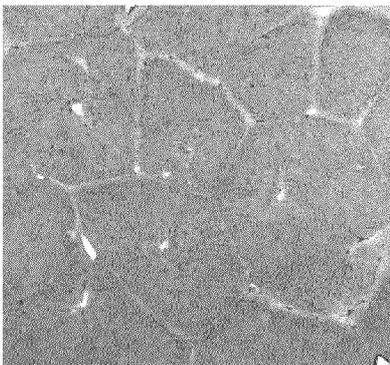
Правый желудочек

ФИГ.14Е



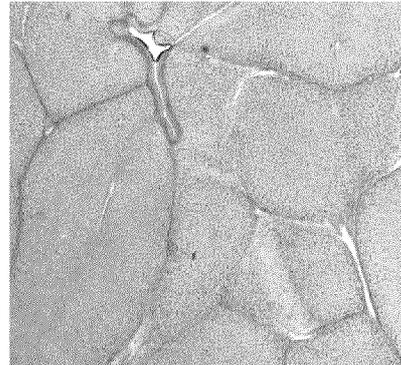
Правый желудочек

ФИГ.14С



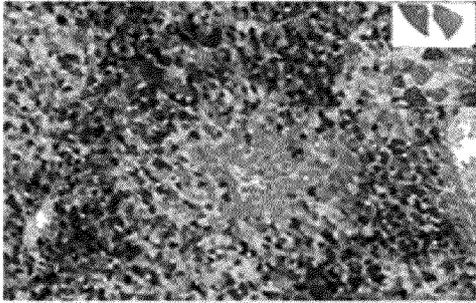
Печень

ФИГ.14F

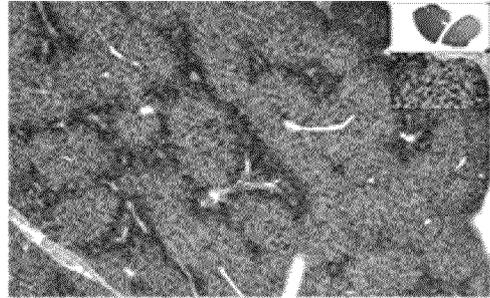


Печень

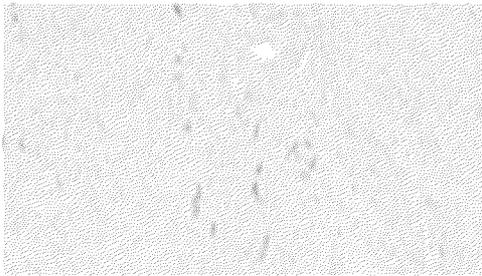
ФИГ.15А



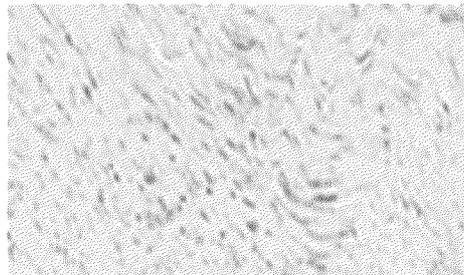
ФИГ.15В



ФИГ.15С

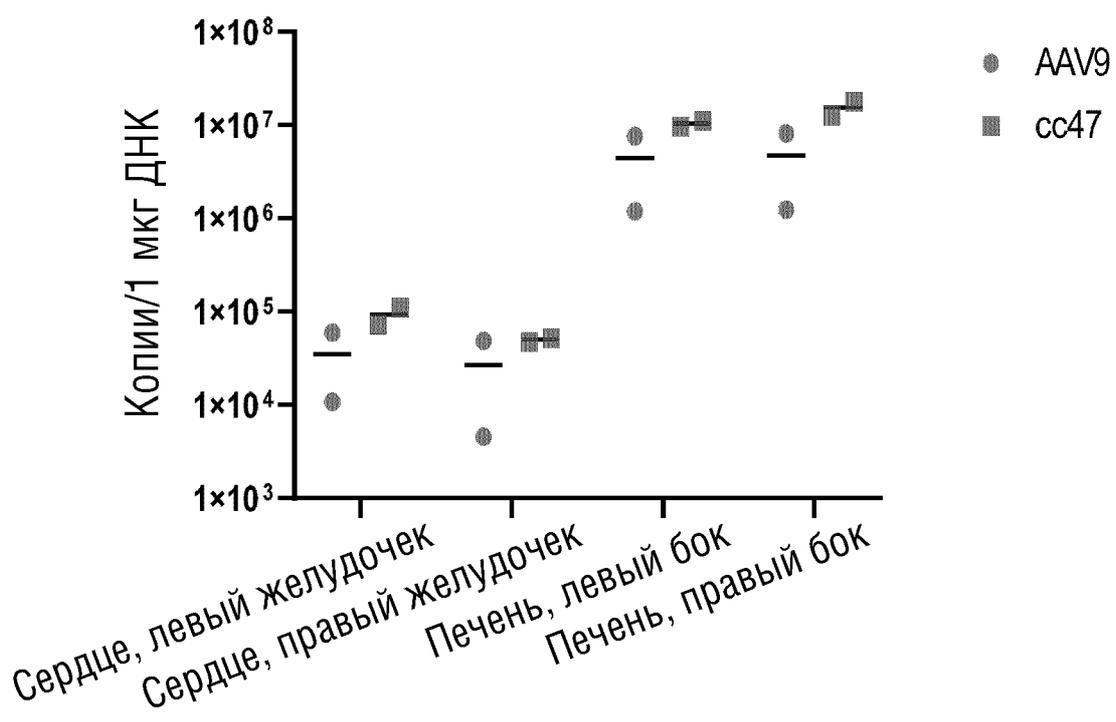


ФИГ.15D

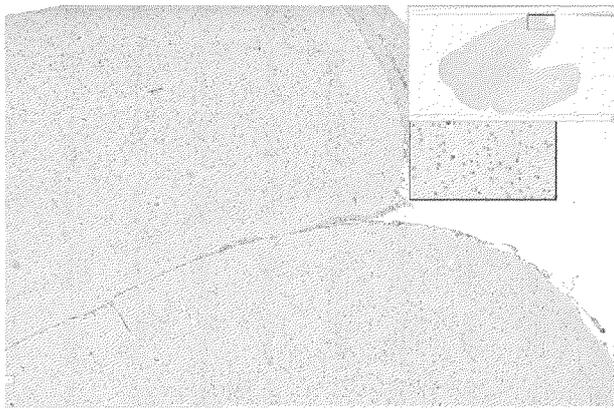


ФИГ.15Е

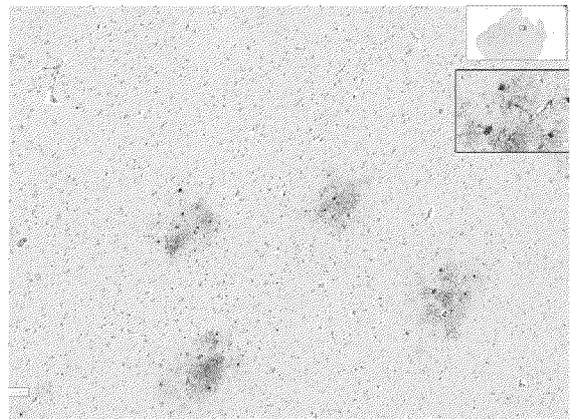
Биораспределение mCherry в сердце/печени



ФИГ.16А



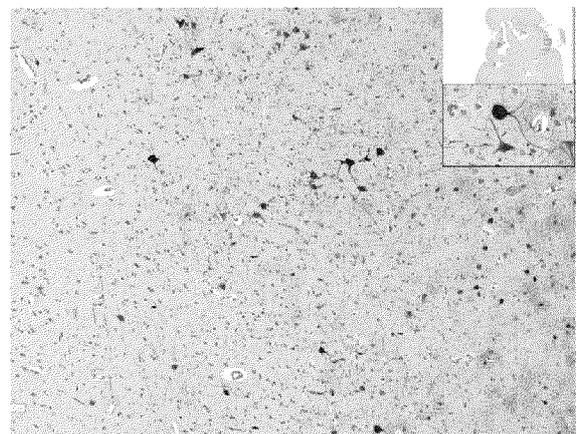
ФИГ.16В



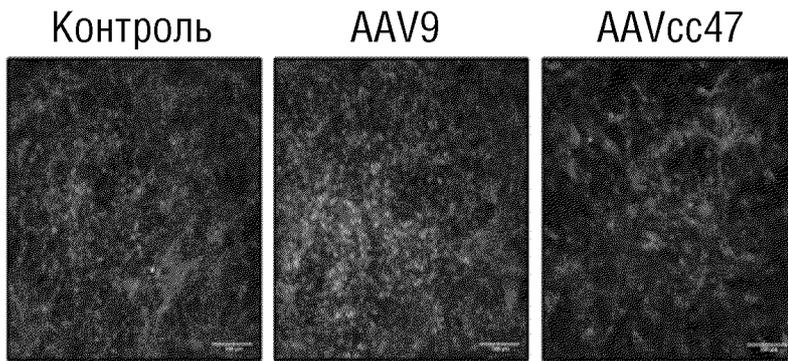
ФИГ.16С



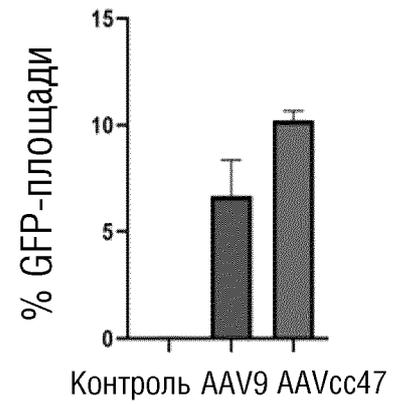
ФИГ.16D



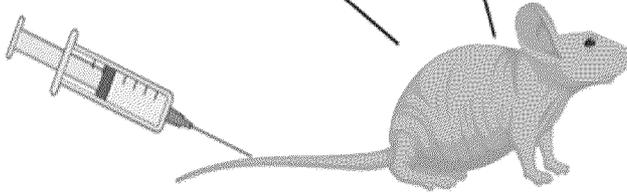
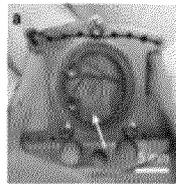
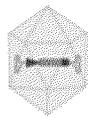
ФИГ.17А



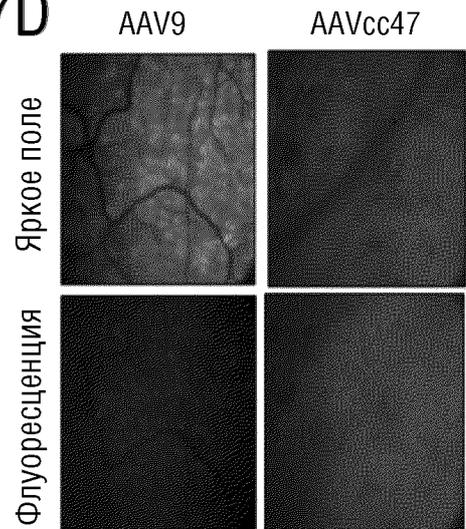
ФИГ.17В



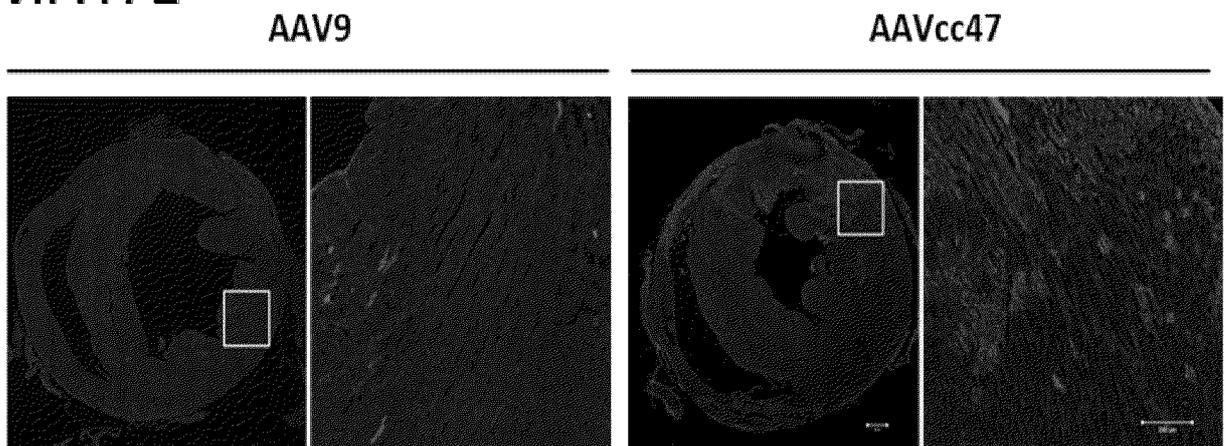
ФИГ.17С



ФИГ.17D



ФИГ.17Е

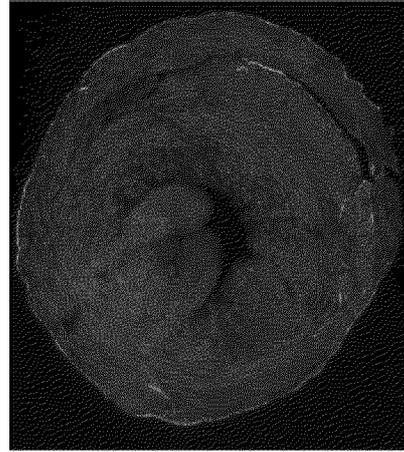


ФИГ.18А



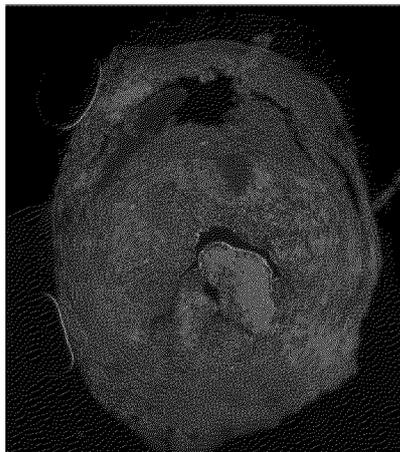
Mock

ФИГ.18В



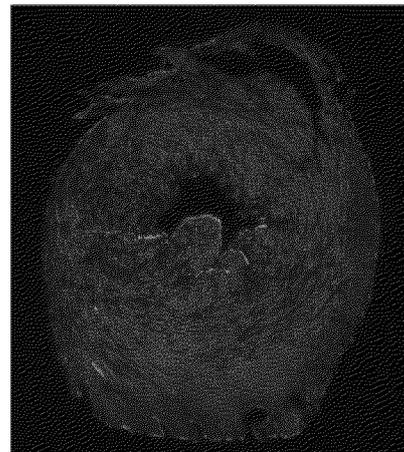
AAV9

ФИГ.18С



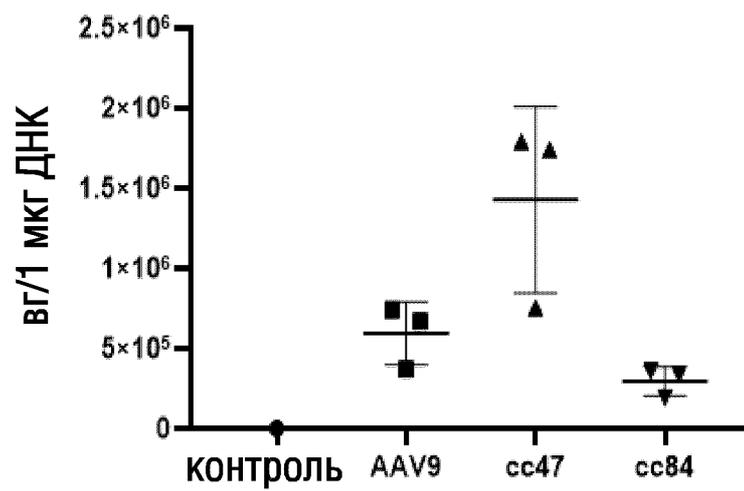
cc47

ФИГ.18D

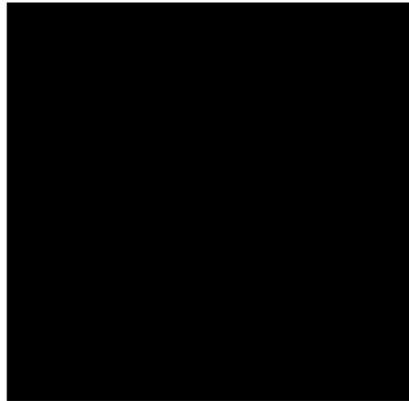


cc84

ФИГ.18Е

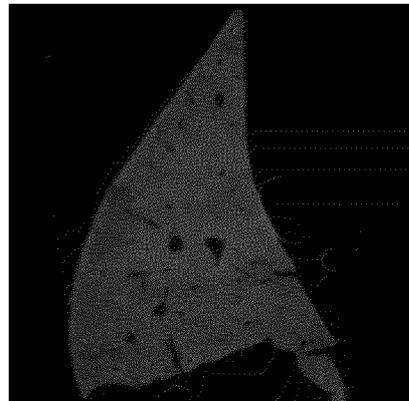


ФИГ.19А



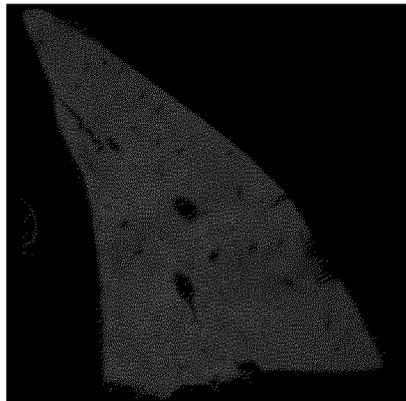
Контроль

ФИГ.19В



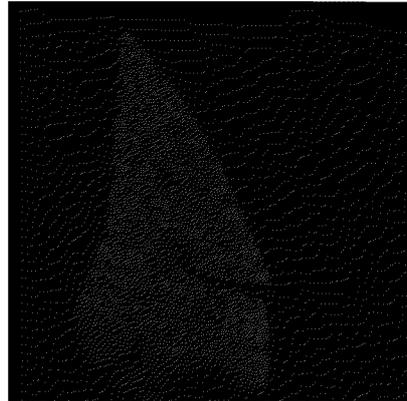
AAV9

ФИГ.19С



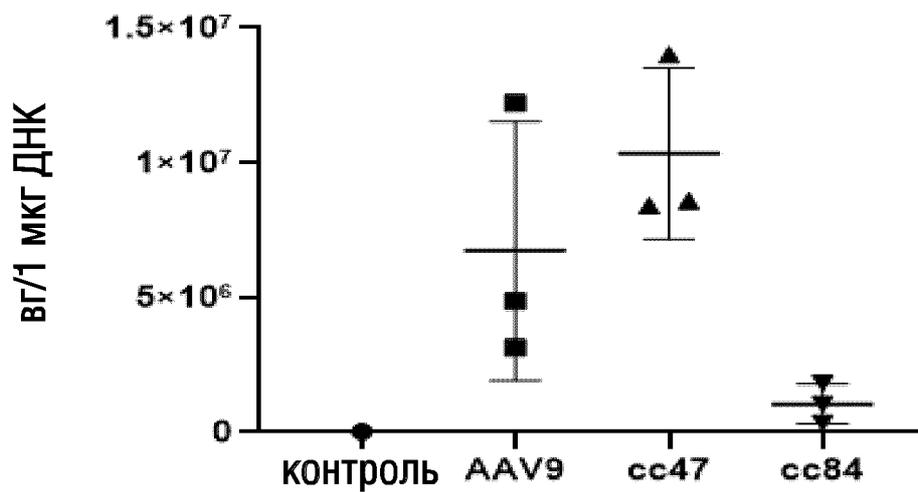
cc47

ФИГ.19D

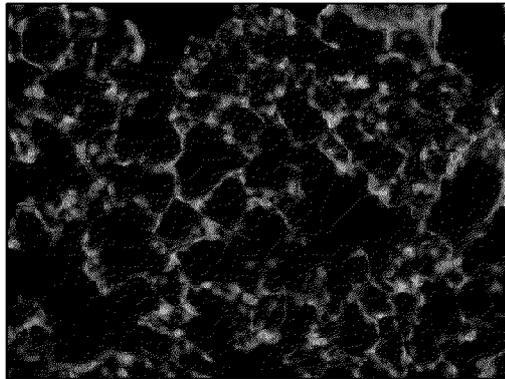


cc84

ФИГ.19Е

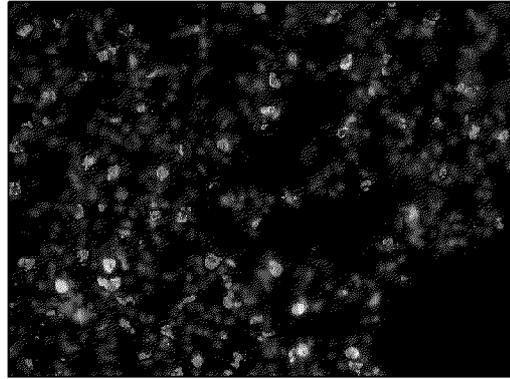


ФИГ.20А



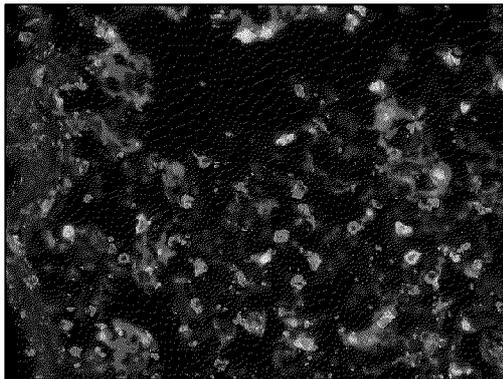
Контроль

ФИГ.20В



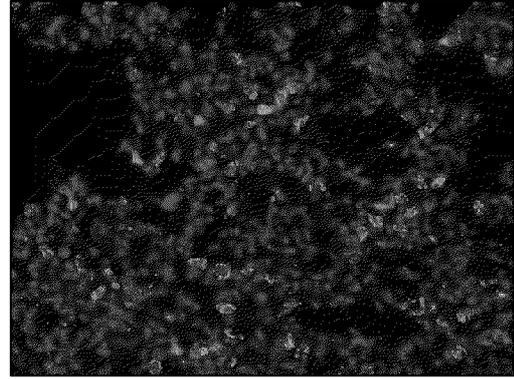
AAV9

ФИГ.20С



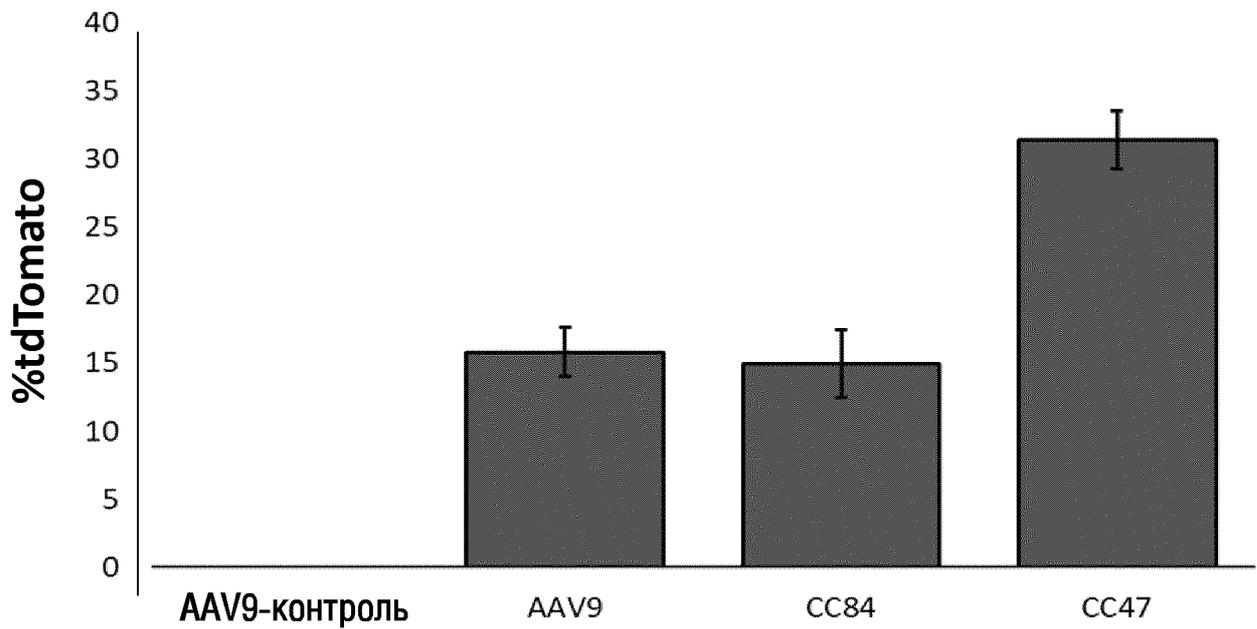
cc47

ФИГ.20D

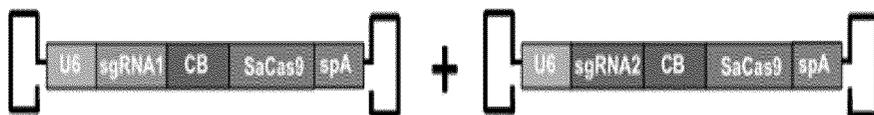


cc84

ФИГ.20Е

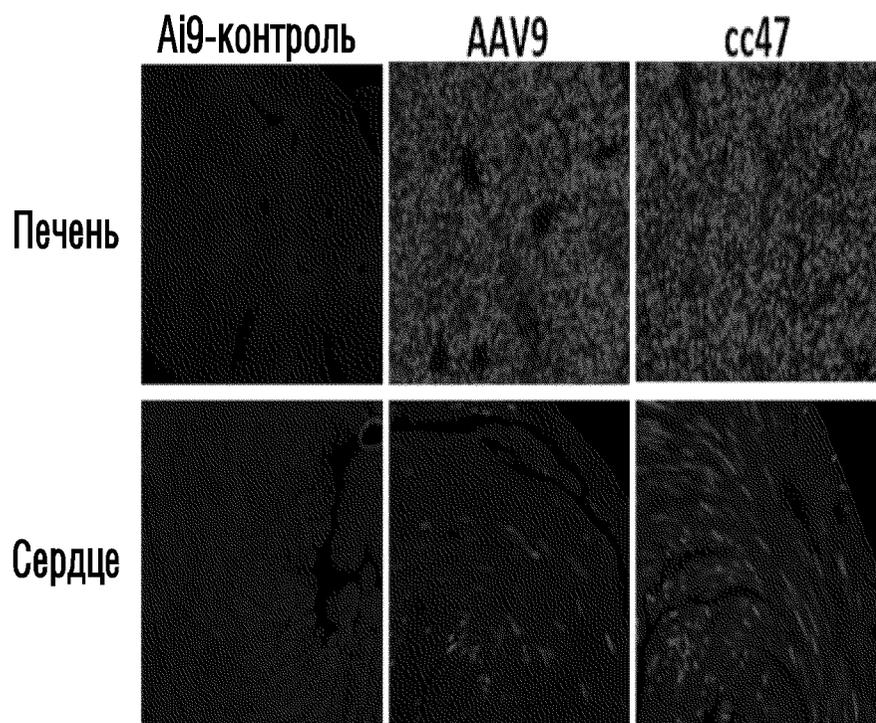


ФИГ.21А

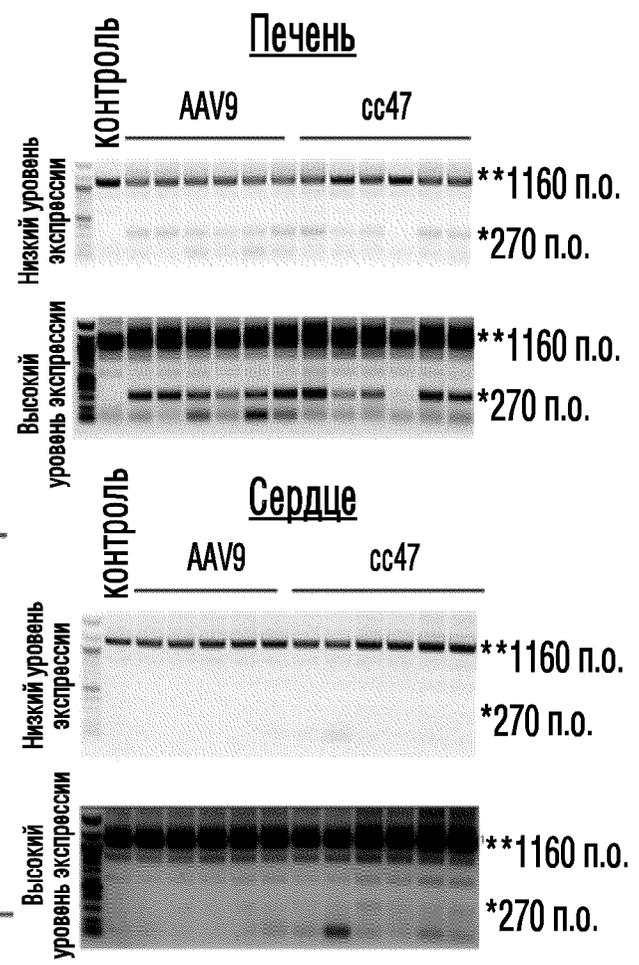
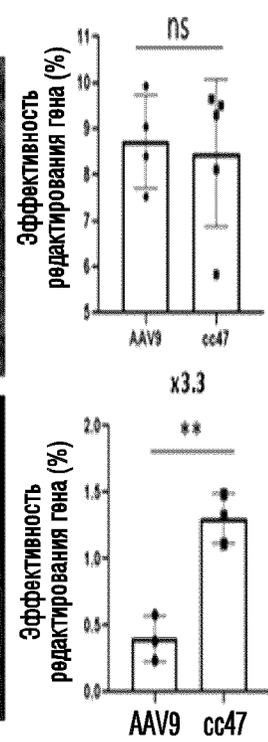


ФИГ.21D

ФИГ.21В



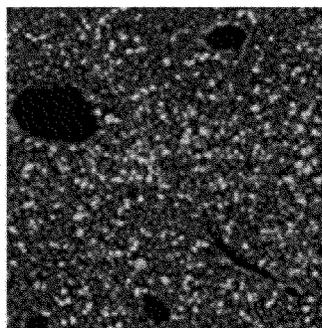
ФИГ.21С



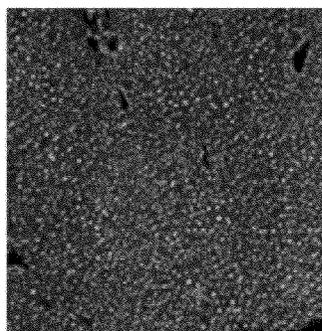
ФИГ.22А

Печень

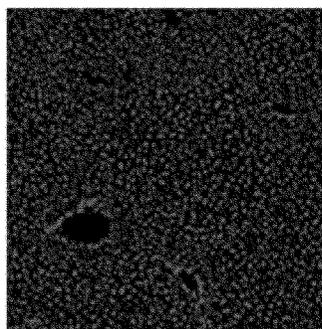
Редактирование
CRISPR



Cre-позитивный
контроль

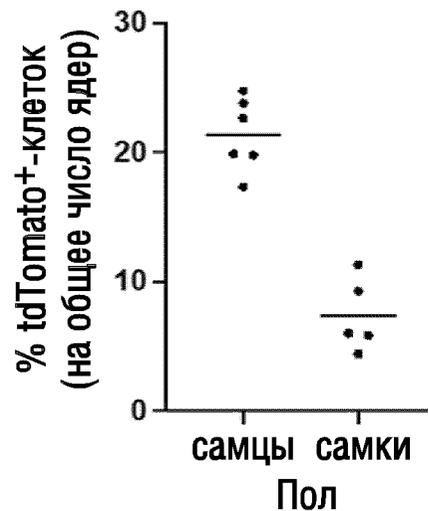


Физиологический
раствор как
негативный
контроль



ФИГ.22В

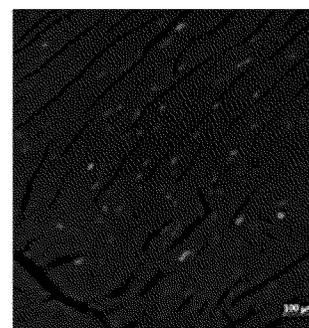
Эффективность
редактирования в печени



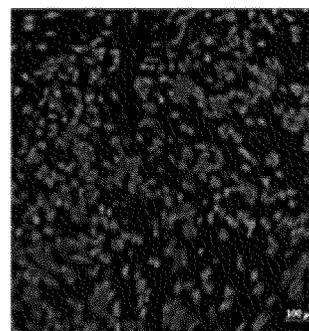
ФИГ.22С

Сердце

Редактирование
CRISPR



Cre-позитивный
контроль



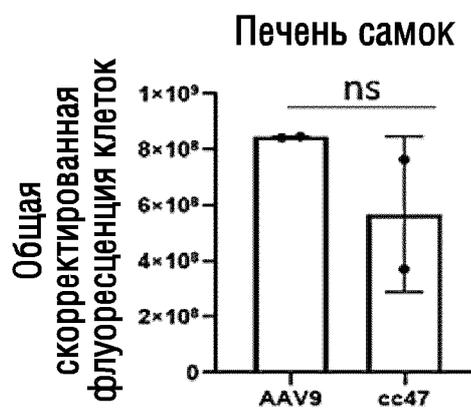
Физиологический
раствор как
негативный
контроль



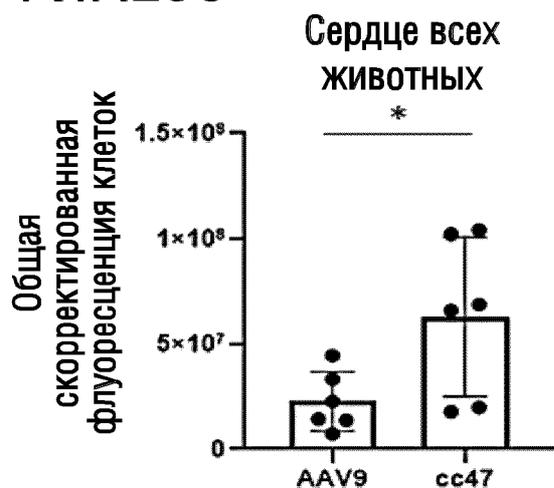
ФИГ.23А



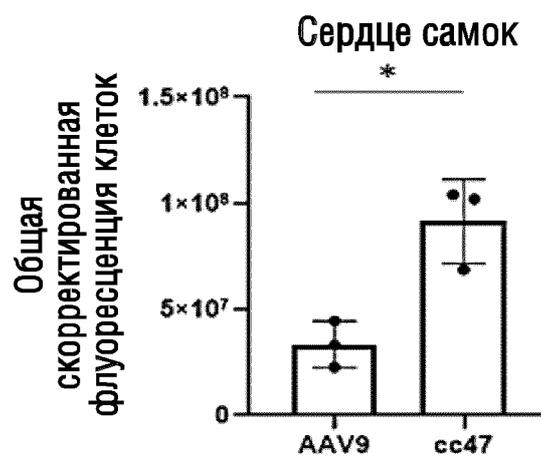
ФИГ.23В



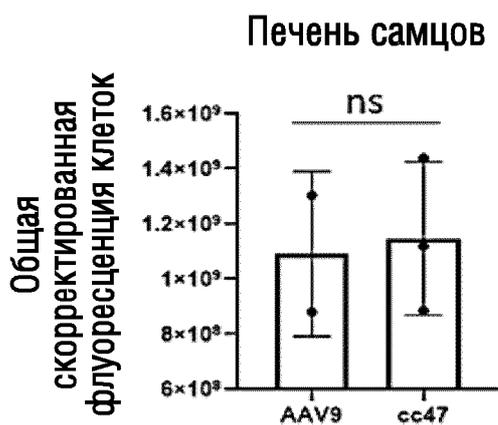
ФИГ.23С



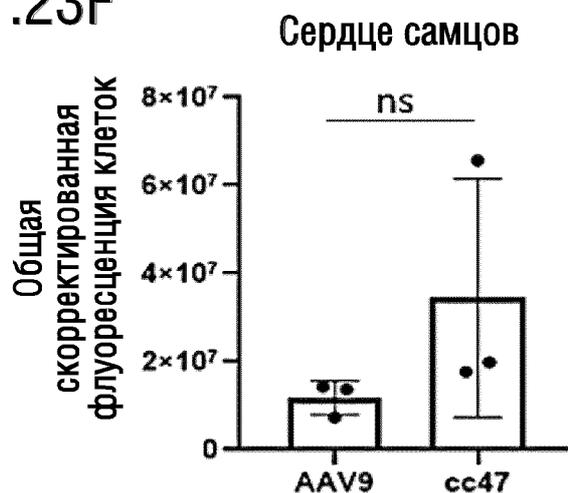
ФИГ.23D



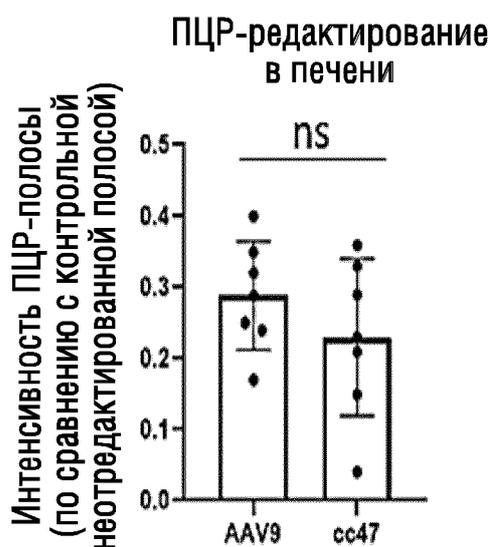
ФИГ.23Е



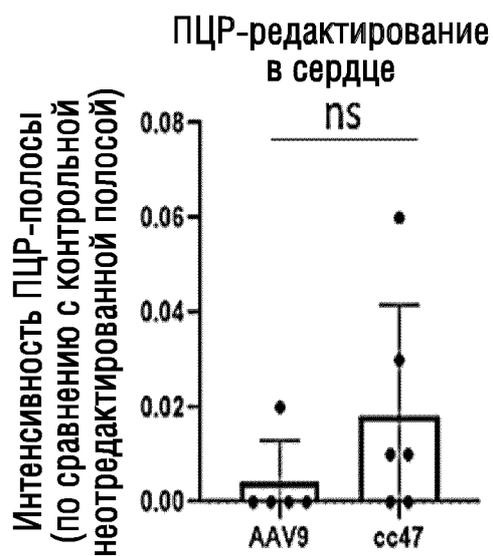
ФИГ.23F



ФИГ.24А

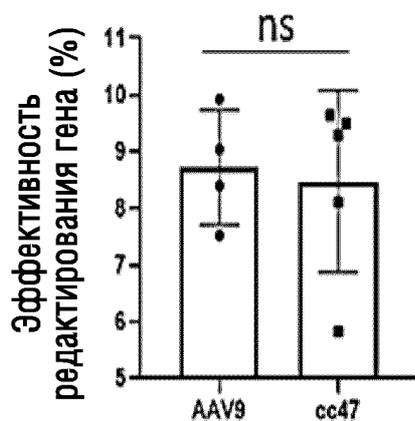


ФИГ.24В



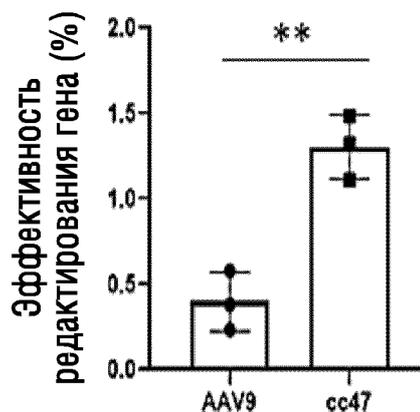
ФИГ.25А

Количественный гистологический анализ на tdTom/DAPI при редактировании гена в печени

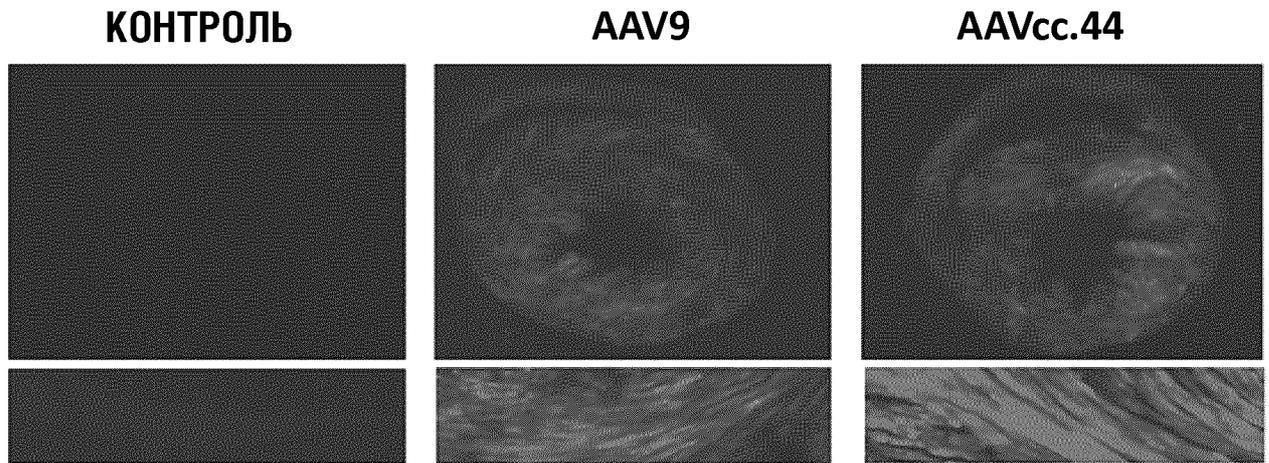


ФИГ.25В

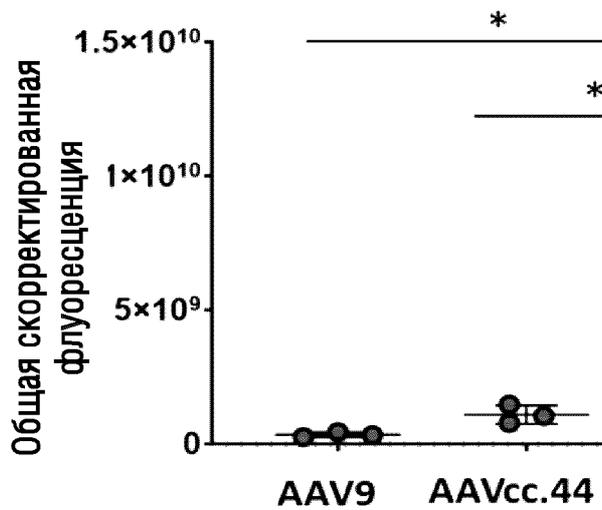
Количественный гистологический анализ на tdTom/DAPI при редактировании гена в сердце



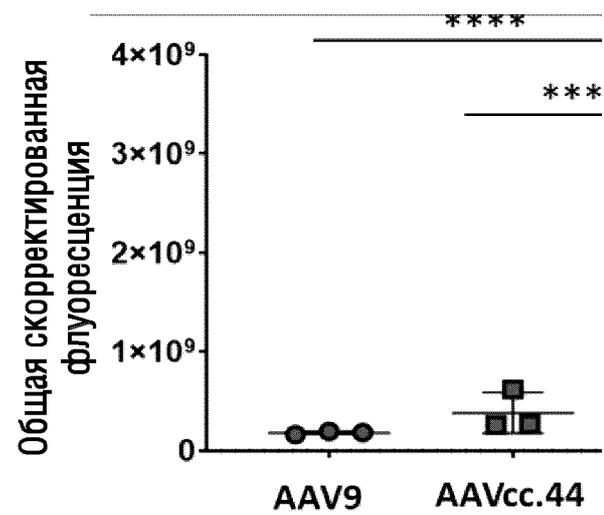
ФИГ.26А



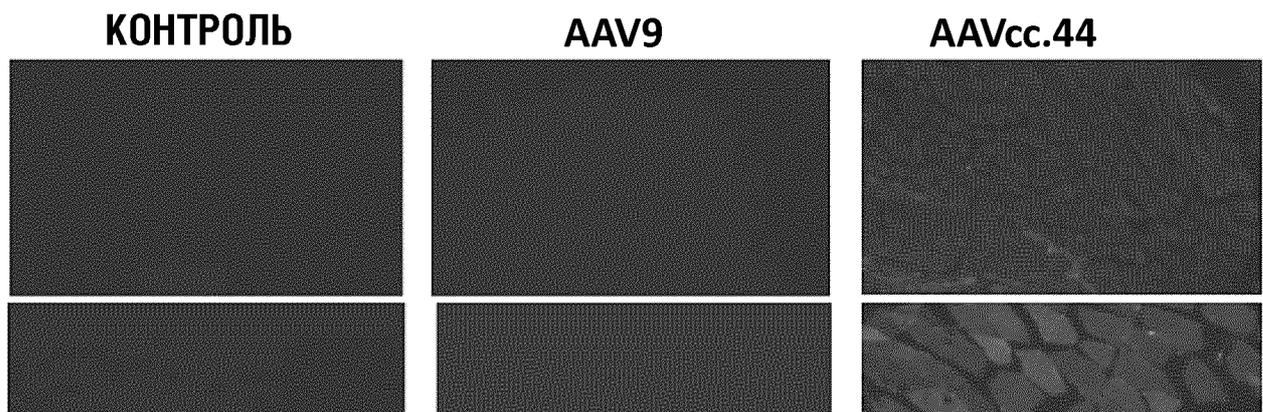
ФИГ.26В



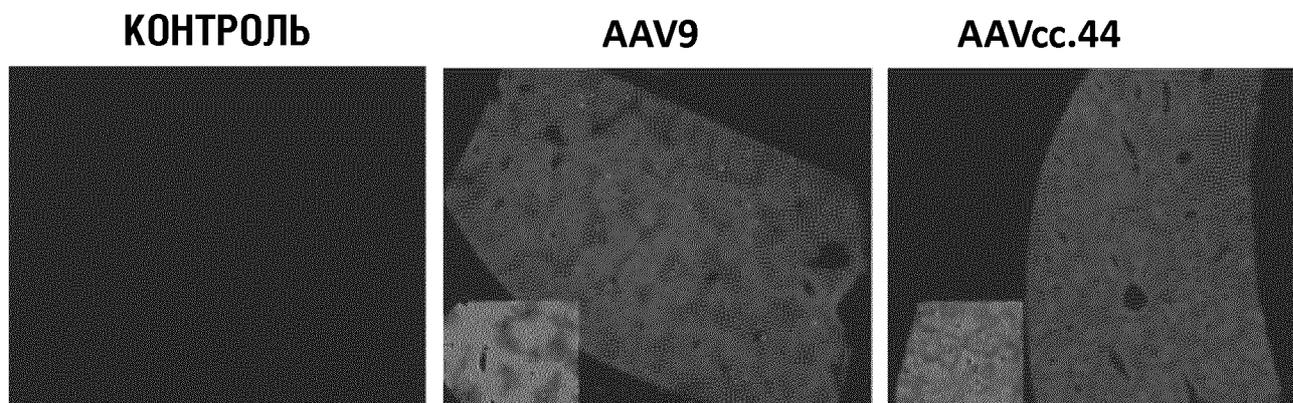
ФИГ.26D



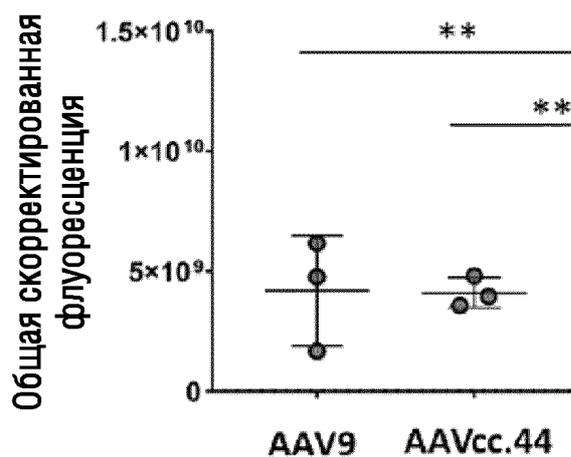
ФИГ.26С



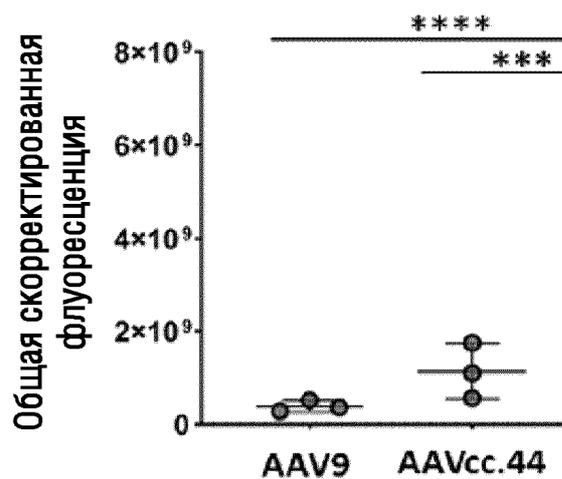
ФИГ.27А



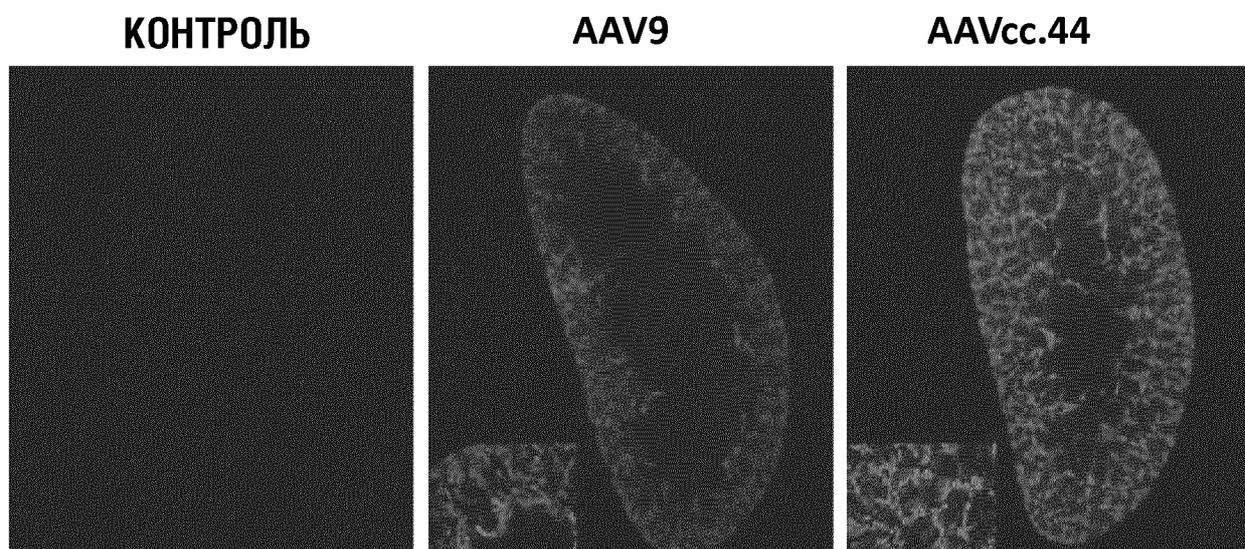
ФИГ.27В



ФИГ.27D



ФИГ.27С



ФИГ.28А

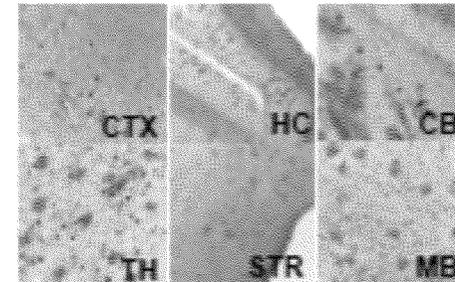
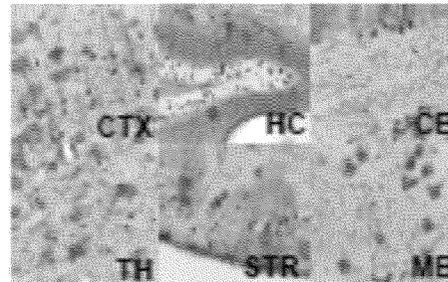
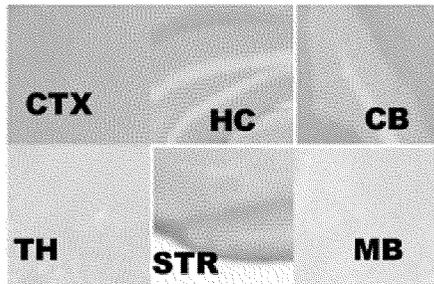
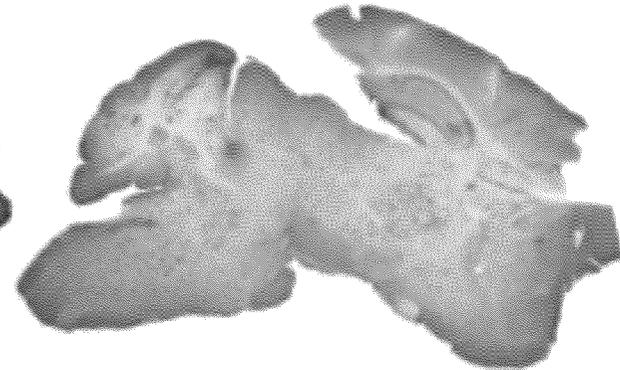
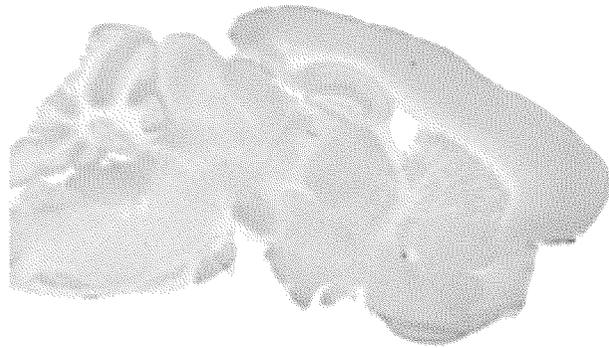
ФИГ.28В

ФИГ.28С

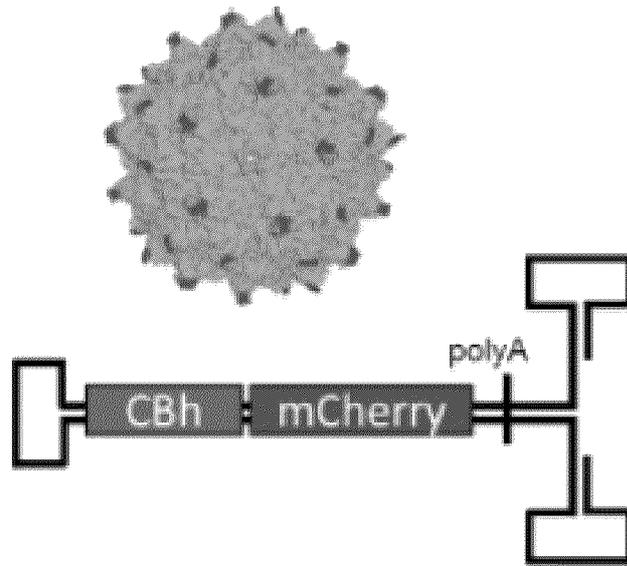
Контроль

AAV9

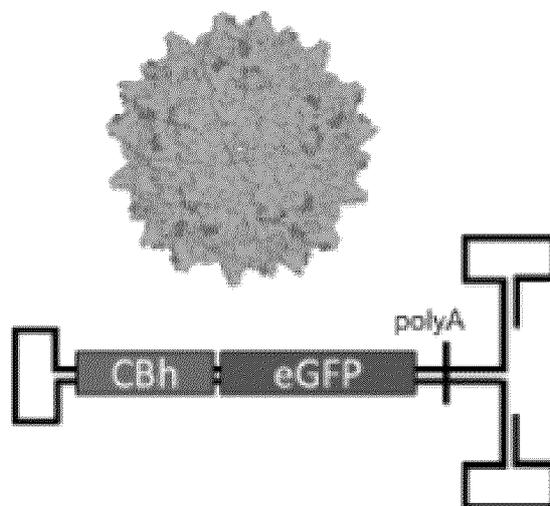
AAVcc.44



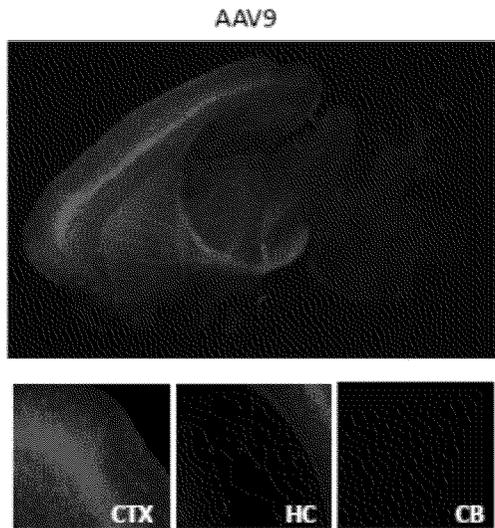
ФИГ.29А



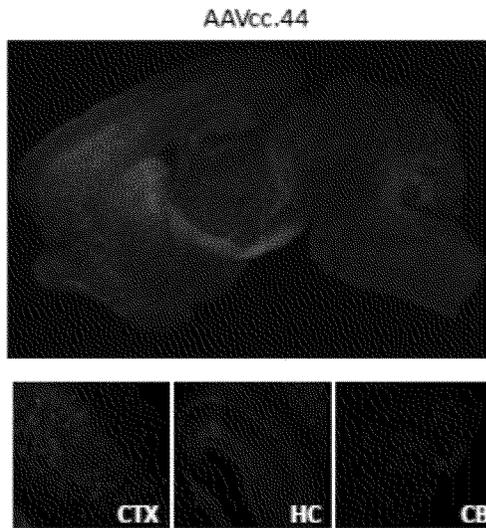
ФИГ.29В



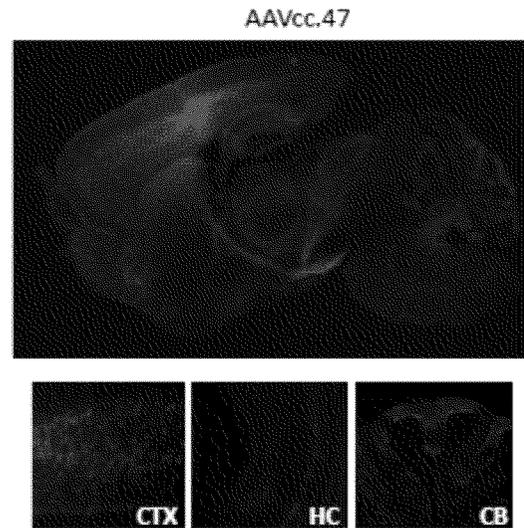
ФИГ.30А



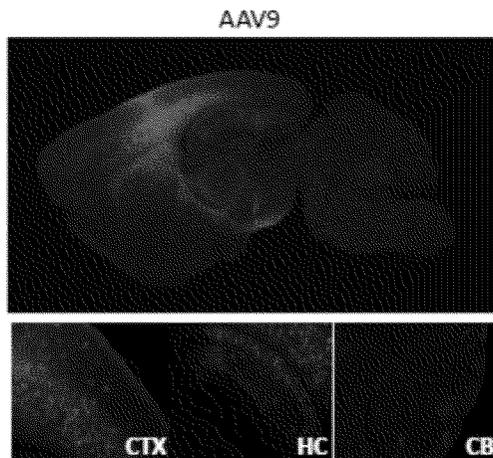
ФИГ.30В



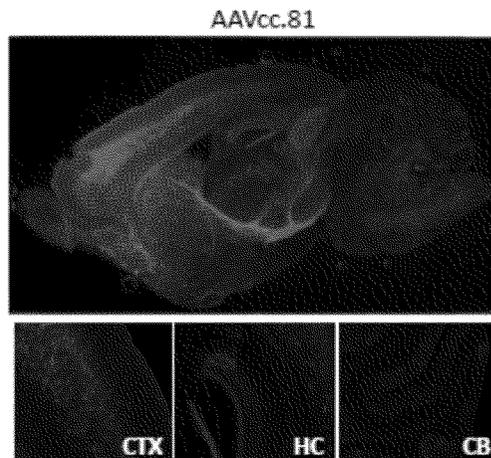
ФИГ.30С



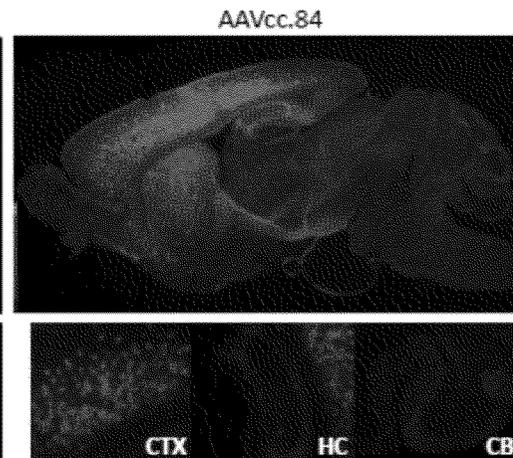
ФИГ.30D



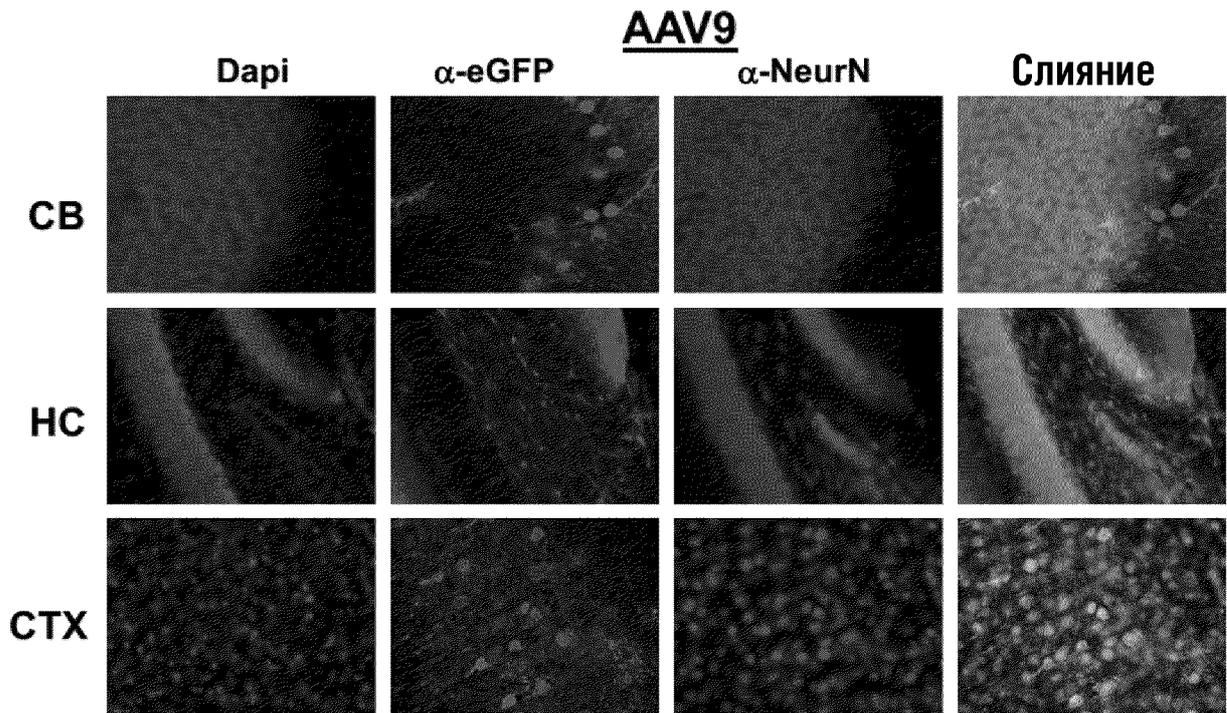
ФИГ.30Е



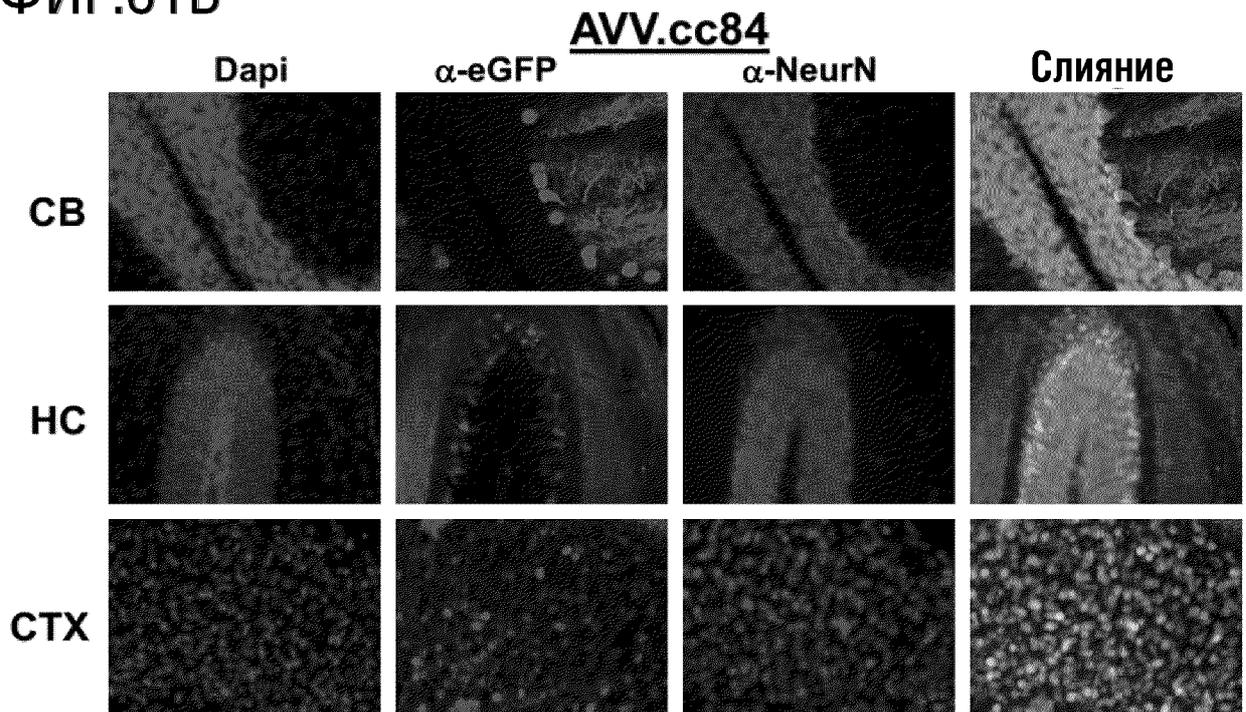
ФИГ.30F



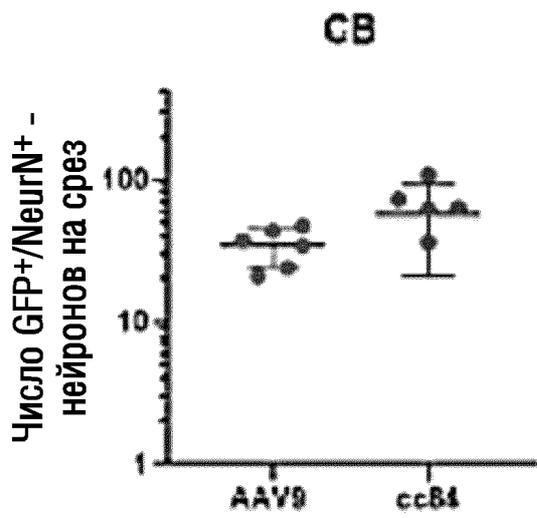
ФИГ.31А



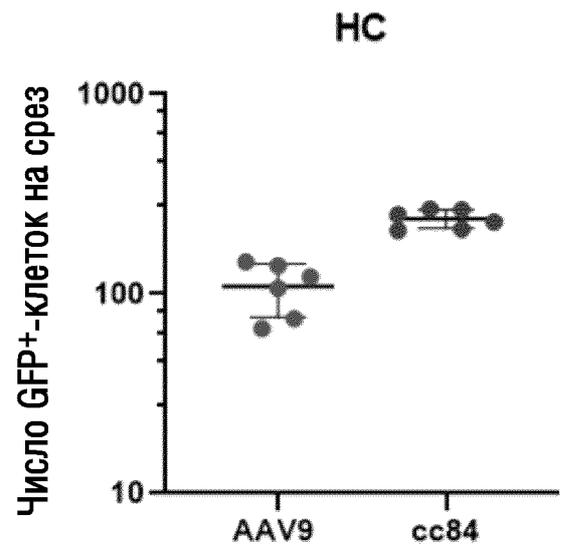
ФИГ.31В



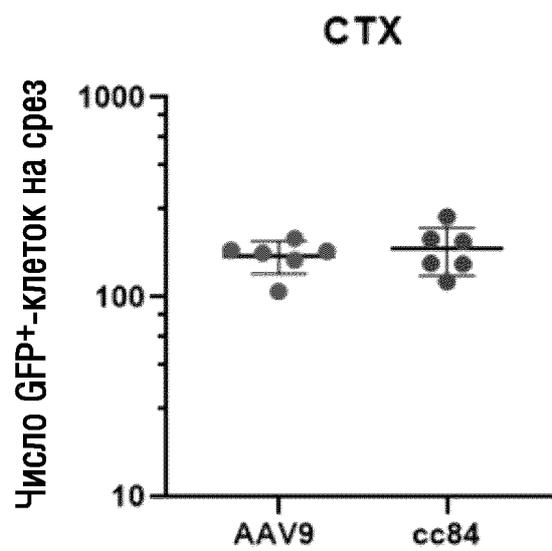
ФИГ.31С



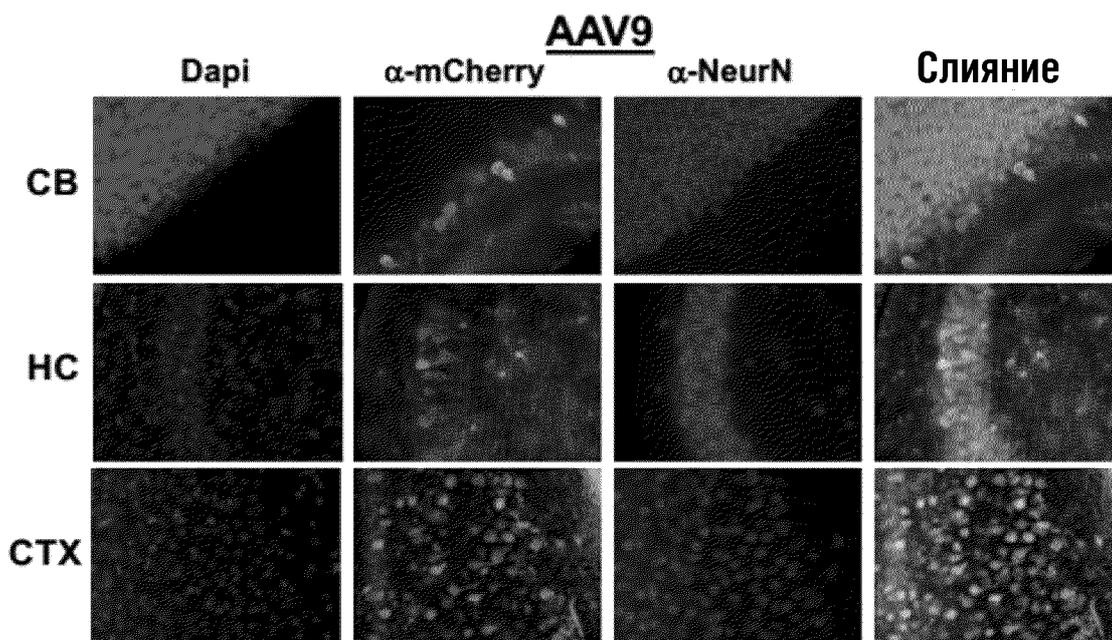
ФИГ.31D



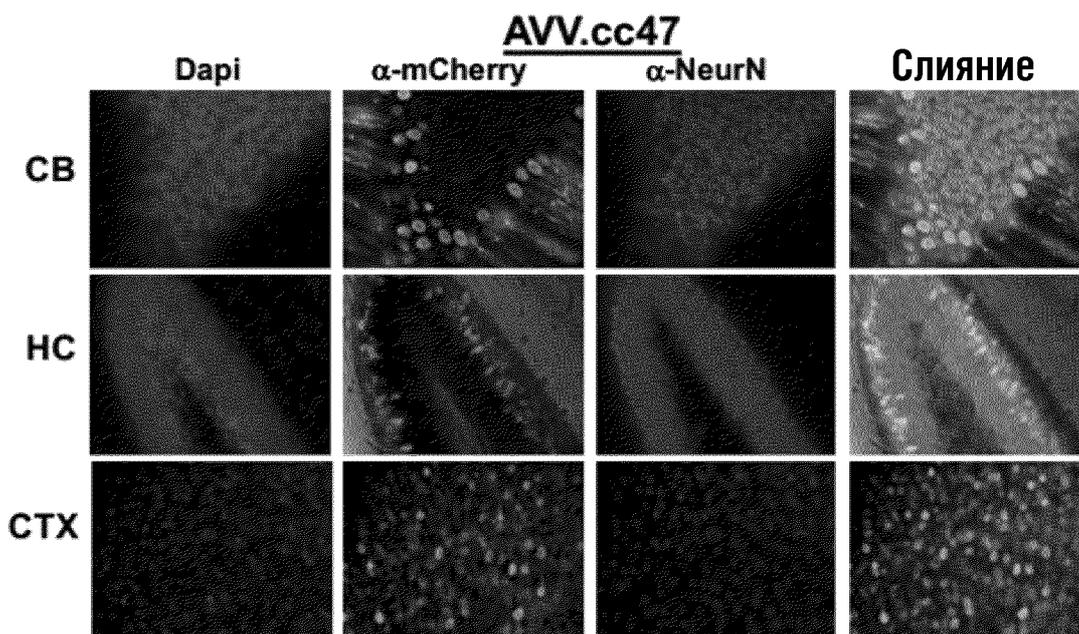
ФИГ.31Е



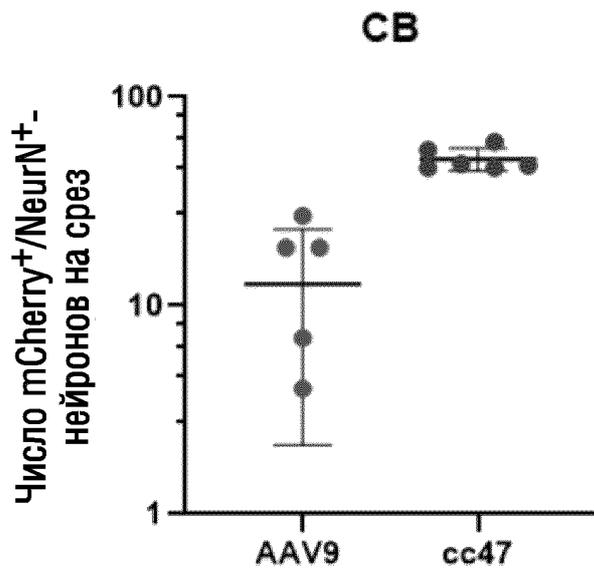
ФИГ.32А



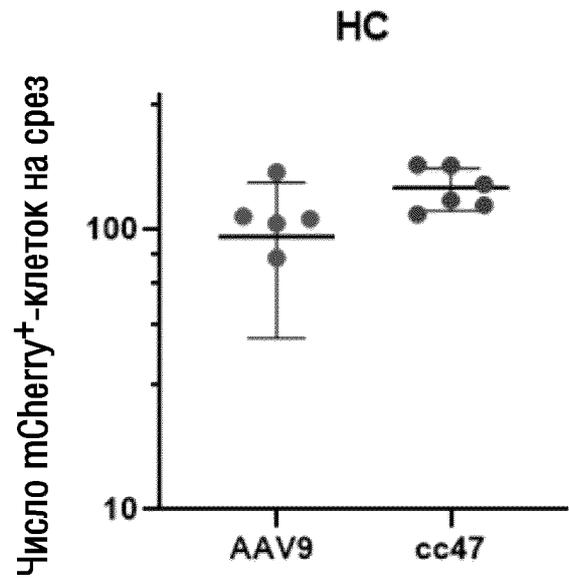
ФИГ.32В



ФИГ.32С



ФИГ.32D



ФИГ.32Е

