

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046419**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2024.03.13
- (21) Номер заявки
202191123
- (22) Дата подачи заявки
2019.10.24
- (51) Int. Cl. **A61K 38/00** (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C07K 14/78 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(54) **МИНИАТЮРИЗИРОВАННЫЕ ДИСТРОФИНЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

- (31) **62/749,982**
- (32) **2018.10.24**
- (33) **US**
- (43) **2022.03.29**
- (86) **PCT/US2019/057855**
- (87) **WO 2020/086844 2020.04.30**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**
- (72) Изобретатель:
**Бэнкс Глен, Дэвис Джонатан Гарри,
Левескью Пол Чарлз (US)**
- (74) Представитель:
**Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М.,
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В. (RU)**
- (56) **WO-A2-2016115543
US-A1-2017368198
GLEN B. BANKS ET AL.: "The Polyproline
Site in Hinge 2 Influences the Functional Capacity
of Truncated Dystrophins", PLOS GENETICS, vol.
6, no. 5, 20 May 2010 (2010-05-20), page e1000958,
XP055471364, DOI:10.1371/journal.pgen.1000958
see the whole document and in particular the abstract,
Figs. 1A, 5A and 6.
US-B2-6869777**

-
- (57) В изобретении раскрыты молекулы нуклеиновой кислоты, полипептиды, клетки, векторы и фармацевтические композиции, относящиеся к миниатюризированному дистрофину. Также раскрыты способы получения и способы терапевтического применения миниатюризированного дистрофина.
-

B1

046419

**046419
B1**

Ссылка на родственные заявки

В данном изобретении испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 62/749982, поданной 24 октября 2018 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

1. Область техники изобретения

Раскрытый в данном документе предмет изобретения в целом относится к полинуклеотидам, полипептидам, клеткам, векторам, применениям и наборам, относящимся к миниатюризированному дистрофину.

2. Уровень техники

Мышечная дистрофия Дюшенна (DMD) является рецессивно-наследственным, приводящим к атрофии мышц заболеванием, которое поражает приблизительно 1 из 3500 мужчин. DMD вызывается мутациями в гене дистрофина, который расположен на X-хромосоме. Мутации в данном гене приводят к аберантной или отсутствующей экспрессии белка дистрофина.

Дистрофин представляет собой ключевой компонент белкового комплекса, который отвечает за регулирование целостности и функции мышечных клеток. Пациенты с DMD обычно в детстве теряют способность физически поддерживать себя и со временем становятся все слабее. Такое прогрессивное истощение скелетных мышц и сердечной дисфункции обычно приводят к потере возможности передвигаться и преждевременной смерти, в первую очередь, из-за сердечной или дыхательной недостаточности. В прошлом предпринимались попытки лечения DMD. Однако, доступные варианты лечения были значительно ограничены из-за большого размера комплементарной ДНК (кДНК) (приблизительно 13,9 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.)) дистрофина дикого типа, которую нельзя вводить пациентам с DMD и экспрессировать у них с использованием стандартных вирусных векторов, включая аденоассоциированный вирус (AAV), который не может переносить более 4,9 т.п.н. гетерологичной ДНК. Следовательно, существует потребность в разработке рекомбинантного гена дистрофина, который можно было бы эффективно упаковать в вектор для генной терапии. Было показано, что векторы аденоассоциированного вируса (AAV) применимы в подходах генной терапии, направленных на исправление генетических недостатков, приводящих к понижению уровней экспрессии белка или ее отсутствию (Nathwani et al. - A.M. Keeler et al.), и потенциально применимы для нокдауна генов, редактирования или модификации генома и модуляции некодирующей РНК (Valdmanis et al., 2017). Упаковка всей кДНК мышечно-специфической изоформы дистрофина в один капсид гAAV не может быть легко обеспечена из-за большого размера кДНК дистрофина. Предыдущие исследования были сосредоточены на разработке небольших генетических конструкций, которые экспрессируют только определенные домены дистрофина. См. патенты США №№ 6869777 и 8501920, каждый из которых включен посредством ссылки. Однако данные подходы имели лишь ограниченный успех. Остается потребность в более точных и эффективных инструментах генной терапии для лечения пациентов с мутациями в гене дистрофина, и, в частности, потребность в разработке рекомбинантного гена дистрофина, который может быть эффективно упакован в вектор для генной терапии.

3. Сущность изобретения

В настоящем изобретении обеспечивается молекула нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризированного дистрофина, содержащий, от N-конца к C-концу, шарнирный 1 (hinge 1 (H1)) домен, домен спектринового повтора 1 (repeat 1 (R1)), домен спектринового повтора 3 (R3), шарнирный 2 (H2) домен, домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина, где полипептид миниатюризированного дистрофина не содержит спектринового повтора 2 дистрофина.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризированного дистрофина не содержит домен спектринового повтора 2 (R2), домен спектринового повтора 4 (R4), домен спектринового повтора 5 (R5), домен спектринового повтора 6 (R6), домен спектринового повтора 7 (R7), домен спектринового повтора 8 (R8), домен спектринового повтора 9 (R9), домен спектринового повтора 10 (R10), домен спектринового повтора 11 (R11), домен спектринового повтора 12 (R12), домен спектринового повтора 13 (R13), домен спектринового повтора 14 (R14), домен спектринового повтора 15 (R15), домен спектринового повтора 18 (R18), домен спектринового повтора 19 (R19), домен спектринового повтора 20 (R20), домен спектринового повтора 21 (R21), домен спектринового повтора 22 (R22), домен спектринового повтора 23 (R23) или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления домен R1 непосредственно слит с доменом R3 посредством пептидной связи. В некоторых вариантах осуществления домен R1 и домен R3 слиты посредством аминокислот аргинин-валин (ARG-VAL, RV). В некоторых вариантах осуществления домен H2 и домен R16 слиты посредством линкера.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 75 (INTVREE TMMVMTEDEMP LEI), причем аминокислотная последовательность способна улучшать передачу сигнала нейрональной синтазы оксида азота (Neuronal Nitric Oxide Synthase, nNOS). В некоторых вариан-

тах осуществления в данном документе раскрыта молекула нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую последовательность SEQ ID NO: 75 (INTVREE TMMVMTE DMP LEI), где молекула нуклеиновой кислоты по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 100 (ATCCACACCGTGC GGGGAAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGAC ATGCCCTGGAAATC), причем аминокислотная последовательность способна улучшать передачу сигнала nNOS. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность представляет собой линкер, соединяющий первый домен дистрофина со вторым доменом дистрофина. В некоторых вариантах осуществления первый домен дистрофина представляет собой домен H2 и второй домен дистрофина представляет собой домен R16. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность дополнительно содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 74, на N-конце.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит, от N-конца к C-концу, шарнирный 1 (H1) домен, домен спектринового повтора 1 (R1), домен спектринового повтора 3 (R3), шарнирный 2 (H2) домен, домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина. В некоторых вариантах осуществления домен R1 и домен R3 слиты посредством аминокислот ARG-VAL (RV), и где домен H2 и домен R16 слиты посредством аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 74-75, в комбинации. В некоторых вариантах осуществления (i) домен H1 и домен R1 слиты непосредственно, (ii) домен R3 и домен H2 слиты непосредственно, (iii) домены R16 и R17 слиты непосредственно, (iv) домены R17 и R24 слиты непосредственно, или (v) домены R24 и H4 слиты непосредственно, или (vi) любая их комбинация. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина дополнительно содержит домен ABD1 и/или домен CR. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина состоит по существу из или состоит из, от N-конца до C-конца, домена ABD1, домена H1, домена R1, аминокислот RV, домена R3, домена H2, аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 74-75, домена R16, домена R17, домена R24, домена H4 и домена CR дистрофина.

В некоторых вариантах осуществления домен H1 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 69. В некоторых вариантах осуществления домен R1 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 70. В некоторых вариантах осуществления домен R3 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 72. В некоторых вариантах осуществления домен H2 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах осуществления домен R16 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 76. В некоторых вариантах осуществления домен R17 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления домен R24 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 78. В некоторых вариантах осуществления домен H4 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей

мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 79. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина дополнительно содержит на N-конце аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 68. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина дополнительно содержит на C-конце аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 80. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 118. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность содержит последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 133.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина проявляет одно или несколько свойств, выбранных из группы, состоящей из (i) более низкой пролиферации CD4 по сравнению с ВХА-027741, (ii) более низкой пролиферации CD8 по сравнению с ВХА-027741, (iii) более высокой экспрессии полипептида миниатюризованного дистрофина, чем ВХА-027741, и (iv) любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий домен спектринового повтора 1 (R1) и домен спектринового повтора 16 (R16), где домен R1 и домен R16 слиты посредством линкера, содержащего аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 84 (INTVREETMMVMTEДMPLEI). В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий, от N-конца к C-концу, шарнирный 1 (H1) домен, домен спектринового повтора 1 (R1), домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), шарнирный 3 (H3) домен, домен спектринового повтора 23 (R23), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина, где домен R1 и домен R16 слиты посредством аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 84 (INTVREETMMVMTEДMPLEI). В некоторых вариантах осуществления (i) домен H1 и домен R1 слиты непосредственно, (ii) домены R16 и R17 слиты непосредственно, (iii) домены R17 и H3 слиты непосредственно, (iv) R23 и R24 домены слиты непосредственно, или (v) домены R24 и H4 слиты непосредственно, или (vi) любая их комбинация.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина не содержит домен спектринового повтора 2 (R2), домен спектринового повтора 3 (R3), домен спектринового повтора 4 (R4), домен спектринового повтора 5 (R5), домен спектринового повтора 6 (R6), домен спектринового повтора 7 (R7), домен спектринового повтора 8 (R8), домен спектринового повтора 9 (R9), домен спектринового повтора 10 (R10), домен спектринового повтора 11 (R11), домен спектринового повтора 12 (R12), домен спектринового повтора 13 (R13), домен спектринового повтора 14 (R14), домен спектринового повтора 15 (R15), домен спектринового повтора 18 (R18), домен спектринового повтора 19 (R19), домен спектринового повтора 20 (R20), домен спектринового повтора 21 (R21) и/или домен спектринового повтора 22 (R22).

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина дополнительно содержит домен ABD1 и/или домен CR. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина состоит по существу из или состоит из, от N-конца до C-конца, домена ABD1, домена H1, домена R1, аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 84, домена R16, домена R17, домена H3, домена R23, домена R24, домена H4 и домена CR дистрофина. В некоторых вариантах осуществления домен H1 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 82. В некоторых вариантах осуществления домен R1 представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на око-

группы, состоящей из промотора тиретина мыши (mTTR), промотора эндогенного фактора VIII человека (F8), промотора альфа-1-антитрипсина человека (hAAT), минимального промотора альбумина человека, промотора альбумина мыши, промотора тристетрапролина (TTP), промотора CASI, промотора гена си-напсина 1, промотора CAG, промотора цитомегаловируса (CMV), α 1-антитрипсина (AAT), мышечной креатинкиназы (MCK), тяжелой цепи альфа-миозина (α MHC), миоглобина (MB), десмина (DES), SPc5-12, 2R5Sc5-12, dMCK, tMCK и промотора фосфоглицераткиназы (PGK).

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит интронную последовательность. В некоторых вариантах осуществления интронная последовательность расположена в направлении 5' от нуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид миниатюризированного дистрофина. В некоторых вариантах осуществления интронная последовательность расположена в направлении 3' от промотора. В некоторых вариантах осуществления интронная последовательность включает синтетическую интронную последовательность. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит посттранскрипционный регуляторный элемент. В некоторых вариантах осуществления посттранскрипционный регуляторный элемент расположен в направлении 3' от нуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид миниатюризированного дистрофина. В некоторых вариантах осуществления посттранскрипционный регуляторный элемент содержит мутантный посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита сурка (WPRE), сайт связывания микроРНК или целевую последовательность ядерной ДНК, или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит 3'UTR-поли(A) хвостовую последовательность. В некоторых вариантах осуществления 3'UTR-поли(A) хвостовая последовательность выбрана из группы, состоящей из поли(A) bGH, поли(A) актина, поли(A) гемоглобина, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления 3'UTR-поли(A) хвостовая последовательность включает поли(A) bGH.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит энхансерную последовательность.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит первый ITR и/или второй ITR. В некоторых вариантах осуществления первый ITR и второй ITR идентичны. В некоторых вариантах осуществления первый ITR и/или второй ITR получены из аденоассоциированного вируса.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит гетерологичный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный фрагмент выбран из группы, состоящей из альбумина или его фрагмента, Fc-области иммуноглобулина, C-концевого пептида (СТР) β -субъединицы хорионического гонадотропина человека, последовательности PAS, последовательности НАР, трансферрина или его фрагмента, альбумин-связывающего фрагмента или его производного и любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, раскрытую в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор выбран из группы, состоящей из аденовирусного вектора, ретровирусного вектора, поксвирусного вектора, бакуловирусного вектора, вектора на основе вируса герпеса. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вектор аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах осуществления вектор AAV выбран из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 и AAV11. В некоторых вариантах осуществления вектором AAV является AAV9.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты или вектор, раскрытые в данном документе, приготовлены со средством доставки. В некоторых вариантах осуществления средство доставки включает липидную наночастицу. В некоторых вариантах осуществления средство доставки выбрано из группы, состоящей из липосом, нелипидных полимерных молекул, эндосом и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты или вектор, раскрытые в данном документе, приготовлены для внутривенной, чрескожной, внутрикожной, подкожной, легочной или пероральной доставки или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты или вектор, раскрытые в данном документе, приготовлены для внутривенной доставки. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается полипептид, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты или вектором, раскрытым в данном документе. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается клетка-хозяин, содержащая описанную в данном документе молекулу нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой клетку CHO, клетку HEK293, клетку NBK, клетку COS, клетку NSO или клетку HT1080.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается фармацевтическая композиция, содержащая (a) нуклеиновую кислоту, раскрытую в данном документе, вектор, раскрытый в данном документе, полипептид, раскрытый в данном документе, или клетку-хозяина, раскрытую в данном документе; и (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается набор, содержащий нуклеиновую кислоту, раскрытую в данном документе, вектор, раскрытый в данном документе, полипептид, раскрытый в дан-

ном документе, клетку-хозяина, раскрытую в данном документе, или фармацевтическую композицию, раскрытую в данном документе, и инструкции по введению молекулы нуклеиновой кислоты субъекту, нуждающемуся в этом.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ получения полипептида миниатюризованного дистрофина, включающий: культивирование клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, в подходящих условиях и выделение полипептида миниатюризованного дистрофина.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ экспрессии полипептида миниатюризованного дистрофина у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту нуклеиновой кислоты, раскрытой в данном документе, вектора, раскрытого в данном документе, клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, или фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения субъекта, страдающего заболеванием или состоянием, включающий введение субъекту нуклеиновой кислоты, раскрытой в данном документе, вектора, раскрытого в данном документе, полипептида, раскрытого в данном документе, клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, или фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой заболевание, вызванное дефицитом дистрофина. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой саркопению, болезнь сердца, кахексию, мышечную дистрофию Дюшенна (DMD), мышечную дистрофию Беккера (BMD), X-сцепленную дилатационную кардиомиопатию (XLDC), фацио-скапуло-плечевую мышечную дистрофию, миотоническую мышечную дистрофию, конечностно-поясничную дистрофию, окулофарингеальную мышечную дистрофию, мышечную дистрофию

Эмери-Дрейфуса, дистальную мышечную дистрофию и/или врожденную мышечную дистрофию. В некоторых вариантах осуществления способ по любому из пп.86-89, отличающийся тем, что молекулу нуклеиновой кислоты, вектор, полипептид, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию вводят внутривенно, чрескожно, внутрикочно, подкожно, перорально или легочно, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления молекулу нуклеиновой кислоты, вектор, полипептид, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию вводят внутривенно, чрескожно, внутрикочно, подкожно, перорально или через легкие или посредством любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту второго средства.

В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. В некоторых вариантах осуществления введение субъекту молекулы нуклеиновой кислоты, вектора, полипептида, клетки-хозяина или фармацевтической композиции приводит к повышенной экспрессии белка дистрофина по сравнению с экспрессией белка дистрофина у субъекта до введения, причем экспрессия белка дистрофина увеличивается по меньшей мере в около 2 раза, по меньшей мере в около 3 раза, по меньшей мере в около 4 раза, по меньшей мере в около 5 раз, по меньшей мере в около 6 раз, по меньшей мере в около 7 раз, по меньшей мере в около 8 раз, по меньшей мере в около 9 раз, по меньшей мере в около 10 раз, по меньшей мере в около 11 раз, по меньшей мере в около 12 раз, по меньшей мере в около 13 раз, по меньшей мере в около 14 раз, по меньшей мере в около 15 раз, по меньшей мере в около 20 раз, по меньшей мере в около 25 раз, по меньшей мере в около 30 раз, по меньшей мере в около 35 раз, по меньшей мере в около 40 раз, по меньшей мере в около 50 раз, по меньшей мере в около 60 раз, по меньшей мере в около 70 раз, по меньшей мере в около 80 раз, по меньшей мере в около 90 раз или по меньшей мере в около 100 раз.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта молекула нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий шарнирный 2 (H2) домен и домен спектринового повтора 16 (R16), где домен H2 и домен R16 слиты посредством линкера, содержащего аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 84 (INTVREETMMVMTEDMPLEI).

4. Краткое описание чертежей

Фиг. 1 показывает схематическое изображение полноразмерного человеческого белка дистрофина. ABD1: актин-связывающий домен-1; H# (например, H1): шарнирная область; R# (например, R1): домены спектрин-подобных повторов; ABD2: актин-связывающий домен-2; CR: богатый цистеином домен; C-конец: C-концевой домен белка.

Фиг. 2 показывает схематические изображения полипептидов миниатюризованного дистрофина VXA-027741, VXA-027742, VXA-027743, VXA-027744, VXA-196480 и VXA-196481, а также, в качестве ориентира, полноразмерный человеческий белок дистрофин из фиг. 1.

Фиг. 3 показывает соотношение экспрессии полипептида миниатюризованного дистрофина и экспрессии мРНК миниатюризованного дистрофина в полученных из изогенных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) человеческих сердечных миоцитах (iCM) (несущих преждевременный стоп-кодон E2035X в гене дистрофина, который предотвращает эндогенную экспрессию дистрофина) после трансфекции плазмид, экспрессирующих указанные полипептиды миниатюризованного дистрофина.

Фиг. 4 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризованного дистрофина

BXA-027743 (SEQ ID NO: 132), а также аминокислотную последовательность его соединительных участков J1 и J7, которые, как указано, обладают относительно низкой иммуногенностью.

Фиг. 5 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-027741 (SEQ ID NO: 129) со стрелками, указывающими на его соединительные участки J10, J11 и J9.

Фиг. 6А представляет гистограмму, показывающую долю образцов, среди протестированной панели клеток из 40 образцов, которые были обработаны различными соединительными пептидами, как указано, и имели пролиферирующие клетки CD4⁺ (каждый цветной квадрат представляет образец от одного пациента). Фиг. 6В представляет гистограмму, показывающую долю образцов, среди протестированной панели клеток из 40 образцов, которые были обработаны различными соединительными пептидами, как указано, и имели пролиферирующие клетки CD8⁺ (каждый цветной квадрат представляет образец от одного пациента).

Фиг. 7 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196473 (SEQ ID NO: 119).

Фиг. 8А показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196477 (SEQ ID NO: 118). RV: дипептид аргинин-валин между R1 и R3; SEAQ: пептид серин-глутаминовая кислота-аланин-глутамин. Фиг. 8В показывает трехмерный фолд вокруг первоначального соединительного участка 10 между R1 и R3 полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-027741 (SEQ ID NO: 129) (слева) и трехмерный фолд вокруг версии 3 соединительного участка 10 полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196477 (SEQ ID NO: 118) (справа).

Фиг. 9 показывает соотношение экспрессии полипептида миниатюризированного дистрофина и мРНК миниатюризированного дистрофина в полученных из изогенных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (iPSC) сердечных миоцитах (iCM), (несущих преждевременный стоп-кодон E2035X в гене дистрофина, который предотвращает эндогенную экспрессию дистрофина) после трансфекции плазмид, экспрессирующих указанные полипептиды миниатюризированного дистрофина.

Фиг. 10 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196474 (SEQ ID NO: 120).

Фиг. 11 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196475 (SEQ ID NO: 121).

Фиг. 12 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196476 (SEQ ID NO: 122).

Фиг. 13 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196478 (SEQ ID NO: 124).

Фиг. 14 показывает схематическое изображение полипептида миниатюризированного дистрофина BXA-196479 (SEQ ID NO: 125).

Фиг. 15. Скорость проведения в человеческих DMD hiPSC-CM, инфицированных AAV9-конструкциями, экспрессирующими полипептиды миниатюризированного дистрофина BXA-196477 и BXA-213788. Фиг. 15А показывает фотографию многоэлектродной матрицы (MEA), использованной в экспериментах (слева), и фотографию отдельных электродов MEA (справа). Фиг. 15В показывает сигнал от 28 электродов MEA в условиях эксперимента. Фиг. 15С показывает график, иллюстрирующий проведение импульса через матрицу. Фиг. 15D показывает схематические изображения полипептидов миниатюризированного дистрофина BXA-196477 (SEQ ID NO: 118) и BXA-213788 (SEQ ID NO: 152). Фиг. 15Е показывает график, на котором скорость проведения человеческими DMD hiPSC-CM, экспрессирующими полипептиды миниатюризированного дистрофина BXA-196477 (SEQ ID NO: 118) и BXA-213788, представлена в виде зависимости от времени после трансфекции. Фиг. 15F показывает гистограмму, показывающую экспрессию полипептидов миниатюризированного дистрофина в клетках, в которых была изменена скорость проведения.

Фиг. 16 показывает схему, обобщающую постановку экспериментов при выполнении исследований *in vivo*.

Фиг. 17. Целевое взаимодействие AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Фиг. 17В показывает иммунофлуоресцентную визуализацию экспрессии полипептидов миниатюризированного дистрофина и агглютинина зародышей пшеницы (WGA) в мышечной ткани мышей, обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Фиг. 17А представляет гистограммы, показывающие относительное количество клеток в различных мышцах, положительных в отношении миниатюризированного дистрофина. Столбики с диагональным рисунком = % BXA-196477 клеток, положительных по миниатюризированному дистрофину, как доля WGA-положительных клеток; столбики с продольным рисунком = % миниатюризированного дистрофина BXA-213788 как доля WGA-положительных клеток.

Фиг. 18. Целевое взаимодействие AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788, определенное у mdx^{4cv} мышей 4-недельного возраста. Фиг. 18А показывает схематические изображения полипептидов миниатюризированного дистрофина BXA-196477 (SEQ ID NO: 118) и BXA-213788 (SEQ ID NO: 152). Фиг. 18В представляет гистограмму, показывающую относительное количество вирусных геномов в мышечной ткани mdx^{4cv} мышей, обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Фиг. 18С

представляет гистограмму, показывающую относительное количество мРНК миниатюризованного дистрофина в сердце у mdx^{4cv} мышей, обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Фиг. 18D представляет гистограмму, показывающую относительное количество миниатюризованного белка дистрофина в мышечной ткани мышей, обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Dia = диафрагма; Gas = икроножная мышца; TA = передняя большеберцовая мышца. Обработанные мыши сравнивались с диким типом и необработанными mdx^{4cv} мышами.

Фиг. 19A представляет гистограмму, показывающую количество креатинкиназы в сыворотке mdx^{4cv} мышей (4-х недельных), обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Фиг. 19B представляет гистограмму, показывающую количество креатинкиназы в сыворотке mdx^{4cv} мышей (12-недельных), обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Обработанные мыши сравнивались с диким типом и необработанными mdx^{4cv} мышами.

Фиг. 20. Пик тетанического сокращения в 2-месячном возрасте. Фиг. 20A представляет график, показывающий сократительные свойства (сила в Ньютон-метрах; Нм) у mdx^{4cv} мышей, которых обрабатывали AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Фиг. 20B представляет гистограмму, показывающую пик тетанического сокращения у обработанных мышей. Фиг. 20C представляет гистограмму, показывающую массу TA у обработанных мышей. Фиг. 20D представляет гистограмму, показывающую соотношение сила/масса TA у обработанных мышей. Обработанные мыши сравнивались с диким типом и необработанными mdx^{4cv} мышами.

Фиг. 21. Защита от повреждения, вызванного сокращениями. Фиг. 21A показывает графическое изображение экспериментальной установки. Фиг. 21B представляет график, показывающий сократительные свойства (максимальный изометрический крутящий момент) мышц у мышей, обработанных AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Обработанные мыши сравнивались с диким типом и необработанными mdx^{4cv} мышами.

Фиг. 22A показывает схематическое изображение полипептидов миниатюризованного дистрофина BXA-027741 (SEQ ID NO: SEQ ID NO: 129). Фиг. 22B представляет гистограмму, показывающую иммуногенность соединительных пептидов от 1 до 12.

Фиг. 23A представляет гистограмму, показывающую иммунный ответ МНС I/CD8+ на соединительные пептиды. Пептид J11v3 здесь представляет собой тот же пептид, что и пептид № 3 на фиг. 22B.

Фиг. 23B представляет гистограмму, показывающую иммунный ответ МНС II/CD4+ на соединительные пептиды. Пептид J11v3 здесь представляет собой тот же пептид, что и пептид № 3 на фиг. 22B.

5. Подробное описание изобретения.

5.1 Обзор

Настоящее описание относится к новым миниатюризованным дистрофинам или генам, кодирующим их. Миниатюризованные дистрофины могут быть функционально связаны с регуляторной каскадой. Настоящее изобретение также относится к способам лечения субъекта, страдающего мышечной дистрофией, саркопенией, сердечной недостаточностью или кахексией. Кроме того, настоящее изобретение относится к способам профилактического лечения субъекта с риском развития мышечной дистрофии, саркопении, сердечной недостаточности или кахексии. Способы лечения субъекта, имеющего или имеющего риск развития мышечной дистрофии, саркопении, сердечной недостаточности или кахексии, могут включать введение субъекту фармацевтической композиции, включающей ген миниатюризованного дистрофина и носитель для доставки.

5.2. Определения

Для более легкого понимания настоящего изобретения сначала даны определения некоторых терминов. Каждый из следующих терминов, используемых в данном изобретении, если иное явно не предусмотрено в данном документе, имеет значение, изложенное ниже. Дополнительные определения приводятся в приложении.

Термин "и/или", используемый в данном документе, следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без другого. Таким образом, термин "и/или", используемый в данном документе во фразе, такой как "А и/или В", предназначен для включения "А и В", "А или В", "А" (только) и "В" (только). Аналогичным образом, термин "и/или", используемый во фразе, такой как "А, В и/или С", предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (только); В (только); и С (только).

Понятно, что везде, где аспекты описаны в данном документе с выражением "содержащий", также предусмотрены аналогичные аспекты, описанные в терминах "состоящий из" и/или "состоящий по существу из".

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой относится данное изобретение. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; and the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, предоставляют специалистам общий словарь многих терминов, используемых в данном изобрете-

нии.

Единицы, префиксы и символы обозначаются в их принятой *Système International de Unites* (SI) форме. Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Заголовки, представленные в данном документе, не являются ограничениями различных аспектов изобретения, которые могут быть получены путем ссылки на описание в целом.

Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены со ссылкой на спецификацию в целом.

Дистрофин (DMD) представляет собой большой, связанный с X-хромосомой ген человека, кодирующий дистрофин. Белок дистрофин представляет собой цитоскелетный белок с молекулярной массой 427 кДа, который локализуется на цитоплазматической стороне сарколеммы и обогащен костамерами в мышечных волокнах. Белок дистрофин имеет четыре основных функциональных домена: аминоконцевой актин-связывающий домен (ABD1); центральный, имеющий стержнеобразную форму домен, содержащий ряд участков стержнеобразной формы, называемых "доменами спектриновых повторов", и шарнирных участков; богатый цистеином домен; и карбоксильный концевой домен.

Как использовано в данном описании, термин "полипептид миниатюризованного дистрофина" или "пептид миниатюризованного дистрофина" относится к полипептиду, который меньше по размеру, чем полноразмерный полипептид дистрофина дикого типа. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина способен к изменению (увеличению или уменьшению, в зависимости от обстоятельств) измеримого показателя физиологии и анатомии мышц в модели животного с диагнозом DMD по меньшей мере приблизительно на 10 или 20% от показателя у дикого типа, так что показатель приближается к показателю у дикого типа (например, мышь mdx имеет измеримый показатель физиологии или анатомии мышц, который составляет 50% от показателя у дикого типа, и данный показатель увеличивается по меньшей мере на 60% от показателя у дикого типа; или мышь mdx имеет измеримый показатель физиологии или анатомии мышц, который составляет 150% от показателя у дикого типа, и данный показатель уменьшается максимально до 140% от показателя у дикого типа). В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина способен изменять измеримый показатель мышечной физиологии и анатомии в модели животного с DMD по меньшей мере приблизительно на 30% от показателя у дикого типа. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина способен изменять измеримый показатель физиологии или анатомии мышц в модели животного с DMD до уровня, близкого к показателю у дикого типа (например, ЙЙЙ 4%). Как использовано в данном описании, термин "спектриновые повторы" или "спектрин-подобные повторы" относится к пептидам, состоящим из приблизительно 100 аминокислот, которые ответственны за стержнеобразную форму многих структурных белков, включая, но не ограничиваясь этим, дистрофин, причем спектриновые повторы обычно присутствуют в нескольких копиях. Спектриновые повторы могут включать в себя мутации последовательностей природных пептидов, такие как консервативные и/или неконсервативные изменения в аминокислотной последовательности, а также добавление или удаление вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот до/от конца спектринового повтора или внутри спектринового повтора. В некоторых вариантах осуществления каждый спектриновый повтор (каждый из от R1 до R24) имеет по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности последовательности с природным спектриновым повтором (каждым из природных R1 до R24).

Используемый в данном документе термин "последовательности, кодирующие спектриновые повторы" относится к последовательностям нуклеиновой кислоты, кодирующим пептиды спектриновых повторов. Данный термин включает в себя природные и синтетические последовательности нуклеиновых кислот, кодирующих спектриновые повторы (например, как встречающиеся в природе, так и мутированные пептиды спектриновых повторов).

Как использовано в данном описании, термин "домен спектринового повтора" относится к области в полипептиде миниатюризованного дистрофина, которая содержит спектриновые повторы полипептида миниатюризованного дистрофина. Термин "слитый" относится к первой аминокислотной последовательности, которая связана в рамке считывания со второй аминокислотной последовательностью, с которой она обычно не связана в природе, образуя "слитый" белок/полипептид. Данные слитые аминокислотные последовательности, которые обычно существуют в виде отдельных белков, могут быть объединены в слитом полипептиде, или аминокислотные последовательности, которые обычно существуют в том же белке, могут быть размещены в новом порядке в слитом полипептиде. Слитый белок создают, например, путем химического синтеза пептидов или с помощью технологии рекомбинантной ДНК, посредством которой создается и затем транскрибируется полинуклеотид, при этом участки пептида кодируются в желаемой взаимосвязи. Слитый белок также может содержать вторую аминокислотную последовательность, связанную с первой аминокислотной последовательностью ковалентной непептидной связью или нековалентной связью. В некоторых вариантах осуществления "слияние" двух полипептидов достигается посредством линкера. Линкеры могут быть аминокислотами или другими химическими структурами. В некоторых вариантах осуществления линкеры могут быть синтетическими.

В некоторых вариантах осуществления "слияние" между двумя полипептидами представляет собой прямое слияние, то есть без промежуточного линкера. Термин "слитый непосредственно" или "прямое слияние" относится к связи между двумя полипептидными цепями посредством пептидной связи. Например, первая аминокислота "непосредственно слита" со второй аминокислотой, когда первая аминокислота "слита" со второй аминокислотой посредством пептидной связи. "Гетерологичный" и "гетерологичный фрагмент" применительно к полипептидному фрагменту или полинуклеотидному фрагменту, который является частью более крупного полипептида или полинуклеотида, соответственно, описывает полипептид или полинуклеотид, который происходит от полипептида или полинуклеотида, отличного от остальной части полипептида или полинуклеотидной молекулы. Дополнительный гетерологичный компонент полипептида или полинуклеотида может происходить из того же организма, что и остальная часть полипептида или полинуклеотида, соответственно, описанная в данном документе, или дополнительные компоненты могут быть из другого организма. Например, гетерологичный полипептид может быть синтетическим или полученным от другого вида, другого типа клеток индивидуума или одного и того же или другого типа клеток различных индивидуумов. В одном аспекте гетерологичный фрагмент представляет собой полипептид, слитый с другим полипептидом с образованием полипептида. В другом аспекте гетерологичный фрагмент представляет собой неполипептид, такой как ПЭГ, конъюгированный с полипептидом или белком.

Используемый в данном документе термин "мышечная клетка" относится к клетке, полученной из мышечной ткани, включая, но без ограничения, клетки, полученные из скелетной мышцы, гладкой мышцы (например, из пищеварительного тракта, мочевого пузыря и кровеносных сосудов) и сердечной мышцы. Термин включает мышечные клетки *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Таким образом, например, выделенный кардиомиоцит будет представлять ту же мышечную клетку, что и клетка в том виде, в котором она существует в мышечной ткани, присутствующей у субъекта *in vivo*. Данный термин также включает как окончательно дифференцированные, так и недифференцированные мышечные клетки, такие как миоциты, мышечные трубки, миобласты, кардиомиоциты и кардиомиобласты.

Как использовано в данном описании, термин "мышечно-специфический" в отношении регуляторного элемента гена (например, энхансерной последовательности, промоторной последовательности) означает, что регуляторный элемент управляет транскрипционной активностью, прежде всего, в мышечных клетках или тканях (например, 20:1) по сравнению с транскрипционной активностью, управляемой регуляторным элементом в других тканях. Анализы для определения мышечной специфичности регуляторного элемента известны в данной области техники (например, анализ *in vitro* с использованием мышечных мышечных клеток и клеток печени, трансфицированных вектором экспрессии, содержащим проверяемый регуляторный элемент, управляющий экспрессией репортера бета-галактозида).

Используемый в данном документе термин "аденоассоциированный вирус" или "AAV" включает, но не ограничивается ими, AAV тип 1, AAV тип 2, AAV тип 3 (включая типы 3A и 3B), AAV тип 4, AAV тип 5, AAV тип 6, AAV тип 7, AAV тип 8, AAV тип 9, AAV тип 10, AAV тип 11, AAV тип 12, AAV тип 13, змеиный AAV, птичий AAV, бычий AAV, собачий AAV, конский AAV, овечий AAV, козий AAV, креветочный AAV, AAV примата, AAV не примата и овечий AAV, серотипы и кланы AAV, раскрытые Gao et al. (*J. Virol.* 78: 6381 (2004)) и Moris et al. (*Virol.* 33: 375 (2004)) и любой другой AAV, известный в настоящее время или обнаруженный позже. См., например, Fields et al. *VIROLOGY*, volume 2, chapter 69 (4th ed., Lippincott-Raven Publishers). AAV относится к Dependoparvovirus в семействе вирусов Parvoviridae. Например, AAV может быть AAV, полученным из природного вируса "дикого типа", AAV, полученным из генома рекомбинантного AAV (гAAV), упакованного в капсид, полученный из капсидных белков, кодируемых встречающимся в природе геном *cap*, и/или генома гAAV, упакованного в капсид, полученный из капсидных белков, кодируемых не встречающимся в природе геном *cap*. Используемый в данном документе термин "AAV" может использоваться для обозначения самого вируса или его производных. Термин охватывает все подтипы и как встречающиеся в природе, так и рекомбинантные формы, если явно не указано иное. "AAV примата" относится к AAV, который заражает приматов, "AAV не примата" относится к AAV, который заражает млекопитающих, не относящихся к приматам, "бычий AAV" относится к AAV, которые заражают млекопитающих, относящихся к крупному рогатому скоту и т.д. См., например, BERNARD N. FIELDS et al., *VIROLOGY*, volume 2, chapter 69 (3 d ed., Lippincott-Raven Publishers).

Термин "гAAV" относится к "рекомбинантному AAV". В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный AAV имеет геном AAV, в котором часть или все гены *тер* и *сар* заменены гетерологичными полинуклеотидными последовательностями. Используемый в данном документе термин "вектор AAV" или "вектор аденоассоциированного вируса" относится к гAAV, содержащему полинуклеотидную последовательность, не происходящую от AAV (т.е. полинуклеотид, гетерологичный по отношению к AAV), обычно последовательность, представляющую интерес для генетической трансформации клетки. В общем, гетерологичный полинуклеотид фланкирован по меньшей мере одной и, как правило, двумя последовательностями инвертированных концевых повторов (ITR) AAV.

"Без капсида" или "безкапсидный" (или их варианты) вирусный (например, AAV) геном или молекула нуклеиновой кислоты относится к геному или молекуле нуклеиновой кислоты, свободной от капси-

да. В некоторых вариантах осуществления безкапсидный геном или молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательностей, кодирующих, например, белок Rep AAV.

"AAV", или "AAV вирусная частица", или "AAV вектор", или "гAAV векторная частица" относится к вирусной частице, состоящей по меньшей мере из одного капсидного белка AAV (обычно из всех капсидных белков AAV дикого типа) и инкапсидированного полинуклеотида. Если частица содержит гетерологичный полинуклеотид (то есть полинуклеотид, отличный от генома AAV дикого типа, например, трансген, который должен быть доставлен в клетку млекопитающего), ее обычно называют "векторной частицей гAAV" или просто "вектором AAV". Термин "вирус-помощник" для AAV относится к вирусу, который позволяет AAV (например, AAV дикого типа) реплицироваться и упаковываться с помощью клетки млекопитающего. В данной области техники известно множество таких вирусов-помощников для AAV, включая аденовирусы, герпесвирусы и поксвирусы, такие как вирус коровьей оспы. Аденовирусы охватывают ряд различных подгрупп, однако наиболее широко применяется аденовирус типа 5 подгруппы С. Многочисленные аденовирусы человека, млекопитающих, отличных от человека, и птичьего происхождения известны и доступны из депозитариев, таких как ATCC. Вирусы семейства герпесвирусов включают, например, вирусы простого герпеса (HSV) и вирусы Эпштейна-Барра (EBV), а также цитомегаловирусы (CMV) и вирусы псевдобешенства (PRV); которые также доступны из депозитариев, таких как ATCC.

Используемый в данном документе термин "инвертированный концевой повтор" ("inverted terminal repeat" или "ITR") относится к одноцепочечной последовательности нуклеотидов с последующей за ней по направлению транскрипции обратно-комплементарной последовательностью. Промежуточная последовательность нуклеотидов между начальной последовательностью и обратно-комплементарной последовательностью может иметь любую длину, включая ноль. Геном AAV обычно содержит инвертированные концевые повторы (ITR) на обоих концах, причем каждый конец обычно является палиндромным и может образовывать шпильку. Термины "полинуклеотид" и "нуклеиновая кислота" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к биополимеру, состоящему из множества нуклеотидных мономеров, ковалентно связанных в цепь.

Используемый в данном документе термин "тропизм" относится к способности вируса (например, AAV) инфицировать только один или несколько конкретных типов клеток и его способности взаимодействовать только с конкретными фрагментами клеточной поверхности для достижения входа в клетку, необязательно и предпочтительно с последующей экспрессией (например, транскрипция и, при необходимости, трансляция) последовательностей, переносимых вирусом (например, AAV) в клетку (например, для рекомбинантного вируса, экспрессия гетерологичной нуклеотидной последовательности (последовательностей)).

Как использовано в данном описании, термин "трандукция" относится к проникновению вируса (например, AAV) в клетку и переносу генетического материала, содержащегося внутри вируса в клетку, с тем чтобы получить экспрессию из вирусного генома. Обычно вирус (например, AAV) проникает в клетки в соответствии со своим тропизмом.

"Введение" относится к физическому введению терапевтического средства субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Примеры способов введения, например, для терапии AAV, включают внутривенное, внутримышечное, внутриартериальное, интратекальное, внутрилимфатическое, внутриочаговое, интракапсулярное, внутриглазное, внутрисердечное, внутрикожное, внутрибрюшинное, транстрахеальное, подкожное, субтуклярное, внутрисуставное, субкапсулярное, субарахноидальное, внутриспинальное, эпидуральное, интратеральное, пероральное, ректальное, местное, эпидермальное, через слизистую оболочку, интраназальное, вагинальное, ректальное и сублингвальное введение. Введение также может выполняться, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или нескольких продолжительных периодов.

Термин "лечение" или "терапия" субъекта относится к любому типу вмешательства или процесса, выполняемого на субъекте, или введение активного средства субъекту с целью обращения, облегчения, ослабления, ингибирования, замедления или предотвращения начала, прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения, состояния или биохимических показателей, связанных с заболеванием. "Терапевтически эффективное количество", "терапевтическая доза", "эффективная доза" или "эффективная дозировка", как используется в данном документе, означает количество или дозу, которая достигает терапевтической цели, как описано в данном документе. Специалист в данной области техники также поймет, что терапевтически эффективное количество и т.д. может быть введено в виде одноразовой дозы или может быть достигнуто путем введения нескольких доз (т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более доз). Способность терапевтического средства способствовать регрессу заболевания или ингибировать развитие или рецидив заболевания может быть оценена с использованием различных способов, известных квалифицированному практикующему врачу, например, у людей во время клинических испытаний, в модельных системах на животных, которые позволяют прогнозировать эффективность лечения больных, или путем анализа активности средства в анализе *in vitro*.

"Субъект" включает любого человека или животное, не относящееся к человеку. Термин "не отно-

сящееся к человеку животное" включает, без ограничения, позвоночных, таких как не относящиеся к человеку приматы, овцы, собаки и грызуны, такие как мыши, крысы и морские свинки. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. Термины "субъект" и "пациент" используются в данном документе взаимозаменяемо.

Используемые в данном документе термины "мкг" и "мкМ" используются взаимозаменяемо с "µг" и "µМ", соответственно.

Использование альтернативы (например, "или") следует понимать как означающее одну, обе или любую их комбинацию из альтернатив. Используемые в данном документе неопределенные артикли "a" или "an" следует понимать как относящиеся к "одному или нескольким" из любого перечисленного или перенумерованного компонента или объекта.

Приблизительно или около: Используемый в данном документе термин "приблизительно" или "около" применительно к одному или нескольким интересующим значениям относится к значению, которое аналогично заявленному эталонному значению и находится в диапазоне значений, которые попадают в пределы 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1% или менее в любом направлении (более чем или менее чем) от заявленного эталонного значения, если иное не указано или иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда такое количество превышает 100% от возможного значения). Когда термин "приблизительно" или "около" применяется в данном документе к конкретному значению, значение без термина "приблизительно" или "около" также раскрывается в данном документе.

Как описано в данном документе, любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон соотношений или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, его доли (например, одну десятую и одну сотую целого числа), если не указано иное. Различные аспекты изобретения более подробно описаны в следующих подразделах.

5.3. Полинуклеотиды и полипептиды.

5.3.1. Миниатюризированный дистрофин

Настоящее изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризированного дистрофина. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризированного дистрофина содержит по меньшей мере три шарнирных домена дистрофина и по меньшей мере пять доменов спектриновых повторов. Дистрофин представляет собой палочковидный цитоплазматический белок, который соединяет цитоскелет мышечного волокна с окружающим внеклеточным матриксом через клеточную мембрану. Данный белок находится, в основном, в мышцах, используемых для движения (скелетные мышцы), и в сердечной (кардио) мышце. В нервных клетках головного мозга присутствует небольшое количество дистрофина. В скелетных и сердечных мышцах дистрофин является частью группы белков (белкового комплекса), которые работают вместе, чтобы укрепить мышечные волокна и защитить их от травм при сокращении и расслаблении мышц. Комплекс дистрофина действует как якорь, соединяя структурный каркас каждой мышечной клетки (цитоскелет) с сетью белков и других молекул вне клетки (внеклеточный матрикс). Комплекс дистрофина также может играть роль в передаче клеточных сигналов, взаимодействуя с белками, которые отправляют и получают химические сигналы.

Ген DMD, кодирующий полноразмерный белок дистрофина, является одним из самых длинных известных генов человека, охватывая 2,3 млн. пар нуклеотидов (0,08% генома человека) в локусе Xp21. Первичный транскрипт в мышцах имеет размер около 2100 тыс. пар нуклеотидов, и его транскрипция занимает 16 ч; зрелая мРНК имеет размер 14,0 тыс. пар нуклеотидов. Мышечный транскрипт из 79 экзонов кодирует белок из 3685 аминокислотных остатков.

Настоящее описание раскрывает аминокислоты и нуклеотидные последовательности для дистрофина. Аминокислотная последовательность, составляющая человеческий дистрофин дикого типа, изоформа Dp427m, известна как UniProt идентификатор № NP_003997.1 и показана в табл. 1.

Аминокислотная последовательность полноразмерного белка дистрофина (NP_003997.1)

SEQ ID NO: 1
MLWWEIVEDCYEREDVQKKFTFKWVNAQFSKFGKQHINLFSDLQDGRRLDL LEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNVDLVNIGSTDIVDGNHKL LGLIWNILHWQVKNVMKNMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINFTTS WSDGLALNALIHSRPLDFDWSVVCQQSATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPED VDTTYPDKKSILMYITSLFQVLPQQVSIEAIEQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMH YSQQITVSLAQQYERTSSPKPRFKSYAYTQAAYVTTSDPTRSPFPSPHLEAPEDKSF GSSLMESEVNLDRYQTAL EEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGY MMDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQMNLLNSRWECLRVASM EKQSNLHRVLMDLQNKLKLNDWLTKEERTRKMEEEEPLGPDLEDLKRQVQQ HKVLQEDLEQEQRVNSLTHMVVVVDESSGDHATAALEEQLKVLGDRWANICR WTEDRWVLLQDILLKWRQLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQNEMLSS LQKLAVLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKTEAWLDNFARCWD NLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTVTTREQILVKHAQEELPPPPP QKKRQITVDSEIRKRLDVDITELHSWITRSEAVLQSPEFAIFRKEGNFSDLKEKVNA IEREKAEKFRKLQDASRSAQALVEQMVNEGVNADSIKQASEQLNSRWIEFCQLLS ERLNWLEYQNNIAFYNLQQLLEQMTTTAENWLKIQPTTPSEPTAIKSQLKICKDE VNRLSGLQPQIERLKIQSIALKEKGQGPMLDADFVAFTNHFKQVFSQVQAREKEL QTIFDTLPPMRYQETMSAIRTWVQQSETKLSIPQLSVTDYEIMEQRLGELQALQSSL QEQQSGLYYLSTTVKEMSKKAPSEISRKYQSEFEEIEGRWKKLSSQLVEHCQKLEE QMNKLRKIQNHQTLKQWMAEVDVFLKEEWPALGDSEILKKQLKQCRLLVSDIQ TIQPSLNSVNEGGQKIKNEAEPEFASRLETELKELNTQWDHMCQQVYARKEALKG GLEKTVSLQKDLSEMHEWMTQAE EYLERDFEYKTPDELQKAVEEMKRAKEEA QQKEAKVKLLTESVNSVIAQAPPVAQEALKELETLTNYQWLCTRLNGKCKTLE EVWACWHELLSYLEKANKWLNEVEFKLKTENIPGGAE EISEVLDLENLMRHSE DNPNQIRILAQTLTDGGVMDELIN ELETFNRSRWRELHEEA VRRQKLEQSIQSAQ ETEKSLHLIQESLTFIDKQLAAYIADKVDAAQMPQEAQKIQSDLTSHEISLEEMKK HNQGKEAAQRVLSQIDVAQKKLQDVSMKFRFLQK PANFEQRLQESKMILDEVKM HLPAL ETKSVEQEVVQSQLNHCVNLYKSLSEVKSEVEMVIKTGRQIVQKKQ TENP KELDERVTALKLHYNELGAKVTERKQ QLEKCLKLSRKMRKEMNVLTEWLAATD MELTKRS AVEGMPSNLDSEVAWGKATQKEIEKQKVHLKSITEVGEALKTVLGKK ETLVEDKLSLLNSNWIAVTSRAE EWLNLLEYQKHMETFQDNVDHITKWIQADT

```

LLDESEKKKPPQKEDVLKRLK AELNDRPKVDSTRDQAANLMANRGDHCRLVE
PQISELNHRFAAISHRIKTGKASIPLKELEQFNSDIQKLEPLEAEIQQGVNLKEEDF
NKDMNEDNEGTVKELLQRGDNLQQRITDERKREEIKIKQQLLQTKHNALKDLRSQ
RRKKALEISHQWYQYKRQADDLLKCLDDIEKKLASLPEPRDERKIKEIDRELQKK
KEELNAVRRQAEGLEDGAAMAVEPTQIQLSKRWREIESKFAQFRRLNFAQIHTV
REETMMVMTEMDP LEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLF
KQEESLKNIKDSLQSSGRIDIHSSKTAALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKV
NKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQLWTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYK
WYLKELQDGIGQRQTVVRTLNATGEEIIQSSKTDASILQEKLGSNLNRWQEVCK
QLSDRKKRLEEQKNILSEFQRDLNEFVLWLEEADNIASIPLEPGKEQQLKEKLEQV
KLLVEELPLRQGILKQLNETGGPVLVSAPISPEEQDKLENKQTNLQWIKVSRAL
PEKQGEIEAQIKDLGQLEKLEDLEEQLNHLLWLSPIRNQLEIYNQPNQEGPFDV
QETEIAVQAKQPDVEEILSKGQHLYKEKPATQPVKRKLEDLSSEWKAVNRLQEL
RAKQPD LAPGLTTIGASPTQTVTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSLMLEVPALADFN
RAWTELTDWLSLLDQVIKSQRVMVGLEDINEMIIKQKATMQDLEQRRPQLEELI
TAAQNKLNKTSNQEARTIITDRIERIQNQWDEVQEHLQNRRLQNLNEMLKDSTQWL
EAKEEAEQVLGGQARAKLESWKEGPTYVD AIQKKITETKQLAKDLRQWQTNVDV
ANDLALKLLRDYSADDTRKVVHMITENINASWRSIHKRVSEREAAL EETHRLLQOF
PLDLEKFLAWL TEAETTANVLQDATRKERLLED SKGVKELMKQWQDLQGEIEAH
TDVYHNL DENSQKILRSLEGSDDAVLLQRRLDNMNFKWSELRKKSLNIRSHLEAS
SDQWKRLHLSLQELLVWLQKDEL SRQAPIGGDFPAVQKQNDVHRAFKRELKT
KEPVIMSTLETVRIFL TEQPLEGLEKLYQEPRELPEERAQNVTRLLRKQAEV NTE
WEKLNLSADWQRKIDETLERLQELQEATDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLID
SLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRW
KLLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLSTS VQGPWERAI SPNKVPYYINHETQ
TTCWDHPKMT ELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRLQKALCLDLSL SAACDAL
DQHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLCVDMCLNWLNVYD
TGR TGRIRVLSFKTGHS LCKAHLEDKYRYL FKQVASSTGFCDQRRLG LLLHDSIQI
PRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPVLH
RVAAAETA KHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHY
PMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFR TKRYFAKHPRMGYLPVQTVLEGNMET
PVTLINFWPVDSAPASSQLSHDDTHSRIEHYASRLAEMENSNGSYLND SISPNESI
DDEHLLIQHYCQSLNQDSPLSQPRSPAQILISLESEERGELERILADLEENRNQAE
YDRLKQQHEHKGLSPLSPPEMMPTSPQSPRDAELIAEAKLLRQHKGRL EARMQI
LEDH NKQLESQLHRLRQLLEQPQAEAKVNGTTVSSPSTSLQRS DSSQPMLLRVVG
SQTSDSMGEEDLLSPPQDTSTGLEEVMEQLNNSFPSSRGRNTPGKPMREDTM

```

В данной области техники известны различные другие изоформы дистрофина, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления конструкции содержат нуклеотидные последовательности, представленные в табл. 2.

Кроме того, в данном документе раскрыта нуклеотидная последовательность, кодирующая полно-размерной белок дистрофин.

Нуклеотидная последовательность полноразмерного белка дистрофина (изоформа Dp427m)

SEQ ID NO: 2
GGGATTCCCTCACTTCCCCCTACAGGACTCAGATCTGGGAGGCAATTACCTTC
GGAGAAAAACGAATAGGAAAAACTGAAGTGTTACTTTTTTAAAGCTGCTGAA
GTTTGTGGTTTCTCATTGTTTTTAAGCCTACTGGAGCAATAAAGTTTGAAGAA
CTTTACCAGGTTTTTTTTATCGCTGCCTTGATATACACTTTTCAAAATGCTTTG
GTGGGAAGAAGTAGAGGACTGTTATGAAAGAGAAGATGTTCAAAAGAAAAACA
TTCAAAAATGGGTAAATGCACAATTTTCTAAGTTTGGGAAGCAGCATATTGA
GAACCTCTTCAGTGACCTACAGGATGGGAGGCGCCTCCTAGACCTCCTCGAAG
GCCTGACAGGGCAAAAAGTCCAAAAGAAAAAGGATCCACAAGAGTTCATGC
CCTGAACAATGTCAACAAGGCACTGCGGGTTTTGCAGAACAATAATGTTGATT
TAGTGAATATTGGAAGTACTGACATCGTAGATGGAAATCATAAACTGACTCTT
GGTTGATTGGGAATATAATCCTCCACTGGCAGGTCAAAAATGTAATGAAAAA
TATCATGGCTGGATTGCAACAAACCAACAGTGAAGAGATTCTCCTGAGCTGGG
TCCGACAATCAACTCGTAATTATCCACAGGTTAATGTAATCAACTCACCACC
AGCTGGTCTGATGGCCTGGCTTTGAATGCTCTCATCCATAGTCATAGGCCAGA
CCTATTTGACTGGAATAGTGTGGTTTGCCAGCAGTCAGCCACACAACGACTGG
AACATGCATTCAACATCGCCAGATATCAATTAGGCATAGAGAACTACTCGAT
CCTGAAGATGTTGATACCACCTATCCAGATAAGAAGTCCATCTTAATGTACAT
CACATCACTCTCCAAGTTTTGCCTCAACAAGTG
AGCATTGAAGCCATCCAGGAAGT
GGAAATGTTGCCAAGGCCACCTAAAGTGAATAAGAAGAACATTTTCAGTTAC
ATCATCA
AATGCACTATTCTCAACAGATCACGGTCAGTCTAGCACAGGGATATGAGAGAA
CTTCTTC
CCCTAAGCCTCGATTCAAGAGCTATGCCTACACACAGGCTGCTTATGTCACCA
CCTCTGA
CCCTACACGGAGCCCATTTCCCTCACAGCATTGGAAGCTCCTGAAGACAAGT
CATTTGG
CAGTTCATTGATGGAGAGTGAAGTAAACCTGGACCGTTATCAAACAGCTTTAG
AAGAAGT
ATTATCGTGGCTTCTTTCTGCTGAGGACACATTGCAAGCACAAAGGAGAGATTT
CTAATGA
TGTGGAAGTGGTGAAAGACCAGTTTCATACTCATGAGGGGTACATGATGGATT
TGACAGC
CCATCAGGGCCGGGTTGGTAATATTCTACAATTGGGAAGTAAGCTGATTGGAA
CAGGAAA
ATTATCAGAAGATGAAGAACTGAAGTACAAGAGCAGATGAATCTCCTAAAT
TCAAGATG
GGAATGCCTCAGGGTAGCTAGCATGGAAAAACAAAGCAATTTACATAGAGTTT
TAATGGA
TCTCCAGAATCAGAACTGAAAGAGTTGAATGACTGGCTAACAAAAACAGAA
GAAAGAAC
AAGGAAAATGGAGGAAGAGCCTCTTGGACCTGATCTTGAAGACCTAAAACGC
CAAGTACA
ACAACATAAGGTGCTTCAAGAAGATCTAGAACAAGAACAAGTCAGGGTCAAT
TCTCTCAC
TCACATGGTGGTGGTAGTTGATGAATCTAGTGGAGATCACGCAACTGCTGCTT
TGGAAGA
ACAACCTAAGGTATTGGGAGATCGATGGGCAAACATCTGTAGATGGACAGAA
GACCGCTG

GGTTCTTTTACAAGACATCCTTCTCAAATGGCAACGTCTTACTGAAGAACAGT
GCCTTTT
TAGTGCATGGCTTTCAGAAAAAGAAGATGCAGTGAACAAGATTCACACAACT
GGCTTTAA
AGATCAAAATGAAATGTTATCAAGTCTTCAAAAAGTGGCCGTTTTAAAAGCGG
ATCTAGA
AAAGAAAAAGCAATCCATGGGCAAAGTGTATTCACTCAAACAAGATCTTCTTT
CAACACT
GAAGAATAAGTCAGTGACCCAGAAGACGGAAGCATGGCTGGATAACTTTGCC
CGGTGTTG
GGATAATTTAGTCCAAAAACTTGAAAAGAGTACAGCACAGATTTACAGGCTG
TCACCAC
CACTCAGCCATCACTAACACAGACAAGTGTAAATGGAAACAGTAACTACGGTG
ACCACAAG
GGAACAGATCCTGGTAAAGCATGCTCAAGAGGAACTTCCACCACCACCTCCCC
AAAAGAA
GAGGCAGATTACTGTGGATTCTGAAATTAGGAAAAGGTTGGATGTTGATATAA
CTGAACT
TCACAGCTGGATTACTCGCTCAGAAGCTGTGTTGCAGAGTCCTGAATTTGCAA
TCTTTTCG
GAAGGAAGGCAACTTCTCAGACTTAAAAGAAAAAGTCAATGCCATAGAGCGA
GAAAAAGC
TGAGAAGTTCAGAAAAGTCAAGATGCCAGCAGATCAGCTCAGGCCCTGGTG
GAACAGAT
GGTGAATGAGGGTGTTAATGCAGATAGCATCAAACAAGCCTCAGAACAAGT
AACAGCCG
GTGGATCGAATTCTGCCAGTTGCTAAGTGAGAGACTTAACTGGCTGGAGTATC
AGAACAA
CATCATCGCTTTCTATAATCAGCTACAACAATTGGAGCAGATGACAAGTACTG
CTGAAAA
CTGGTTGAAAATCCAACCCACCACCCCATCAGAGCCAACAGCAATTAAGGTC
AGTTAAA
AATTTGTAAGGATGAAGTCAACCGGCTATCAGGTCTTCAACCTCAAATTGAAC
GATTAAA
AATTCAAAGCATAGCCCTGAAAGAGAAAGGACAAGGACCCATGTTCTGGAT
GCAGACTT
TGTGGCCTTTACAAATCATTTTAAGCAAGTCTTTTCTGATGTGCAGGCCAGAGA
GAGAAAAGA
GCTACAGACAATTTTTGACACTTTGCCACCAATGCGCTATCAGGAGACCATGA
GTGCCAT
CAGGACATGGGTCCAGCAGTCAGAAACCAAAGTCTCCATACCTCAACTTAGTG
TCACCGA
CTATGAAATCATGGAGCAGAGACTCGGGGAATTGCAGGCTTTACAAAGTTCTC
TGCAAGA
GCAACAAAAGTGGCCTATACTATCTCAGCACCAGTGTGAAAGAGATGTGCAAGA
AAGCGCC
CTCTGAAATTAGCCGAAATATCAATCAGAATTTGAAGAAATTGAGGGACGCT
GGAAGAA
GCTCTCCTCCAGCTGGTTGAGCATTGTCAAAGCTAGAGGAGCAAATGAATA
AACTCCG

AAAAATTCAGAATCACATACAAACCCTGAAGAAATGGATGGCTGAAGTTGAT
GTTTTTCT
GAAGGAGGAATGGCCTGCCCTTGGGGATTAGAAAATTTCTAAAAAAGCAGCTG
AAACAGTG
CAGACTTTTAGTCAGTGATATTCAGACAATTCAGCCCAGTCTAAACAGTGTCA
ATGAAGG
TGGGCAGAAGATAAAGAATGAAGCAGAGCCAGAGTTTGCCTCGAGACTTGAG
ACAGAACT
CAAAGAACTTAACACTCAGTGGGATCACATGTGCCAACAGGTCTATGCCAGAA
AGGAGGC
CTTGAAGGGAGGTTTGGAGAAAAGTGTAAAGCCTCCAGAAAGATCTATCAGAG
ATGCACGA
ATGGATGACACAAGCTGAAGAAGAGTATCTTGAGAGAGATTTTGAATATAAA
ACTCCAGA
TGAATTACAGAAAGCAGTTGAAGAGATGAAGAGAGCTAAAGAAGAGGCCCAA
CAAAAAGA
AGCGAAAGTGAAAACCTTACTGAGTCTGTAAATAGTGTATAGCTCAAGCTC
CACCTGT
AGCACAAGAGGCCCTTAAAAAAGGAACTTGAACTCTAACCACCAACTACCA
GTGGCTCTG
CACTAGGCTGAATGGGAAATGCAAGACTTTGGAAGAAGTTTGGGCATGTTGGC
ATGAGTT
ATTGTCATACTTGGAGAAAGCAAACAAGTGGCTAAATGAAGTAGAATTTAAAC
TTAAAC
CACTGAAAACATTCTGGCGGAGCTGAGGAAATCTCTGAGGTGCTAGATTAC
TTGAAA
TTTGATGCGACATTCAGAGGATAACCCAAATCAGATTCGCATATTGGCACAGA
CCCTAAC
AGATGGCGGAGTCATGGATGAGCTAATCAATGAGGAACTTGAGACATTTAATT
CTCGTTG
GAGGGAACACTACATGAAGAGGCTGTAAGGAGGCCAAAAGTTGCTTGAACAGAGC
ATCCAGTC
TGCCAGGAGACTGAAAAATCCTTACACTTAATCCAGGAGTCCCTCACATTCA
TTGACAA
GCAGTTGGCAGCTTATATTGCAGACAAGGTGGACGCAGCTCAAATGCCTCAGG
AAGCCCA
GAAAATCCAATCTGATTTGACAAGTCATGAGATCAGTTTAGAAGAAATGAAGA
AACATAA
TCAGGGGAAGGAGGCTGCCCAAAGAGTCCTGTCTCAGATTGATGTTGCACAGA
AAAAATT
ACAAGATGTCTCCATGAAGTTTCGATTATTCCAGAAACCAGCCAATTTTGAGC
TGCGTCT
ACAAGAAAGTAAGATGATTTTAGATGAAGTGAAGATGCACTTGCCTGCATTGG
AAACAAA
GAGTGTGGAACAGGAAGTAGTACAGTCACAGCTAAATCATTGTGTGAACTTGT
ATAAAAG
TCTGAGTGAAGTGAAGTCTGAAGTGGAAATGGTGATAAAGACTGGACGTCAG
ATTGTACA
GAAAAAGCAGACGGAAAATCCCAAAGAACTTGATGAAAGAGTAACAGCTTTG
AAATTGCA

TTATAATGAGCTGGGAGCAAAGGTAACAGAAAGAAAGCAACAGTTGGAGAAA
 TGCTTGAA
 ATTGTCCCCTAAGATGCGAAAGGAAATGAATGTCTTGACAGAATGGCTGGCAG
 CTACAGA
 TATGGAATTGACAAAGAGATCAGCAGTTGAAGGAATGCCTAGTAATTTGGATT
 CTGAAAGT
 TGCTGGGGAAAGGCTACTCAAAAAGAGATTGAGAAACAGAAGGTGCACCTG
 AAGAGTAT
 CACAGAGGTAGGAGAGGCCTTGAAAACAGTTTTGGGCAAGAAGGAGACGTTG
 GTGGAAGA
 TAAACTCAGTCTTCTGAATAGTAACTGGATAGCTGTACCTCCCGAGCAGAAG
 AGTGGTT
 AAATCTTTTGTGGAATACCAGAAACACATGGAAACTTTTGACCAGAATGTGG
 ACCACAT
 CACAAAGTGGATCATTCAAGGCTGACACACTTTTGGATGAATCAGAGAAAAAG
 AAACCCCA
 GCAAAAAGAAGACGTGCTTAAGCGTTTAAAGGCAGAACTGAATGACATACGC
 CCAAAGGT
 GGACTCTACACGTGACCAAGCAGCAAACCTTGATGGCAAACCGCGGTGACCAC
 TGCAGGAA
 ATTAGTAGAGCCCCAAATCTCAGAGCTCAACCATCGATTTGCAGCCATTTAC
 ACAGAAT
 TAAGACTGGAAGGCCTCCATTCTTTGAAGGAATTGGAGCAGTTTAACTCAG
 ATATACA
 AAAATTGCTTGAACCACTGGAGGCTGAAATTCAGCAGGGGGTGAATCTGAAA
 GAGGAAGA
 CTTCAATAAAGATATGAATGAAGACAATGAGGGTACTGTA AAAA GAATTGTTGC
 AAAGAGG
 AGACAACCTACAACAAAGAATCACAGATGAGAGAAAGAGAGAGGAAATAAA
 GATAAAACA
 GCAGCTGTTACAGACAAAACATAATGCTCTCAAGGATTTGAGGTCTCAAAGAA
 GAAAAAA
 GGCTCTAGAAAATTTCTCATCAGTGGTATCAGTACAAGAGGCAGGCTGATGATC
 TCCTGAA
 ATGCTTGGATGACATTGAAAAAAAATTAGCCAGCCTACCTGAGCCCAGAGATG
 AAAGGAA
 AATAAAGGAAATTGATCGGGAATTGCAGAAGAAGAAAGAGGAGCTGAATGCA
 GTGCGTAG
 GCAAGCTGAGGGCTTGTCTGAGGATGGGGCCGCAATGGCAGTGGAGCCAACT
 CAGATCCA
 GCTCAGCAAGCGCTGGCGGGAAATTGAGAGCAAATTTGCTCAGTTTCGAAGAC
 TCAACTT
 TGCACAAATTCACACTGTCCGTGAAGAAACGATGATGGTGATGACTGAAGACA
 TGCCTTT
 GGAAATTTCTTATGTGCCTTCTACTTATTTGACTGAAATCACTCATGTCTCACA
 AGCCCT
 ATTAGAAGTGGAACTTCTCAATGCTCCTGACCTCTGTGCTAAGGACTTTG
 AAGATCT
 CTTTAAAGCAAGAGGAGTCTCTGAAGAATATAAAAAGATAGTCTACAACAAAGCT
 CAGGTCG

GATTGACATTATTCATAGCAAGAAGACAGCAGCATTGCAAAGTGCAACGCCTG
 TGAAAAG
 GGTGAAGCTACAGGAAGCTCTCTCCAGCTTGATTTCCAATGGGAAAAAGTTA
 AAAAAAT
 GTACAAGGACCGACAAGGGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
 TTTCATTA
 TGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
 AGACACA
 AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAGGAACTCC
 AGGATGG
 CATTGGGCAGCGGCAAACTGTTGTCAGAACATTGAATGCAACTGGGGAAGAA
 ATAATTCA
 GCAATCCTCAAAAACAGATGCCAGTATTCTACAGGAAAAATTGGGAAGCCTG
 AATCTGCG
 GTGGCAGGAGGTCTGCAACAGCTGTCAGACAGAAAAAAGAGGCTAGAAGAA
 CAAAAGAA
 TATCTTGTGAGAATTTCAAAGAGATTTAAATGAATTTGTTTTATGGTTGGAGGA
 AGCAGA
 TAACATTGCTAGTATCCCCTGAACTGGAAAAGAGCAGCAACTAAAAGAA
 AAGCTTGA
 GCAAGTCAAGTTACTGGTGGAAGAGTTGCCCTGCGCCAGGGAATTCTCAAAC
 AATTA
 TGAAACTGGAGGACCCGTGCTTGTAAGTGCTCCATAAGCCCAGAAGAGCAA
 GATAAACT
 TGAAAATAAGCTCAAGCAGACAAATCTCCAGTGGATAAAGGTTTCCAGAGCTT
 TACCTGA
 GAAACAAGGAGAAATTGAAGCTCAAATAAAAAGACCTTGGGCAGCTTGAAAA
 AAGCTTGA
 AGACCTGAAGAGCAGTTAAATCATCTGCTGCTGTGGTTATCTCTATTAGGA
 ATCAGTT
 GGAAATTTATAACCAACCAACCAAGAAGGACCATTTGACGTTTACAGGAACT
 GAAATAGC
 AGTTCAAGCTAAACAACCGGATGTGGAAGAGATTTTGTCTAAAGGGCAGCATT
 TGTACAA
 GGAAAAACCAGCCACTCAGCCAGTGAAGAGGAAGTTAGAAGATCTGAGCTCT
 GAGTGGAA
 GGCGGTAAACCGTTTACTTCAAGAGCTGAGGGCAAAGCAGCCTGACCTAGCTC
 CTGGACT
 GACCACTATTGGAGCCTCTCCTACTCAGACTGTTACTCTGGTGACACAACCTGT
 GGTTAC
 TAAGGAAACTGCCATCTCCAACTAGAAATGCCATCTTCCTTGATGTTGGAGG
 TACCTGC
 TCTGGCAGATTTCAACCGGGCTTGGACAGAACTTACCGACTGGCTTTCTCTGCT
 TGATCA
 AGTTATAAAATCACAGAGGGTGATGGTGGGTGACCTTGAGGATATCAACGAG
 ATGATCAT
 CAAGCAGAAGGCAACAATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGTCCCCAGTTGGAA
 GAACTCAT
 TACCGCTGCCCAAAATTTGAAAAACAAGACCAGCAATCAAGAGGCTAGAACA
 ATCATTAC

GGATCGAATTGAAAGAATTCAGAATCAGTGGGATGAAGTACAAGAACACCTT
 CAGAACCG
 GAGGCAACAGTTGAATGAAATGTAAAGGATTCAACACAATGGCTGGAAGCT
 AAGGAAGA
 AGCTGAGCAGGTCTTAGGACAGGCCAGAGCCAAGCTTGAGTCATGGAAGGAG
 GTCCCTA
 TACAGTAGATGCAATCCAAAAGAAAATCACAGAAACCAAGCAGTTGGCCAAA
 GACCTCCG
 CCAGTGGCAGACAAATGTAGATGTGGCAAATGACTTGGCCCTGAAACTTCTCC
 GGGATTA
 TTCTGCAGATGATACCAGAAAAGTCCACATGATAACAGAGAATATCAATGCCT
 CTTGGAG
 AAGCATTATAAAAAGGGTGAGTGAGCGAGAGGCTGCTTTGGAAGAACTCAT
 AGATTACT
 GCAACAGTTCCCCCTGGACCTGGAAAAGTTTCTTGCTGGCTTACAGAAGCTG
 AAACAAC
 TGCCAAATGTCCTACAGGATGCTACCCGTAAGGAAAGGCTCCTAGAAGACTCCA
 AGGGAGT
 AAAAGAGCTGATGAAACAATGGCAAGACCTCCAAGGTGAAATTGAAGCTCAC
 ACAGATGT
 TTATCACAACTGGATGAAAACAGCCAAAAAATCCTGAGATCCCTGGAAGGTT
 CCGATGA
 TGCAGTCTGTACAAAGACGTTTGGATAACATGAACTTCAAGTGGAGTGAAC
 TTCGGAA
 AAAGTCTCAACATTAGGTCCCATTTGGAAGCCAGTTCTGACCAGTGGGAAGC
 GTCTGCA
 CCTTTCTCTGCAGGAACTTCTGGTGTGGCTACAGCTGAAAGATGATGAATTAA
 GCCGGCA
 GGCACCTATTGGAGGGGACTTTCCAGCAGTTCAGAAGCAGAACGATGTACATA
 GGGCCTT
 CAAGAGGGAATTGAAAATAAAGAACCTGTAATCATGAGTACTCTTGAGACTG
 TACGAAT
 ATTTCTGACAGAGCAGCCTTTGGAAGGACTAGAGAACTCTACCAGGAGCCCA
 GAGAGCT
 GCCTCTGAGGAGAGAGCCAGAATGTCACTCGGCTTCTACGAAAGCAGGCTG
 AGGAGGT
 CAATACTGAGTGGGAAAAATTGAACCTGCACTCCGCTGACTGGCAGAGAAAA
 ATAGATGA
 GACCCTTGAAAGACTCCAGGAACTTCAAGAGGCCACGGATGAGCTGGACCTC
 AAGCTGCG
 CCAAGCTGAGGTGATCAAGGGATCCTGGCAGCCCGTGGGCGATCTCCTCATTG
 ACTCTCT
 CCAAGATCACCTCGAGAAAGTCAAGGCACTTCGAGGAGAAATTGCGCCTCTG
 AAAGAGAA
 CGTGAGCCACGTCAATGACCTTGCTCGCCAGCTTACCACTTTGGGCATTCAGCT
 CTCACC
 GTATAACCTCAGCACTCTGGAAGACCTGAACACCAGATGGAAGCTTCTGCAGG
 TGGCCGT
 CGAGGACCGAGTCAGGCAGCTGCATGAAGCCCACAGGGACTTTGGTCCAGCA
 TCTCAGCA

CTTTCTTTCCACGTCTGTCCAGGGTCCCTGGGAGAGAGCCATCTCGCCAAACA
 AAGTGCC
 CTAATATCAACCACGAGACTCAAACAACCTTGCTGGGACCATCCCAAATGA
 CAGAGCT
 CTACCAGTCTTTAGCTGACCTGAATAATGTCAGATTCTCAGCTTATAGGACTGC
 CATGAA
 ACTCCGAAGACTGCAGAAGGCCCTTTGCTTGGATCTCTTTGAGCCTGTCAGCTG
 CATGTGA
 TGCTTGGACCAGCACAACTCAAGCAAAATGACCAGCCCATGGATATCCTGC
 AGATTAT
 TAATTGTTTGACCACTATTTATGACCGCCTGGAGCAAGAGCACAAACAATTTGG
 TCAACGT
 CCTTCTGCGTGGATATGTGTCTGAACTGGCTGCTGAATGTTTATGATACGGG
 ACGAAC
 AGGGAGGATCCGTGTCTGTCTTTTAAAACCTGGCATCATTTCCCTGTGTAAAGC
 ACATTT
 GGAAGACAAGTACAGATACCTTTTCAAGCAAGTGGCAAGTTCAACAGGATTTT
 GTGACCA
 GCGCAGGCTGGGCCTCCTTCTGCATGATTCTATCAAATTTCAAGACAGTTGG
 GTGAAGT
 TGCATCCTTTGGGGGCAGTAACATTGAGCCAAGTGTCCGGAGCTGCTTCCAAT
 TTGCTAA
 TAATAAGCCAGAGATCGAAGCGGCCCTTTCCTAGACTGGATGAGACTGGAAC
 CCCAGTC
 CATGGTGTGGCTGCCCCGTCCTGCACAGAGTGGCTGCTGCAGAACTGCCAAGC
 ATCAGGC
 CAAATGTAACATCTGCAAAGAGTGTCCAATCATTGGATTCAGGTACAGGAGTC
 TAAAGCA
 CTTTAATTATGACATCTGCCAAAGCTGCTTTTTTCTGGTTCGAGTTGCAAAGG
 CCATAA
 AATGCACTATCCCATGGTGAATATTGCACTCCGACTACATCAGGAGAAGATG
 TTCGAGA
 CTTTGCCAAAGGTACTAAAAACAATTTTGAACCAAAAGGTATTTTGCGAAGC
 ATCCCCG
 AATGGGCTACCTGCCAGTGCAGACTGTCTTAGAGGGGGACAACATGGAAACTC
 CCGTTAC
 TCTGATCAACTTCTGGCCAGTAGATTCTGCGCCTGCCTCGTCCCCTCAGCTTC
 ACACGA
 TGATACTCATTACGCATTGAACATTATGCTAGCAGGCTAGCAGAAATGGAAA
 ACAGCAA
 TGGATCTTATCTAAATGATAGCATCTCTCCTAATGAGAGCATAGATGATGAAC
 ATTTGTT
 AATCCAGCATTACTGCCAAAGTTTGAACCAGGACTCCCCCTGAGCCAGCCTC
 GTAGTCC
 TGCCAGATCTTGATTTCTTAGAGAGTGAGGAAAGAGGGGAGCTAGAGAGA
 ATCCTAGC
 AGATCTTGAGGAAGAAAACAGGAATCTGCAAGCAGAATATGACCGTCTAAAG
 CAGCAGCA
 CGAACATAAAGGCCTGTCCCCACTGCCGTCCCCCTCCTGAAATGATGCCACCT
 CTCCCCA

GAGTCCCCGGGATGCTGAGCTCATTGCTGAGGCCAAGCTACTGCGTCAACACA
 AAGGCCG
 CCTGGAAGCCAGGATGCAAATCCTGGAAGACCACAATAAACAGCTGGAGTCA
 CAGTTACA
 CAGGCTAAGGCAGCTGCTGGAGCAACCCAGGCAGAGGCCAAAGTGAATGGC
 ACAACGGT
 GTCCTCTCCTTCTACCTCTCTACAGAGGTCCGACAGCAGTCAGCCTATGCTGCT
 CCGAGT
 GGTGGCAGTCAAACCTTCGGACTCCATGGGTGAGGAAGATCTTCTCAGTCCTC
 CCCAGGA
 CACAAGCACAGGGTTAGAGGAGGTGATGGAGCAACTCAACAACCTCCTCCCT
 AGTTCAAG
 AGGAAGAAATACCCCTGGAAAGCCAATGAGAGAGGACACAATGTAGGAAGTC
 TTTTCCAC
 ATGGCAGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGA
 TGAAGAA
 GGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCCTGATTCCCGCATGGTTTTTATAATATT
 CATACA
 ACAAAGAGGATTAGACAGTAAGAGTTTACAAGAAATAAATCTATATTTTTGTG
 AAGGGTA
 GTGGTATTATACTGTAGATTTTCAGTAGTTTCTAAGTCTGTTATTGTTTTGTTAAC
 AATGG
 CAGGTTTTACACGTCTATGCAATTGTACAAAAAAGTTATAAGAAAACACTACAT
 GTAAAATC
 TTGATAGCTAAATAACTTGCCATTTCTTTATATGGAACGCATTTTGGGTTGTTT
 AAAAAT
 TTATAACAGTTATAAAGAAAGATTGTAAACTAAAGTGTGCTTTATAAAAAAAA
 GTTGTTT
 ATAAAAACCCCTAAAAACAAAACAAACACACACACACACACATACACACACA
 CACACAAA
 ACTTTGAGGCAGCGCATTGTTTTGCATCCTTTTGGCGTGATATCCATATGAAAT
 TCATGG
 CTTTTTCTTTTTTGCATATTAAGATAAGACTTCCTCTACCACCACACCAAAT
 GACTAC
 TACACACTGCTCATTGAGAAGTGTGAGCTGAGTGGGGCAGGCTTGAGTTTTT
 ATTTTCA
 ATATCTATATGTCTATAAGTATATAAATACTATAGTTATATAGATAAAGAGAT
 ACGAATT
 TCTATAGACTGACTTTTTCCATTTTTTAAATGTTTCATGTCACATCCTAATAGAA
 AGAAAT
 TACTTCTAGTCAGTCATCCAGGCTTACCTGCTTGGTCTAGAATGGATTTTTCCC
 GGAGCC
 GGAAGCCAGGAGGAAACTACACCACACTAAAACATTGTCTACAGCTCCAGAT
 GTTTCTCA
 TTTTAAACAACCTTCCACTGACAACGAAAGTAAAGTAAAGTATTGGATTTTTTT
 AAAGGG
 AACATGTGAATGAATACACAGGACTTATTATATCAGAGTGAGTAATCGGTTGG
 TTGGTTG
 ATTGATTGATTGATTGATACATTCAGCTTCCTGCTGCTAGCAATGCCACGATTT
 AGATTT

```

AATGATGCTTCAGTGGAAATCAATCAGAAGGTATTCTGACCTTGTGAACATCA
GAAGGTA
TTTTTTAACTCCCAAGCAGTAGCAGGACGATGATAGGGCTGGAGGGCTATGGA
TTCCCAG
CCCATCCCCTGTGAAGGAGTAGGCCACTCTTTAAGTGAAGGATTGGATGATTGT
TCATAAT
ACATAAAGTTCTCTGTAATTACAATAAATTATTATGCCCTCTTCTCACAGTCA
AAAGGA
ACTGGGTGGTTTGGTTTTGTTGCTTTTTTAGATTTATTGTCCCATGTGGGATGA
GTTTT
TAAATGCCACAAGACATAATTTAAAATAAATAAACTTTGGGAAAAGGTGTAA
GACAGTAG
CCCACATTTGTGATACTGACAGGTATCAACCCAGAAGCCCATGAACTGTGTTT
CCA
TCCTTTGCATTTCTCTGCGAGTAGTCCACACAGGTTTGTAAAGTAAGTAAGAAA
GAAGGC
AAATTGATTCAAATGTTACAAAAAAACCCTTCTTTGGTGGATTAGACAGGTTA
AATATATA
AACAAACAACAAAAATTGCTCAAAAAAGAGGAGAAAAGCTCAAGAGGAAA
AGCTAAGGA
CTGGTAGGAAAAAGCTTTACTCTTTTCATGCCATTTTATTTCTTTTTGATTTTTAA
ATCAT
TCATTCAATAGATACCACCGTGTGACCTATAATTTGCAAATCTGTTACCTCTG
ACATCA
AGTGTAATTAGCTTTTGGAGAGTGGGCTGACATCAAGTGTAATTAGCTTTTGG
AGAGTGG
GTTTTGTCCATTATTAATAATTAATTAATTAACATCAAACACGGCTTCTCATGC
TATTTT
TACCTCACTTTGGTTTTGGGGTGTTCCTGATAATTGTGCACACCTGAGTTCACA
GCTCA
CCACTGTCCATTGCGTTATTTCTTTTTCTTTATAATTCTTCTTTTTCTTCA
TAAT
TTTCAAAAGAAAACCCAAAGCTCTAAGGTAACAAATTACCAAATTACATGAAG
ATTTGGT
TTTTGTCTTGCATTTTTTTCTTTATGTGACGCTGGACCTTTTCTTACCCAAGG
ATTTT
TAAAACCTCAGATTTAAAACAAGGGGTTACTTTACATCCTACTAAGAAGTTAA
GTAAGTA
AGTTTCATTCTAAAATCAGAGGTAATAGAGTGCATAAATAATTTGTTTTAAT
CTTTTT
GTTTTCTTTTAGACACATTAGCTCTGGAGTGAGTCTGTCATAATTTGAACA
AAAATT
GAGAGCTTTATTGCTGCATTTAAGCATAATTAATTTGGACATTATTTTCGTGT
GTGTTT
TTTATAACCACCGAGTATTAAACTGTAATCATAATGTAAGTGAAGCATAAAC
ATCACAT
GGCATGTTTTGTCATTGTTTTCAGGTAAGTCTTACTTACTGAGTATCATAATA
TATTGT
GTTTTAACCAACACTGTAACATTTACGAATTTTTTTTTAACTTCAGTTTT
ACTGCA
TTTTCAACATATCAGACTTCACCAAATATATGCCTTACTATTGTATTATAGT
ACTGCT
TACTGTGTATCTCAATAAAGCACGCAGTTATGTTAC

```

Полноразмерный белок дистрофин дикого типа (изоформа Dp427m) содержит 24 спектрин-подобных повтора, по меньшей мере четыре шарнирных участка, актин-связывающий домен (ABD1), богатый цистеином домен (CR) и С-концевой домен (С-конц.). Полипептидная последовательность каждого домена показана в табл. 3 и нуклеотидная последовательность каждого домена показана в табл. 4.

Аминокислотные последовательности доменов дистрофина

Описание и идентификатор последовательности	Последовательность
ABD1 (SEQ ID NO: 3)	MLWWEVEDCYEREDVQKKFTTKWVNAQFSKFGKQHLENLFSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTR VHALNNVNKALRVLQNNVVDLVNIGSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHW QVKNVMKNIMAGLQQTNSEKIL LSWVRQSTRNYPQVNVINFTTSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVC QQSATQRLEHAFNIARYQLGIE KLLDPEDVDTTYPDKKSILMYITSLFQVLPQQVSIEAIEVE
Шарнир 1 (SEQ ID NO: 4)	MLPRPPKVTKEEHFQLHHMHYSQQITVSLAQGYERTSSPKPRFKSYAY TQAAYVTTSDPTRSPFQSHL EAPEDKSFSSLMES
Спектриновый повтор 1 (SEQ ID NO: 5)	EVNLDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGY MMDLTAHQGRVGNILQLGSKLI GTGKLEDEETEVEQEQMNLNSRWECRLVASMEKQSNLH
Спектриновый повтор 2 (SEQ ID NO: 6)	RVLMDLQNKLKLNDWLTKEERTRKMEEEEPLGPDLEDLKRQVQQH KVLQEDLEQEQRVNSLTHMVVV VDESSGDHATAALEEQLKVLGDRWANICRWTEDRWVLLQDI
Спектриновый повтор 3 (SEQ ID NO: 7)	LLKWQRLTEEQLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQNEMLSSLQKLAV LKADLEKKKQSMGKLYSLKQDL LSTLKNKSVTQKTEAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQA
Шарнир 2 (SEQ ID NO: 8)	VTTTQPSLTQTTVMETVTTVTTRREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVD
Спектриновый повтор 4 (SEQ ID NO: 9)	SEIRKRLDVDITELHSWITRSEAVLQSPEFAIFRKEGNFSDLKEKVNIAIER EKA EKFRKLQDASRSAQAL VEQMVNEGVNADSIKQASEQLNSRWIEFCQLLSERLNWLEY
Спектриновый повтор 5 (SEQ ID NO: 10)	QNNIIAFYNLQQLQLEQMTTAAENWLKIQPTTPTSEPTAIKSQLKICKDEVN RLSGLQPQIERLKIQSIALK EKGQGPMLDADFVAFTNHFQVFSQVQAREKELQTIQD
Спектриновый повтор 6 (SEQ ID NO: 11)	TLPPMRYQETMSAIRTWVQQSETKLSIPQLSVTDYEIMEQRLGELQALQ SSLQEQQSGLYYLSTTVKEMS KKAPSEISRKYQSEFEEIEGRWKKLSSQLVEHCQKLEEQ
Спектриновый повтор 7 (SEQ ID NO: 12)	MNKLKRIQNHITLKKWMAEVDVFLKEEWPALGDSEILKKQLKQCRL VSDIQTIQPSLNSVNEGGQKIK NEAEPEFASRLETELKELNTQWDHMCQQVYARKEALKGG

Спектриновый повтор 8 (SEQ ID NO: 13)	LEKTVSLQKDLSEMHWMTQAE E EYLERDFEYKTPDELQKAVEEMKR AKEEAQQKEAKVKLLTESVNSVI AQAPPVAQEALKKELETLT TNYQWLCTRLNGKCKTLEEV
Спектриновый повтор 9 (SEQ ID NO: 14)	WACWHELLSYLEKANKWLNEVEFKLKT TENIPGGAE EISEVLDLENL MRHSEDNPNQIRILAQTLTDGG VMDELIN E ELET FNSRWRELHEEA VRRQK LLEQS
Спектриновый повтор 10 (SEQ ID NO: 15)	IQSAQETEKSLHLIQESLTFIDKQLAAYIADKVDAAQMPQEAQKIQSDLT SHEISLEEMKKHNQK EAAQ RVLSQIDVAQKKLQDVSMKFRL
Спектриновый повтор 11 (SEQ ID NO: 16)	FQK PANFE RLQESKMILDEVKMHLPAL ETKSVEQEVVQSQLNHC VNLYKSLSEVKS EVEMVIKTGRQIV QKKQ TENPKELDERVTALKLHYNELGAKVTERKQ QLEKC
Спектриновый повтор 12 (SEQ ID NO: 17)	LKLSRKM RKEMNVLTEWLAATDMELTKRS AVEGMPSNLDSEVAWGK ATQKEIEKQKVHLKSITEVGEALK TVLGK KETLVEDKLSLLNSNWI AVTSRAEEWLNLLLEY
Спектриновый повтор 13 (SEQ ID NO: 18)	QKHMETF DQNV DHI TWI IQADTL LDESEK KKPQKEDVLKRLK AELN DIRPKVDSTRDQAANL MANRGD HCRKLV EPQISELNHRFAAISHRIKTGKASIPLK
Спектриновый повтор 14 (SEQ ID NO: 19)	ELEQFN SDIQK LLEPLEAEIQQGVNLKEEDFNKDMNEDNEGTVKELLQR GDNLQQRITDERKREEIKIQ QLLQTKHNALKDLRSQRRKKALEI
Спектриновый повтор 15 (SEQ ID NO: 20)	SHQWYQYKRQADDLLKCLDDIEKKLASLPEPRDERKIKEIDRELQKKKE ELNAVRRQAEG LSEDGAAMAV EPTQIQLSKRWREIESKFAQFRRLNFAQ
L3 (20-мерный линкер) (SEQ ID NO: 21)	IHTVREETMMVMTE DMPLEI
Спектриновый повтор 16 (SEQ ID NO: 22)	SYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDL FKQEESLKNIKD SLQQSSGRIDIH SSKKTAAL QSATPVERVKLQEALSQLDFWEKVNKMYKDRQGRFDRS
Спектриновый повтор 17 (SEQ ID NO: 23)	VEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYK WYLKELQ DGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQQ SSKTDASILQEKLGSNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQ
Спектриновый повтор 18 (SEQ ID NO: 24)	KNILSEFQRDLNEFVLWLEEADNIASIPLEPGKEQQLKEKLEQVKLLVEE LPLRQGILKQLNETGGPVLV SAPISPEEQDKLENK LKQTNLQWIKVSRALPEKQGEIEAQIKDLGQL
Спектриновый повтор 19 (SEQ ID NO: 25)	EKKLEDLEEQLNHLLLWLSPIRNQLEIYNQPNQEGPFDVQETEIAVQAK QPDVEEILSKGQHLYKEKPAT QPVKRKLEDLSSEWKAVNRLQLELRAKQPD L
Шарнир 3 (SEQ ID NO: 26)	APGLTTIGASPTQTVTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSMLME
Спектриновый повтор 20 (SEQ ID NO: 27)	VPALADFNRAWTELTDWLSLLDQVIKSQRVMVGDLEDINEMIIKQKAT MQDLEQRRPQLEELITAAQNLK NKTSNQEAR TIIDRIERIQNWDEVQ EHLQNR RQQLNEM
Спектриновый повтор 21 (SEQ ID NO: 28)	LKDSTQWLEAKEEAEQVLGQARAKLESWK EGPYTVDAIQK KITETKQL AKDLRQWQTNVDVANDLALKLL RDYSADDTRKVHMITENINASWRSIHKRVSEREA ALEET

Спектриновый повтор 22 (SEQ ID NO: 29)	HRLQFPLDLEKFLAWL TEAETTANVLQDATRKERLLED SKGVKELM KQWQDLQGEIEAHTDVYHNLDE NSQKILRSLEGSDDAVLLQRRLDNMNFKWSELRKKSLNIRSHLEAS
Спектриновый повтор 23 (SEQ ID NO: 30)	SDQWKRLHLSLQELLVWLQKDDLSRQAPIGGDFPAVQKQNDVHRA FKRELKTKPEVIMSTLETVRIFL TEQPLEGLEKLYQEPRELPEERAQNVTRLLRKQAEENVTEWEKLNLS ADWQRKIDET
Спектриновый повтор 24 (SEQ ID NO: 31)	LERLQELQEATDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVK A LRGEIAPLKENVSHVNDLARQL TTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHE
Шарнир 4 (SEQ ID NO: 32)	AHRDFGPASQHF LSTSVQGPWERAISP NKVPYYINHETQTTCWDHPKM TELYQSLADLNNVRFSA YRTAM KL
CR (SEQ ID NO: 33)	RRLQKALCLDLSL SAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRL EQEHNNLVNPLCVDMCLNWL LNVYDTGR TGRIRVLSFKTGHS LCKAHLEDKYRYL FKVQVASTGFCDQ RRLG LLLHDSIQIPRQLGEVA SFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFDW MRLEPQSMVWLPVLRHV AAAETAKHQAKCNICKECPII GFRYRSLKHFN YDICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVR DFAKVLKNKFR TKRYFAKHPRM GYLPVQTVLEGDNMET
С-конц. (SEQ ID NO: 34)	PVTLINFWPVD SAPASSPQLSIIDDTIISRIEIIYASRLAEMENSGSYLND SISPNESIDDEHLLIQHYCQS LNQDSPLSQPRSPAQILISLESEERGELERILADLEENRNLQAEYDR LKQ QHEHKGLSPLSPPEMMPT SPQSPRDAELIAEAKLLRQHKGRL EARMQILEDHNKQLESQLHRLRQLL EQPQAEAKVNGTTVSPSTSL QRS DSSQPMLLRVVG SQTSDSMGEEDLLSPPQDTSTGLEEVMEQLNNSF PSSRGRNTPGKPMREDTM

Таблица 4

Нуклеотидные последовательности доменов дистрофина

Описание и идентификатор последовательности	Последовательность
5' нетранслируемая область (SEQ ID NO:35)	gggattccct cacttcccc ctacaggact cagatctggg aggcaattac cttcggagaa 60 aaacgaatag gaaaaactga agtgttactt ttttaaagc tgctgaagtt tgttggttc120 tcattgttt taagcctact ggagcaataa agttgaaga actttacca ggttttttt180 atcgtcctct tgatatacac tttcaaa 208
ABD1 (SEQ ID NO:36)	atgctttggt gggagaagt agaggactgt tatgaagag aagatgtca aaagaaaaca 60 ttcacaat gggtaaatgc acaatttct aagtttggga agcagcatat tgagaacctc120 ttcagtgacc tacaggatgg gaggcgcctc ctgacctcc tgaaggcct gacagggcaa180 aaactgcaa aagaaaaagg atccacaaga gttcatgccc tgaacaatgt caacaaggca240 ctgctgggtt tgcagaaca taatgttgat ttagtgaata ttggaagtac tgacatcgta300 gatggaatc ataaactgac tcttggttg atttgaata taatcctcca ctggcaggtc360 aaaaatgtaa tgaataat catggctgga ttgcaacaaa ccaacagtga aaagattctc420 ctgagctggg tccgacaatc aactcgtaat tatccacagg ttaatgtaat caactcacc480 accagctggt ctgatggcct ggcttgaat gctctcatcc atagtcatag gccagaccta540

	ttgactgga atagtgtggt ttgccagcag tcagccacac aacgactgga acatgattc600 aacatcgcca gatatcaatt aggcatagag aaactactcg atcctgaaga tgttgatacc660 acatccag ataagaagtc catctaatg tacatcacat cactctcca agtttgct720 caacaagtga gcattgaagc catccaggaa gtggaa756
Шарнир 1 (SEQ ID NO:37)	atgttgcca ggccaccta agtgactaaa gaagaacatt ttcagttaca tcatcaaatg 60 cactatttc aacagatcac ggtcagtcta gcacaggat atgagagaac ttctcccct120 aagcctcgat tcaagagcta tgcctacaca caggctgctt atgtaccac ctctgacct180 acacggagcc cacttcttc acagatttg gaagctcctg aagacaagtc atttggcagt240 tcattgatgg agagt 255
Спектриновый повтор 1 (SEQ ID NO:38)	gaagtaaacc tggaccgta tcaaacagct ttagaagaag tattatctg gcttcttct 60 gctgaggaca cattgcaagc acaaggagag atttcaatg atgtggaagt ggtgaaagac120 cagtttata ctcatgagg gtcacatgatg gattgacag cccatcaggg ccgggtggt180 aatattctac aattgggaag taagctgatt ggaacaggaa aattatcaga agatgaagaa240 actgaagtac aagagcagat gaatctccta aattcaagat gggaatgctt cagggtagct300 agcatgaaa aacaagcaa ttacat327
Спектриновый повтор 2 (SEQ ID NO:39)	agagtttaa tggatctcca gaatcagaaa ctgaaagagt tgaatgactg gctaacaaa 60 acagaagaaa gaacaagaa aatggaggaa gagcctcttg gacctgatct tgaagacct120 aaacgccaag tacaacaaca taaggtgctt caagaagatc tagaacaaga acaagtcagg180 gtcaatttc tcatcacat ggtggtgta gttgatgaat ctagtggaga tcacgcaact240 gctgcttgg aagaacaact taaggtattg ggagatcgat gggcaaacat ctgtagatgg300 acagaagacc gctgggttct ttacaagac atc 333
Спектриновый повтор 3 (SEQ ID NO:40)	cttcaaat ggcaactctactgaagaa cagtgccttt ttagtcatg gcttcagaa 60 aaagaagatg cagtgaacaa gattcacaca actggcttta aagatcaaaa tgaatgtta120 tcaagtctc aaaaactggc cgtttaaaa cgggatctag aaaagaaaa gcaatccatg180 ggcaactgtt attactcaa acaagatctt ctttcaacac tgaagaataa gtcagtacc240 cagaagacgg aagcatggct ggataacttt ccccgggtgt gggataattt agtcaaaaa300 ctgaaaaaga gtacagcaca gatttcacag gct 333
Шарнир 2 (SEQ ID NO:41)	gtcaccacca ctacccatc actaacacag acaactgtaa tggaaacagt aactacggtg 60 accacaaggg aacagatcct ggtaaacgat gctcaagagg aactccacc accactccc120 caaaagaaga ggcagattac tgtgat147
Спектриновый повтор 4 (SEQ ID NO:42)	tctgaaatta ggaaggtt ggatgttgat ataactgaac ttcacagctg gattactcgc 60 tcagaagctg tgtgacagag tctgaaatt gcaatcttc ggaaggagg caactctca120 gacttaaaag aaaaagtcaa tgccatagag cgagaaaaag ctgagaagt cagaaaactg180 caagatgcca gcagatcagc tcaggccctg gtggaacaga tggatgaatg ggtgttaat240 gcagatagca tcaacaagc ctcaacaaca ctgaacagcc ggtggatcga attctgccag300 ttgctaagt agagactta ctggctggag tat 333
Спектриновый повтор 5 (SEQ ID NO:43)	cagaacaaca tcatcgttt ctataatcag ctacaacaat tggagcagat gacaactact 60 gctgaaaact ggtgaaaat ccaaccacc accccatcag agccaacagc aattaaagt120 cagttaaaaa ttgtaagga tgaagtcaac cggctatcag gtcttcaacc tcaaattgaa180 cgattaaaaa ttcaaacat agcctgaaa gagaaggac aaggacccat gttctggat240 gcagacttg tggccttac aatcatttt aagcaagtct ttctgatgt gcaggccaga300 gagaagagc tacagacaat tttgac327

Спектриновый повтор 6 (SEQ ID NO:44)	actttgccac caatgcgcta tcaggagacc atgagtgcc tcaggacatg ggtccagcag 60 tcagaaacca aactctccat acctcaactt agtgtcaccg actatgaaat catggagcag120 agactcgggg aattgcagcg tttacaaagt ttctgtcgaag agcaacaaag tggcctatac180 tatctcagca ccaactgtgaa agagatgtcg aagaaagcgc cctctgaaat tagccggaaa240 tatcaatcag aattgaaaga aattgaggga cgctggaaga agctctctc ccagctggtt300 gagcattgtc aaaagctaga ggagcaa327
Спектриновый повтор 7 (SEQ ID NO:45)	atgaataaac tccgaaaaat tcagaatcac atacaacc tgaagaaatg gatggctgaa 60 gttgatgttt ttctgaagga ggaatggcct gccctgggg attcagaaat tctaaaaaag120 cagctgaaac agtgcagact tttagtcaat gatattcaga caattcagcc cagtctaaac180 agtgtcaatg aagggtggca gaagataaag aatgaagcag agccagagt tgcctcaga240 cttgagacag aactcaaaaga acttaacct cagtgggatc acatgtgcc acaggtctat300 gccagaaagg aggccttga gggaggt327
Спектриновый повтор 8 (SEQ ID NO:46)	ttggagaaaa ctgtaagcct ccagaaagat ctatcagaga tgcacgaatg gatgacacaa 60 gctgaagaag agtatcttga gagagatttt gaatataaaa ctccagatga attacagaaa120 gcagttgaag agatgaagag agctaaagaa gaggcccaac aaaaagaagc gaaagtgaaa180 ctcctactg agtctgtaa tagtgtcata gctcaagctc cacctgtagc acaagaggcc240 ttaaaaaagg aacttgaac tctaaccacc aactaccagt ggctctgcac taggctgaat300 gggaaatgca agactttgga agaagt327
Спектриновый повтор 9 (SEQ ID NO:47)	tggcatgtt ggcatgagtt atgtcatic ttggagaaag caaacaagtg gctaaatgaa 60 gtagaattta aacttaaac cactgaaac atctctggcg gagctgagga aatctctgag120 gtgctagatt cacttgaaa tttgatgcca cattcagagg ataaccaaa tcagattcgc180 atattggcac agaccctaac agatggcgga gtcattgatg agctaatcaa tgggaactt240 gagacattta atctcgtt gagggaaacta catgaagagg ctgtaaggag gcaaaagt300 cttgaacaga gc312
Спектриновый повтор 10 (SEQ ID NO:48)	atccagtctg cccaggagac tgaaaaatcc ttacacttaa tccaggagtc cctcacattc 60 attgacaagc agttggcagc ttatattgca gacaaggtgg acgcagctca aatgcctcag120 gaagcccaga aatccaatc tgattgaca agtcatgaga tcagtttga agaataag180 aaacataatc aggggaagga ggctgcccaa agagtctctg ctcaagattg tgttcacag240 aaaaaattac aagatgtctc catgaagttt cgatta276
Спектриновый повтор 11 (SEQ ID NO:49)	ttccagaaac cagccaattt tgagctgcgt ctacaagaaa gtaagatgat ttgatgaa 60 gtgaagatgc acttgcctgc attggaaca aagagtggg aacaggaagt agtacagta120 cagctaaatc attgtgtgaa cttgtataaa agtctgagtg aagtgaagtc tgaagtggaa180 atggtgataa agactggacg tcagattgta cagaaaaagc agacggaaaa tccaaagaa240 cttgatgaaa gagtaacagc ttgaaattg cattataatg agctgggagc aaagtaaca300 gaaagaaagc aacagttgga gaaatgc327
Спектриновый повтор 12 (SEQ ID NO:50)	ttgaaattgt cccgtaagat gcgaaaggaa atgaatgtct tgacagaatg gctggcagct 60 acagatatgg aattgacaaa gagatcagca gttgaaggaa tgcctagtaa ttggattct120 gaagttgcct ggggaaaggcactcaaaaa gagattgaga aacagaaggt gcacctgaag180 agtatcacag agtaggaga ggccttgaac acagttttgg gcaagaagga gacgttggtg240 gaagataaac tcagcttctt gaatagtaac tggatagctg tcacctccc agcagaagag300 tggtaaatc tttgttga atac 324

Спектриновый повтор 13 (SEQ ID NO:51)	cagaaacaca tggaaacttt tgaccagaat gfgaccaca tcacaagtg gatcattcag 60 gctgacacac ttttggatga atcagagaaa aagaaacccc agcaaaaaga agacgtgctt120 aagcgtttaa aggcagaact gaatgacata cgcccaaagg tggactctac acgtgaccaal180 gcagcaaac tgatggcaaa ccgcggtgac cactgcagga aattagtaga gccccaaatc240 tcagagctca accatcgatt tgacgccatt tcacacagaa ttaagactgg aaagcctcc300 attccttga ag312
Спектриновый повтор 14 (SEQ ID NO:52)	gaattggagc agttaaactc agatataca aattgcttg aacctgga ggctgaaatt 60 cagcaggggg tgaatctgaa agaggaagac tcaataaag atatgaatga agacaatgag120 ggfactgtaa aagaattgtt gcaagagga gacaactac acaaaagaat cacagatgag180 agaagagag aggaataaa gataaacag cagctgttac agacaaaaca taatgctctc240 aaggattga ggtctcaaag aagaaaaaag gctagaaa tt 282
Спектриновый повтор 15 (SEQ ID NO:53)	tctcatcagt ggtatcagta caagaggcag gctgatgac tcctgaaatg ctggatgac 60 attgaaaaaa aattagccag cctacctgag cccagagatg aaaggaaat aaaggaaatt120 gatcgggaat tgcagaagaa gaaagaggag ctgaatgcag tgcgtaggca agctgagggc180 ttgtctgagg atggggccgc aatggcagtg gagccaactc agatccagct cagcaagcgc240 tggcgggaaa ttgagagcaa attgtctcag ttctgaagac tcaactttgc acaa294
L3 (20-мерный линкер) (SEQ ID NO:54)	attcacactg tccgtgaaga aacgatgatg gtgatgactg aagacatgcc ttggaaatt 60
Спектриновый повтор 16 (SEQ ID NO:55)	tcttatgtgc cttactacta ttgactgaa atcactcatg tctacaagc cctattagaa 60 gtggaacaac ttctaatgc tctgacctc tctgtaagg actttgaaga tctcttaa120 caagaggagt ctctgaagaa tataaaagat agtctacaac aaagctcagg tggattgac180 attattcata gcaagaagac agcagcattg caaagtgcaa cgctgtgga aagggtgaag240 ctacaggaag ctctctcca gcttgattc caatgggaaa aagttaaca aatgtacaag300 gaccgacaag ggcgattga cagatct327
Спектриновый повтор 17 (SEQ ID NO:56)	gttgagaaat ggcggcgttt tcaattgat ataaagatat ttaactcagt gctaacagaa 60 gctgaacagt ttctcagaaa gacacaatt cctgagaatt gggaacatgc taaatacaaa120 tggatctta aggaactcca ggatggcatt ggcagcggc aaactgttg cagaacattg180 aatgcaactg gggagaaat aattcagcaa tctcaaaaa cagatgccag tattctacag240 gaaaaattgg gaagcctgaa tctgcggtgg caggaggtct gcaaacagct gtcagacaga300 aaaaagaggc tagaagaaca a321
Спектриновый повтор 18 (SEQ ID NO:57)	aagaatatct tgcagaatt tcaagagat taaatgaat ttgtttatg gttggaggaa 60 gcagataaca ttgctagtat cccacttgaa cctggaaaag agcagcaact aaaagaaaag120 cttgagcaag tcaagtact ggtggaagag ttgccctgc gccagggaat tctcaaaaa180 ttaatgaaa ctggaggacc cgtgcttga agtctccca taagcccaga agagcaaat240 aaactgaaa ataagctcaa gcagacaaat ctccagtgga taaaggttc cagagctta300 cctgagaaac aaggagaaat tgaagctcaa ataaaagacc ttgggcagct t 351
Спектриновый повтор 19 (SEQ ID NO:58)	gaaaaaaagc ttgaagacct tgaagagcag ttaaatcacc tctgctgtg gttatctcct 60 attaggaatc agttggaat ttataacca ccaaaccaag aaggaccatt tgacgttcag120 gaaactgaaa tagcagtca agctaaaca ccggatgtgg aagagatttt gctaaaggg180 cagcatttgt acaaggaaaa accagccact cagccagtga agaggaaagt agaagatctg240 agctctgagt ggaaggcgtt aaaccgttta ctcaagagc tgaggcmeta gcagcctgac300 cta303

Шарнир 3 (SEQ ID NO:59)	gctcctggac tgaccactat tggagcctct cctactcaga ctgtfactct ggtgacacaa 60 cctgtggta ctaaggaaac tgccatctcc aaactagaaa tgccatcttc ctgtatgtg120 кляп123
Спектриновый повтор 20 (SEQ ID NO:60)	gtacctgctc tggcagatt caaccgggct tggacagaac ttaccgactg gctttctctg 60 cttgatcaag ttataaaatc acagaggggtg atgggtgggtg acctgagga tatcaacgag120 atgatcatca agcaagaaggc aacaatgcag gatttggaaac agaggcgtcc ccagttggaa180 gaaactatta ccgctgccca aaattgaaa aacaagacca gcaatcaaga ggctagaaca240 atcattacgg atcgaattga aagaattcag aatcagtggg atgaagtaca agaacacctt300 cagaaccgga ggcaacagtt gaatgaaatg 330
Спектриновый повтор 21 (SEQ ID NO:61)	ttaaaggatt саасасаатg gctggaagct aaggаагааg ctgagcaggt cttaggacag 60 gscagagcca agcttgatc atggaaggag ggtccctata cagtagatgc aatccaaaag120 aaaatcacag aaaccaagca gtggcctaaa gacctccgcc agtggcagac aatgtagat180 gtggcaaatg acttggcctt gaaactctc cgggattatt ctgcagatga taccagaaaa240 gtccacatga таасагааа тасаатgcc tcttgagaa gcaatcataa aagggtgagt300 gagcgagagg ctgctttgga agaaact327
Спектриновый повтор 22 (SEQ ID NO:62)	catagattac tgсаасагтт ссссctggac ctgaaaaagt ttctgctctg gcttacagaa 60 gctgaaасаа ctgcaatgt cctacaggat gctaccgta aggaaaggct cctagaagac120 tccaaggag таааагагсгг gatgaaасаа tggcaagacc tccaagggtg aattgagct180 cacacagatg ttatcacaa cctggatgaa aacagccaaa aaatctgag atccctggaa240 ggttccgatg atgagctct gttacaaga cgtttgata acatgaactt caagtggagt300 gaaactcggа ааааgтсггсгг саасатtagg tcccattgg aagccagt 348
Спектриновый повтор 23 (SEQ ID NO:63)	tctgaccagt ggaagcgtct gcaacttct ctgcaggaac ttctggtgtg gctacagctg 60 aaagatgatg aattaagccg gcagccactt attggaggcg acttccagc agttagaag120 cagaacgatg tacataggcg ctcaagagg gaattgaaaa ctaagaacc tgtaatcatg180 agtactcttg agactgtacg aatattctg acagagcagc ctttggagg actagaaaa240 ctctaccagg agcccagaga gctgcctctc gaggagagag cccagaatgt cactcggctt300 ctacgaaagc aggtgagga ggtcaatact gagtgggaaa aattgaacct gcaactccgct360 gactggcaga gaaaaataga tgagacc387
Спектриновый повтор 24 (SEQ ID NO:64)	ctgaaagac tccaggaact tcaagaggcc acggatgagc tggacctca gctcgccaa 60 gctgaggtga tcaagggatc ctggcagccc gtggcgatc tctcattga ctctctcaa120 gatcacctcg agaaagtcaa ggcacttcca ggagaaattg cgcctctgaa agagaacgtg180 agccacgtca atgaccttgc tgcagcctt accacttgg gcaatcagct ctaccgtat240 aacctcagca ctctggaaga cctgaacacc agatggaagc ttctgcaggt ggccgtcag300 gaccagatca ggcagctgca tga 324
Шарнир 4 (SEQ ID NO:65)	gcccacaggg actttgtcc agcatctcag cactttctt ccacgtctgt ccagggtccc 60 tgggagagag ccactctgcc ааасаааггсгг ссссtactata tcaaccagca gactcaaca120 acttctggg accatcccaa aatgacagag ctctaccagt ctttagctga cctgaataat180 gtcagattct cagcttatag gactgcatg aaactc216
CR (SEQ ID NO:66)	cgaagactgc agaaggcctt ttgcttggat ctcttgagcc tgtcagctgc atgtgatcc 60 ttgaccagc асаассtсаа gcaaatgac cagccatgg atactctgca gattattaat120 tgttgacca ctattatga ccgctggag caagagcaca асааттgggt caactcct180 ctctgctgg atatgtctt gaactggctg ctgaatgtt atgatacggg acgaacaggg240 agatccgtg tctgtcttt taaaactggc atcattccc tgtgtaaac acatttggaa300

	<p>gacaagtaca gatacctttt caagcaagtg gcaagtcaa caggatttg tgaccagcgc360 agctggggc tcctctgca tgattctatc caaatccaa gacagttggg tgaagtga420 tccttgggg gcagtaaat tgagccaagt gtcggagct gcttccaat tgctaataat480 aagccagaga tcgaagcggc cctctccta gactggatga gactggaacc ccagtcctatg540 gtgtggctgc ccgtctgca cagagtggct gctcagaaa ctgccaagca tcaggccaaa600 tgtaacatct gcaagagtg tccaatcatt ggattcaggt acaggagctc aaagcacttt660 aattatgaca tctgccaag ctgcttttt tctgctgag ttgcaaaaagg ccataaaatg720 cactatccca tgggtgaata ttgactccg actacatcag gagaagatgt tcgagacttt780 gccaaggtac taanaaaaca atttgaacc aaaaggtatt ttgcgaagca tcccgaatg840 ggctacctgc cagtcgagac tctcttagag ggggacaaca tggaaact</p>
С-конц. (SEQ ID NO:67)	<p>cccgttactc tgatcaact ctggccagta gattctgctc ctgctctc ccctcagctt 60 tcacacgatg atactcattc acgattgaa cattatgcta gcaggctagc agaaatggaal120 aacagcaatg gatcttatct aatgatagc atctctccta atgagagcat agatgatgaa180 cattttgtaa tccagcatta ctgccaagt ttgaaccagg actccccct gagccagcct240 cgtagtctc cccagatctt gatttctta gagagtgagg aaagagggga gctagagaga300 atcctagcag atcttgagga agaaaacagg aatctgcaag cagaatatga ccgtctaaag360 cagcagcagc aacataaagg cctgtccca ctgccgtccc ctctgaaat gatgccacc420 tctcccaga gtccccggga tctgagctc attgctgagg ccaagctact gctcaaac480 aaagggccc tggagccag gatgcaaat ctggaagacc acaataaca gctggagtca540 cagttacaca ggctaaggca gctgctggag caaccccagg cagaggcca agtgaatggc600 acaacgggtg cctctcttc tacctctca cagaggtccg acagcagta gcctatgctg660 ctcagtggtg ttggcagta aactcggac tccatgggtg aggaagatct tctcagct720 ccccaggaca caagcacagg gtagaggag gtgatggagc aactcaaca ctcttcct780 agtcaagag gaagaatac ccctggaag ccaatgagag aggacacaat gtag</p>

Настоящее изобретение относится к полипептиду миниатюризованного дистрофина, который меньше, чем полноразмерный белок дистрофина, т.е. изоформа Dp427m, и который не идентичен встречающимся в природе изоформам белка дистрофина, или к молекуле нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид миниатюризованного дистрофина. Когда настоящее описание раскрывает полипептиды миниатюризованного дистрофина, настоящее описание также раскрывает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую соответствующий раскрытый полипептид миниатюризованного дистрофина, и наоборот. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина, является подходящей для генной терапии. Соответственно, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина, сконструирована не только для того, чтобы соответствовать вектору генной терапии, например, вектору AAV, или быть подходящей для рекомбинантной экспрессии, но также для снижения любого нежелательного иммунного ответа (например, гуморального иммунного ответа и/или клеточного иммунного ответа, например, CD4 и/или CD8), направленного против полипептида миниатюризованного дистрофина при введении или экспрессии *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина по настоящему изобретению содержит, от N-конца к C-концу, шарнирный 1 (H1) домен, домен спектринового повтора 1 (R1), домен спектринового повтора 3 (R3), шарнирный 2 (H2) домен, домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина не содержит домена спектринового повтора 2 (R2) дистрофина. В других вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина не содержит домен спектринового повтора 2 (R2) и (1) домен спектринового повтора 4 (R4), (2) домен спектринового повтора 5 (R5), (3) домен спектринового повтора 6 (R6), (4) домен спектринового повтора 7 (R7), (5) домен спектринового повтора 8 (R8), (6) домен спектринового повтора 9 (R9), (7) домен спектринового повтора 10 (R10), (8) домен спектринового повтора 11 (R11), (9) домен спектринового повтора 12 (R12), (10) домен спектринового повтора 13 (R13), (11) домен спектринового повтора 14 (R14), (12) домен спектринового повтора 15 (R15), (13) домен спектринового повтора 18 (R18), (14) домен спектринового повтора 19 (R19), (15) домен спектринового повтора 20 (R20), (16) домен спектринового повтора 21 (R21), (17) домен спектринового повтора 22 (R22) или (18) домен спектринового повтора 23 (R23), или (19) любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина не содержит домен спектринового повтора 2 (R2), домен спектринового повтора 4 (R4), домен спектринового повтора 5 (R5), домен спектринового повтора 6 (R6), домен спектринового повтора 7 (R7), домен спектринового повтора 8 (R8), домен спектринового повтора 9 (R9), домен спектринового повтора 10 (R10), домен спектринового повтора 11 (R11), домен спектринового повтора 12 (R12), домен спектринового повтора 13 (R13), домен спектринового повтора 14 (R14), домен спектринового повтора 15 (R15), домен спектринового повтора 18 (R18), домен спектринового повтора 19 (R19), домен спектринового повтора 20 (R20), домен спектринового повтора 21 (R21), домен спектринового повтора 22 (R22) и домен спектринового повтора 23 (R23).

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина согласно настоящему изобретению содержит, от N-конца до C-конца, шарнирный 1 (H1) домен, домен спектрино-

R17 и R24 слиты непосредственно, и (v) домены R24 и H4 слиты непосредственно. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина, применимый для настоящего изобретения, дополнительно содержит домен ABD1 (необязательно на N-конце) и/или домен CR (необязательно на N-конце). В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина состоит по существу из или состоит из, от N-конца до C-конца, домена ABD1, домена H1, домена R1, аминокислот RV, домена R3, домена H2, аминокислотной последовательности, как указано в SEQ ID NO: 74-75 в комбинации, домена R16, домена R17, домена R24, домена H4, домена CR дистрофина. Каждый домен в полипептидах миниатюризованного дистрофина может иметь одно или несколько изменений по сравнению с соответствующим доменом дикого типа.

Например, миниатюризованный дистрофин ВХА-196477 состоит из следующих белковых доменов по порядку.

Таблица 5

Аминокислотная последовательность и доменная структура полипептида миниатюризованного дистрофина ВХА-196477

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
68	ABD1	MLWWEVEEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIEN LFSDLQDGRRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNK ALRVLQNNNVDLVNIGSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQV KNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINFT TSWSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQOSATQRLEHAF NIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPDKKILMYITSLFQVLPQQ VSIEAIQEVE
69	Шарнир 1	MLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQGYERTSSP KPRFKSYAYTQAAYVTTSDPTRSPFSPQHLEAPEDKSFSSS MES
70	Спектрин-1	EVNLDTRYQTALIEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKD QFHTHEGYMMDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLSDEE TEVQEQMNLNLSRWECLRVASMEKQSNLH
71	L1 (RV-линкер)	RV
72	Спектрин-3	LLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQNEML SSLQKLAVLKADLEKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVT QKTEAWLDNFARCWDLNVQKLEKSTAQISQA
73	Шарнир 2	VTTTQPSTQTVMETVTTVTREQILVKHAQEELPPPPQK KRQITVD
74	L2 (линкер SEAQ)	SEAQ
75	L3 (20-мерный линкер)	IHTVREETMMVMTEDMPLI
76	Спектрин-16	SYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLFKQ EESLKNIKDSLQSSGRIDIIHKKTAALQSATPVERVKLQE ALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRS
77	Спектрин-17	VEKWRRFHYDIKIFNQLWTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYK WYLKELQDGIGRQRTVVRTLNATGEEIIQQSSKTDASILQE KLGSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQ
78	Спектрин-24	LERLQELQEATDELDLKLRAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQD HLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNL STLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHE
79	Шарнир 4	AHRDFGPASQHFLLSTSVQGPWERAISPKNVPYINHETQTT CWDHPKMTLEYQSLADLNNVRFSAYRTAMKL
80	CR	RRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQPMQDILQINC LTTIYDRLEQEHNNLVNPLCVDMLNLLNVDYDTRTG RIRVLSFKTGIISLCKAHLEDKRYLQVAVSSTGFCQRRRL GLLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSQFANNKPEIE AALFLDWMRLEPQSMVWLPVLRVAAAETAQHAKCNIC KECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMV EYCTPTTSGEDVRDFAKVLKKNKFRYFAKHPRMGYLPV QTVLEGDNMETDTM

В некоторых вариантах осуществления домен H1 в полипептиде миниатюризованного дистрофина представляет собой аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей

Аминокислотная последовательность и доменная структура полипептида миниатюризованного дистрофина ВХА-027743

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
81	ABD1	MLWWEVEEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIE LFSDLQDGRRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVVK ALRVLQNNNVDLVNI GSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQ VKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINF TTSWSDGLALNALIHSRPLDFDWN SVVCQQSATQRLEHA FNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPDKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVE
82	Шарнир 1	MLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQGYERTSSP KPRFKSYAYTQAA YVTTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSS MES
83	Спектрин-1	EVNLD RYQTAL EEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKD QFH THEGYMMDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLS EDEE TEVQE QMNLLNSRWECLRVASMEKQSNLH
84	L1	IHTVREETMMVMTE DMPL E I
85	Спектрин-16	SYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQ EESLKNIKDSLQSSGRIDIIHKKTAALQSA TPVERVKLQE ALSQ LDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRS
86	Спектрин-17	VEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYK WYLKELQDGIGQRQT VVRTLNATGEEIIQSSKTDASILQE KLGSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEE Q
87	Шарнир 3	APGLTTIGASPTQT VTLVTQP VVTKETAI SKLEMPSSML E
88	Спектрин-23	SDQWKRLHLSLQELLVWLQLKDD ELSRQAPIGGDFPAVQK QNDVHRAFKRELKTK EPVIMSTLETVRIFL TEQPLEGLEKL YQEPREL PPEERAQNVTRLLRKAEEVNTEWEKLNLHSAD WQRKIDET
89	Спектрин-24	LERLQELQEATDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQD HLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNL STLEDLNTRWKL LQVAVEDRVRQLHE
90	Шарнир 4	AHRDFGPASQHF LSTSVQGPWERAISP NKVPYYINHETQTT CWDHPKMT ELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKL
91	CR/C-конец	RRLQKALCLD LLSLSAACD ALDQHNLKQNDQPM DILQIINC LTTIYDRLEQE HNNLVN VPLCVDMCLN WLLNVYDTGRTG RIRVLSFKTGIISLCKAHLEDKYRYL FKQV ASSTGFCDQRRL GLLLHDSIQIPRQLGEVASF GGSNI EP SVRSCFQFANNKPEIE AALFLDWMRLEPQSMVWLPVLHRVAAAETA KHQAKCNIC KECP IIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHPMV EYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFR TKRYFAKHPRMGYLPV QTVLEGDN METPAQILISLESEER GELERILADLEENRNLQ AEYDR LKQ QHEHKGLSPLSP PPTM

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий домен спектринового повтора 1 (R1) и домен спектринового повтора 16 (R16), где домен R1 и домен R16 слиты посредством линкера, содержащего аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 84 (IHTVREETMMVMTE DMPL E I). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий, от N-конца к C-концу, шарнирный 1 (H1) домен, домен спектринового повтора 1 (R1), домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), шарнирный 3 (H3) домен, домен спектринового повтора 23 (R23), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина, где домен R1 и домен R16 слиты посредством аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 84 (IHTVREETMMVMTE DMPL E I). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий домен спектринового повтора 1 (R1) и домен спектринового повтора 16 (R16), где домен R1 и домен R16 слиты посредством линкера, содержащего аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 84 (IHTVREETMMVMTE DMPL E I). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обеспечивается молекула нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина, содержащий от N-конца до C-конца шарнирный 1 (H1) домен, домен спектринового повтора 1 (R1), домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), шарнирный 3 (H3) домен, домен спектринового повтора 23 (R23), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина, где домен R1 и домен R16 сли-

В некоторых вариантах осуществления домен Н4, применимый для полипептида миниатюризованного дистрофина, содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 90.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина дополнительно содержит на N-конце аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 81. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина дополнительно содержит на C-конце аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 91.

В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая каждый домен, может быть следующей.

Таблица 6А

Нуклеотидная последовательность (и структура доменов), кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина ВХА-196477

SEQ ID NO:	Описание	Нуклеотидная последовательность
92	5' UTR	CCGCCTTCGGCACCATTCTCACGACACCCAAATATGGCACG GGTGAGGAATGGTGGGGAGTTATTTTAGAGCGGTGAGGAAGG TGGGCAGGCAGCAGGTGTTGGCGCTCTAAAAATAACTCCCGG GAGTTATTTTAGAGCGGAGGAATGGTGGACACCCAAATAGGC GACGGTTCCTCACCCGTCGCCATATTTGGGTGTCCGCCCTCGG CCGGGGCCGCATTCCTGGGGCCGGGCGGTGCTCCCGCCCGCC TCGATAAAAGGCTCCGGGGCCGGCGGGCCGCCACGAGCTACC CGGAGGAGCGGGAGGCTCTAGACCACC
93	ABD1	ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAG GACGTGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAG TTCAGCAAGTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTACGC GACCTGCAGGACGGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGC CTGACCGGCCAGAAGCTGCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAG AGTGCACGCCCTGAACAACGTGAACAAGGCCCTGCGGGTGT GCAGAACAACAACGTGGACCTGGTGAACATCGGCAGCACCGA CATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCTGGGCCTGATCG GAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTGATGAAGAA CATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGATCCT GCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCAAGT CAACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGC CCTGAACGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTTCA CTGGAACAGCGTGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGGT GGAACACGCCTTCAATATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGA GAAGCTGCTGGATCCCGAGGACGTGGACACCACCTACCCCGA CAAGAAATCCATCCTGATGTATATCACCAGCCTGTTCCAGGTG CTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCATCCAGGAAGTGGAA
94	Шарнир 1	ATGCTGCCCAGACCCCAAGTGACCAAAGAGGAACACTTC CAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATCACCGTG TCCCTGGCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGCCC CGGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCCGCCTACGTGACC ACCAGCGACCCCTACCAGAAGCCCATTCACCCAGCCAGCATGTG GAAGCCCCCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAA AGC
95	Спектрин-1	GAAGTGAACCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTG CTGAGCTGGCTGCTGAGCGCCGAGGATACTGCAGGCTCAG GGCGAGATCAGCAACGACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTC CACACCCACGAGGGCTACATGATGGACCTGACAGCCACCAG GGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAGCTGGGCTCCAAGCTGATC GGCACCGCAAGCTGAGCGAGGACGAAGAGACAGAGGTGCA

		GGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGGAGTGCCTGCC GGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCAT
96	L1 (RV- линкер)	AGGGTC
97	Спектрин-3	CTGCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTT AGCGCCTGGCTGTCCGAGAAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATC CACACCACCGGCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGC CTGCAGAAACTGGCCGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAA AAGCAGTCCATGGGCAAGCTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTG CTGTCCACCCTGAAGAACAAGAGCGTGACCCAGAAAACCGAG GCCTGGCTGGACAACCTTCGCCCCGGTGCTGGGACAACCTGGTG CAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCCAGATCTCCCAGGCC
98	Шарнир 2	GTGACCACAACACAGCCCAGCCTGACCCAGACCACCGTGATG GAAACCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGTG AAGCACGCCCAGGAAGAAGTCCCCCTCCACCCCCCAGAAG AAACGGCAGATCACAGTGGAC
99	L2 (линкер SEAQ)	AGTGAAGCTCAG
100	L3 (20- мерный линкер)	ATCCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTCATGACAGAG GACATGCCCCTGGAAATC
101	Спектрин- 16	AGCTACGTGCCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTG TCCCAGGCCCTGCTGGAAGTGAACAGCTGCTGAACGCCCC GACCTGTGCGCCAAGGATTCGAGGACCTGTTCAAGCAGGAA GAGAGCCTGAAGAATATCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAG CGGCCGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAAACAGCCGCCCT GCAGAGCGCCACCCCCGTGGAAGAGTGAAGTGCAGGAAG CCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAAA TGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTTCGACCGCAGC
102	Спектрин- 17	GTGGA AAAAGTGGCGGCGTTTCCACTACGACATCAAGATCTTC AACCAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTCTGAGAAAAGACC CAGATCCCCGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTAT CTGAAAGAGCTGCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGT CGTGCGGACCCTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCA GTCCAGCAAGACCGACGCCAGCATTCTGCAGGAAAAGCTGGG CAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGTC CGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAG
103	Спектрин- 24	CTGGAACGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTG GACCTGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTG GCAGCCAGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCA TCTGGA AAAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCT GAAAGAAAACGTGTCCCACGTGAACGACCTGGCCCGGCAGCT GACAACACTGGGCATTCAGCTGAGCCCCATAACCTGAGCAC ACTGGAAGATCTGAACACCCGGTGAAGCTGCTGCAGGTGGC CGTGAAGATAGAGTGCAGGACGCTGCACGAG
104	Шарнир 4	GCCACAGAGATTTTGGCCCTGCCTCCAGCACTTCTGAGCA CCAGTGTGCAGGGCCCTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAACA AGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGAC TGAAGTGGGACCAACCAAGCTGACCGACGACCTGACCACCT

		CAGCTGACCGACGACGACGACCTGACGACGACGACGACGAC GACGACGACGACGAC
105	CR/C-конец	CGGAGACTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGT CCGCCGCCTGTGATGCCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAGA ACGACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGA CCACCATCTACGACCGGCTGGAACAGGAACACAACAATCTCG TGAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGCT GAATGTGTACGACACCGGCCGGACAGGCCGGATCAGAGTGCT GTCCTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAAGCCCACCT GGAAGATAAGTACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCTCTAG CACCGGCTTTTGCACCAGAGAAGGCTGGGCCTGCTGTGCA CGACAGCATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAG CTTTGGCGGCAGAACATCGAGCCTAGCGTGCAGGAGCTGCTT CCAGTTCGCCAACACAAGCCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGTT CCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCCAGAGCATGGTGTGGCT GCCCGTGCTGCATAGAGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCA CCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCCATCATCGG CTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGC CAGAGCTGTTTCTTCAGCGGCAGGGTGGCCAAGGGCCACAAA ATGCACTACCCCATGGTGAATACTGCACCCCAACACAAGC GGCGAGGATGTGCGGGATTTCCGCCAAGGTGCTGAAAAACAAG TTCCGGACCAAGCGGTACTTCGCCAACACCCCGGATGGGC TACCTGCCTGTGCAGACAGTGCTGGAAGGCGACAACATGGAA ACCGACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTC CTTAGTATCAGTCAATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAAT GTTTTACAACCTCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATA CCGTCAAATAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTT GGTTTTTGTGTG

В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен H1 в полипептиде миниатюризованного дистрофина, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен R1, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен R3, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен H2, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен R16, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен R17, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен R24, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по

меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен H4, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая домен ABD1 в полипептиде миниатюризованного дистрофина, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая CR/С-концевой полипептид, представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 105.

Таблица 6В

Нуклеотидная последовательность (и структура доменов), кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина ВХА-027743

SEQ ID NO:	Описание	Нуклеотидная последовательность
106	5' UTR	CCTGCGGCCGCCTTCGGCACCATTCCTCACGACACCCAAATAT GGCGACGGGTGAGGAATGGTGGGGAGTTATTTTTAGAGCGGT GAGGAAGGTGGGCAGGCAGCAGGTGTTGGCGCTCTAAAAATA ACTCCCGGGAGTTATTTTTAGAGCGGAGGAATGGTGGACACC CAAATATGGCGACGGTTCCTCACCCGTCGCCATATTTGGGTGT CCGCCCTCGGCCGGGGCCGATTCCTGGGGGCCGGCGGGTGC TCCCCGCCCGCTCGATAAAAGGCTCCGGGGCCGGCGGGGCC CACGAGCTACCCGGAGGAGCGGGAGGCTCTAGACCACC
107	ABD1	ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAGATTGCTACGAGCGCGAG GACGTGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAG TTCAGCAAGTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTCAGC GACCTGCAGGACGGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGC CTGACCGGCCAGAAGCTGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCCAG AGTGACAGCCCTGAACAACGTGAACAAGGCCCTGCGGGTGCT GCAGAACAACAACGTGGACCTGGTGAACATCGGCAGCACCG ACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCCTGGGCCTGATCT GGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTGATGAAGA

		ACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGATCC TGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCCAGG TCAACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGG CCCTGAACGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTCCG ACTGGAACAGCGTGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGC TGGAACACGCCTTCAATATCGCCAGATAACAGCTGGGCATCG AGAAGCTGCTGGATCCCAGGACGTGGACACCACCTACCCCG ACAAGAAATCCATCTGATGTATATCACCAGCTGTTCCAGGT GCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCATCCAGGAAGTGGA A
108	Шарнир 1	ATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGAGGAACACTTC CAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATCACCGTG TCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCCAAGCCC CGGTCAAGAGCTACGCCTACACCCAGGCCGCCTACGTGACC ACCAGCGACCCACCAGAAGCCATTCCCAGCCAGCATCTG GAAGCCCCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGA AAGC
108	Спектрин -1	GAAGTGAACCTGGACAGATAACAGACCGCCCTGGAAGAGGT GCTGTCCTGGCTGCTGAGCGCCGAGGATACTGCAGGCCCA GGGCGAGATCAGCAACGACGTGGAAGTGGTGAAGACCAGT TCCACACCCACGAGGGCTACATGATGGACCTGACCGCCACC AGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAGCTGGGCAGCAAGCTG ATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAGAGACAGAGGT GCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGGAGTGCC GCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCAC
110	L1	ATCCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTGATGACCGAG GACATGCCCTGGAAATC
111	Спектрин -16	AGCTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCACGTG TCCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTGAACGCCCC GACCTGTGCGCCAAGGACTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAA GAGAGCCTGAAGAATATCAAGGACTCCCTGCAGCAGTCCAGC GGCCGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTG CAGTCCGCCACCCCGTGGAAAGAGTGAAGCTGCAGGAAGCC CTGAGCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAGATG TACAAGGACCGGCAGGGCAGATTGACCGCAGC
112	Спектрин -17	GTGGAAGAGTGGCGGGTTCCTACTACGACATCAAGATCTTC AACCAGTGGCTGACCGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAGACC CAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTAT CTGAAAGAAGTGCAGGATGGCATCGGCCAGCGGCAGACCGTG GTGCGCACTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAG AGCAGCAAGACCGACGCCAGCATCCTGCAGGAAAAGCTGGG CTCCCTGAACCTGCGGTGGCAGGAAAGTGTGCAAGCAGCTGAG CGACCGGAAGAAGAGGCTGGAAGAAGCAG

113	Шарнир 3	GCCCTGGCCTGACCACCATCGGGGCCAGCCCTACCCAGACC GTGACCCTGGTGACACAGCCCCTGGTGACAAAAGAGACAGCC ATCTCCAAGCTGGAATGCCAGCTCCCTGATGCTGGAA
114	Спектрин -23	TCTGACCAGTGGAAGCGTCTGCACCTTTCTCTGCAGGAACTTC TGGTGTGGCTACAGCTGAAAGATGATGAATTAAGCCGGCAGG CACCTATTGGAGGCGACTTTCCAGCAGTTCAGAAGCAGAACG ATGTACATAGGGCCTTCAAGAGGGAATTGAAAACATAAAGAAC CTGTAATCATGAGTACTCTTGAGACTGTACGAATATTTCTGAC AGAGCAGCCTTTGGAAGGACTAGAGAACTCTACCAGGAGCC CAGAGAGCTGCCTCCTGAGGAGAGAGCCCAGAATGTCACTCG GCTTCTACGAAAGCAGGCTGAGGAGGTCAATACTGAGTGGGA AAAATTGAACTGCACTCCGCTGACTGGCAGAGAAAATAGA TGAGACC
115	Спектрин -24	CTGGAAGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAGCT GGACCTGAAGCTGCGGCAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCT GGCAGCCCCTGGGCGACCTGCTGATCGACAGCCTGCAGGACC ACCTGGA AAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCC TGAAAGAAAACGTGTCCACGTGAACGACCTGGCCCCGACG TGACCACCCTGGGCATCCAGCTGAGCCCTACAACCTGAGCA CCCTGGAAGATCTGAACACCCGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGG CCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACGAG
116	Шарнир 4	GCCACAGAGACTTTGGCCCTGCCAGCCAGCACTTCTTGAGC ACCTCTGTGCAGGGACCCTGGGAGAGAGCCATCAGCCCCAAC AAGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGT GATGGTGACCACCCAGCTACGACCGACGACCACCCAGCTG ACGACCGACGACCACCCAGCTGACGACCGAC
117	CR/C- конец	AGGCGGCTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGCCTG AGCGCCGCTGCGACGCCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAG AACGACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTG ACCACAATCTACGACAGGCTGGAACAGGAACACAACAATCTG GTCAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGC TGAATGTGTACGACACCGGCCGACCGGCAGAATCCGGGTGC TGAGCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAGGCCACC TGGAAGATAAGTACCGCTACCTGTTCAAACAGGTGGCCAGCT CCACCGGCTTTTGCAGCCAGCGGAGACTGGGCCTGCTGCTGC ACGACAGCATCCAGATCCCCAGACAGCTGGGCGAGGTGGCCT CCTTCGGCGGCAGCAACATTGAGCCCAGCGTGCAGGAGCTGT TCCAGTTCGCCAACAAACAGCCGAGATCGAGGCCGCCCTGT TCCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGC TGCCCGTGTGCATCGGGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGC ACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCCATCATCG GCTTCCGTTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCT GCCAGAGCTGCTTCTCAGCGGCAGAGTGCCCAAGGGCCACA AAATGCACTACCCATGGTGGAATACTGCACCCACCACCA GCGGCGAGGATGTGCGGACTTCGCCAAGGTGCTGAAAAACA AGTTCCGACCAAGCGGTACTTTGCCAAGCACCCCGGATGG GCTACCTGCCCGTGCAGACAGTGCTGGAAGGCGACAACATGG
		AAACCCCTGCCAGATCCTGATCAGCCTGGAAAGCGAGGAAC GGGGCGAGCTGGAACGGATCCTGGCCGATCTGGAAGAGGAA AACCGAACCTGCAGGCCGAGTACGACCGGCTGAAGCAGCA GCACGAGACAAGGGCCTGAGCCCCCTGCCTAGCCCCCTGA CACCATGTGA

Различные полипептиды миниатюризованного дистрофина по настоящему изобретению показаны в табл. 7.

Таблица 7

Аминокислотные последовательности миниатюризованных конструкций дистрофина

SEQ NO описание	ID и	Последовательность
SEQ NO:118 BXA- 196477	-	MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIE NFLSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHYSQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAAAYVTTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLSSEDEETEVEQEQMNLNSRWECLR VASMEKQSNLHRVLLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKD QNEMLSSLQKLA VLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTK TEAWLDNFARCDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTT VTTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDSEAQIHTVREETMMVMTE MPLEISYVPSTYLTEITHVSQLLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQESL KNIKDSLQSSGRIDIHSSKKAALQSATPVERVKLQEALSQDLDFQWEK VNKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPEN WEHAKYK WYLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQSSKTDASILQE KLGSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDEL DLKLRQAE VIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLT TLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQH FLSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADLN NVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLLSLSAACDALDQHNLKQNDQPM ILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNPLCVDMCLNWLLNVYDTGRTGRIR VLSFKTGII SLCAHLEDKYRYLKFQVASSTGFCDQRRLLGLLHDSIQIP RQLGEVASFGGSNI EPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVW LPVLHRVAAAETA KHQAKCNICKECPIIFRYSLSLKHFN YDICQSCFFSG RVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFR TKRYFAKHPR MGYLPVQTVLEGDNMETDTM
SEQ NO:119	-	MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIE NFLSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPKKSILMYITSLFQVLPQ

<p>BXA- 196473</p>	<p>QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSESVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHLLKWRQLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQ NEMLSSLQKLAVLKADLEKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKT EAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTV TTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDIHTVREETMMVMTEMDPMEIS YVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLQKQEEESLKNIKDS LQQSSGRIDIHSSKTAALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKVNKMY KDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAK YKWYLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQQSSKTDASILQEKLGSLN LRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDEL DLKLRQAEVIKGSW QPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQL SPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHF LSTSV QGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCCWDHPKMTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINC LTTIYDRLEQEHNNLVNVPLC VDMCLNWLLNVYDTGRTGRIRVLSFKT GIISLCKAHLEDKYRYLQV ASSTGFCQRRLLG LLLHDSIQIPRQGEV ASFGGSNIEPSVRSFCFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPVLHR VAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKG HKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTKRYFAKHPRMGYLP VQTVLEGDNMETDTM</p>
<p>SEQ ID NO:120 - BXA- 196474</p>	<p>MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHINLFSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVLDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRHPDLFDWNSVVCQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPDKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSESVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHLLKWRQLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQ NEMLSSLQKLAVLKADLEKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKT EAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTV TTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDSEAQIHTVREETMMVMTEDM PLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLQKQEEESL NIKDSLQQSSGRIDIHSSKTAALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKV NKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENW EHAKYKWYLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQQSSKTDASILQEKL GSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQKNILQELQEATDEL DLKLRQAEVI KGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTT LGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHF LSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCCWDHPKMTELYQSLADLNN VRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQPM DI LQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLC VDMCLNWLLNVYDTGRTGRIRV LSFKTGIISLCKAHLEDKYRYLQV ASSTGFCQRRLLG LLLHDSIQIPR QLGEVASFGGSNIEPSVRSFCFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLP PVLHRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGR VAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTKRYFAKHPR MGYLPVQTVLEGDNMETTPCDDDLGRAMESLVSVMTEDEEGAE</p>

SEQ ID NO:121 - BXA- 196475	MLWWEVEDCYEREDVQKKFTTKWVNAQFSKFGKQHIEENLFSDLQDG RRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNAKALRVLQNNVNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRHPDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQGYERTS SPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHLLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQ NEMLSSLQKLAVLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKT EAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTV TTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDSEAQIHTVREETMMVMTEDM PLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLQKQESLK NIKDSLQSSGRIDIIHSSKTAALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKV NKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHVDIKIFNQWLTEAEQFLRKTIQIPENW EHAKYKWLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQSSKTDASILQEKL GSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDELDELKLRQAEV IKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLT LGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHF LSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADLNN VRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLLSLSAACDALDQHNLKQNDQPMDI LQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLCVDMCLNWLLNVYDTGRTGRIRV LSFKTGHSLSCKAHLEDKYRYLFKQVASSTGFCQRRLLGLLHDSIQIPR QLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWL PVLHRVAAAETAHKHQAACNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGR VAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKKNKFRTKRYFAKHPR MGYLPVQTVLEGDNMETDTM
SEQ ID NO:122 - BXA- 196476	MLWWEVEDCYEREDVQKKFTTKWVNAQFSKFGKQHIEENLFSDLQDG RRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNAKALRVLQNNVNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRHPDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQGYERTS SPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHLLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQ NEMLSSLQKLAVLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKT EAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTV TTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDSEAQIHTVREETMMVMTEDM PLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLQKQESLK NIKDSLQSSGRIDIIHSSKTAALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKV NKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHVDIKIFNQWLTEAEQFLRKTIQIPENW EHAKYKWLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQSSKTDASILQEKL GSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLNLERLQELQEATDELDELKLRQA EVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQL TTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQ HFLSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADL NNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLLSLSAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLCVDMCLNWLLNVYDTGRTGRI

	RVLSFKTGIISLCKAHLEDKYRYLQVASTGFCDQRRLLGLLLHDSIQI PRLGGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMV WLPVLRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFS GRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTRKRYFAKHP RMGYLPVQTVLEGDNMETDTM
SEQ ID NO:123 - BXA- 196477-Q	MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIEANLFSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNVDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQQGYERTS SPKPRFKSYAYTQAAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSESVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHRVLLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKD QNEMLSSLQKLAVLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQK TEAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTT VTTREQILVKHAQEELPPPPQKQRQITVDSEAQIHTVREETMMVMTE MPLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQEE SLKNIKDSLQSSGRIDIIHKKTAALQSATPVERVKLQEALSQDLDFQWEK VNKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPEN WEHAKYKWLKELQDGIGQRQTVVRLNATGEEIIQQSSKTDASILQE KLGSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDELCLKLRQAE VIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLT TLGIQLSPYNLSTLEDLNRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQH FLSTSVOGPWERAIKPNKVPYINHETQTTWHPKMTELYQSLADLN NVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQPM ILQINCLTTIYDRLEQEHNNLVNPLCVDMCLNWLNNVYDTGRTGRIR VLSFKTGIISLCKAHLEDKYRYLQVASTGFCDQRRLLGLLLHDSIQIP RQLGGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMV WLPVLRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFS GRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTRKRYFAKHP RMGYLPVQTVLEGDNMETDTM
SEQ ID NO:124 - BXA- 196478	MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIEANLFSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNVDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQQGYERTS SPKPRFKSYAYTQAAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSESVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHRVLLQDILLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHT TGFKDQNEMLSSLQKLAVLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNK SVTQKTEAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVM ETVTTVTTREQILVKHAQEELPPPPQKQRQITVDSEAQIHTVREETMM VMTEMPLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLF KQEE SLKNIKDSLQSSGRIDIIHKKTAALQSATPVERVKLQEALSQDLDFQWEK VNKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPEN WEHAKYKWLKELQDGIGQRQTVVRLNATGEEIIQQSSKTDASILQE KLGSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDELCLKLRQAE VIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLT TLGIQLSPYNLSTLEDLNRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQH FLSTSVOGPWERAIKPNKVPYINHETQTTWHPKMTELYQSLADLN NVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQPM ILQINCLTTIYDRLEQEHNNLVNPLCVDMCLNWLNNVYDTGRTGRIR VLSFKTGIISLCKAHLEDKYRYLQVASTGFCDQRRLLGLLLHDSIQIP RQLGGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMV WLPVLRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFS GRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTRKRYFAKHP RMGYLPVQTVLEGDNMETDTM

	<p>KLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCCWDHPKMTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLLSLSAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHN NLVNVPLCVDMCLNWLNVYDTGRTGRIRVLSFKTGIISLCKAHLEDK YRYL FKQVASSTGFCDQRRLG LLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPVLRVAAAETA KHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGR VAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKKNKFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETDTM</p>
<p>SEQ ID NO:125 - BXA- 196479</p>	<p>MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQH IENLFSDLQDGRRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVDLVNIGSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLM ESEVNLDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFH THEGYMMDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGK LSEDEETEVEQEMNLLNSRWECLRVASMEKQSNLHLLK WQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQ NEMLSSLQKLA VLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKT EAWLDNFARCWDNLVQKLEKST AQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTV TTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDSEAQIHTVREETMMVMTE DM PLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIHSSKTAALQSA TPVERVKLQEALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWR RFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYK WYLKELQDGIGQRQTVR TLNATGEEIIQQSSKTDASILQEKL GSNLNRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCCWDHPKMTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLLSLSAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHN NLVNVPLCVDMCLNWLNVYDTGRTGRIRVLSFKTGIISLCKAHLEDK YRYL FKQVASSTGFCDQRRLG LLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPVLRVAAAETA KHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGR VAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKKNKFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETDTM</p>
<p>SEQ ID NO:126 - BXA- 196480</p>	<p>MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQH IENLFSDLQDGRRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVDLVNIGSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLM ESEVNLDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFH THEGYMMDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGK LSEDEETEVEQEMNLLNSRWECLRVASMEKQSNLHIHTVREETMMVMTE DM PLEISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIHSSKTAALQSA TPVERVKLQEALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWR RFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYK WYLKELQDGIGQR</p>

	<p>QTVVRTLNATGEEIIQSSKTDASILQEKLGSNLNRWQEVCKQLSDRKK RLEEQAPGLTTIGASPTQTVTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSLMLELERL QELQEATDELDELKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEI APLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNRWKLQVAVED RVRQLHEAHRDFGPASQHFLLSTSVOGPWERAISPKNVPYYINHETQTT WDHPKMTLEYQSLADLNNVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLSLSAA CDALDQHNLKQNDQPMDILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLCVDM CLNWLLNVYDTGRTGRIRVLSFKGTGIISLCKAHLEDKYRYLQVAST GFCDQRRGLLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIE AALFLDWMRLEPQSMVWLPVLRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFR YRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFA KVLKKNKFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETPAQILISLESEERG ELERILADLEEENRNLQAEYDRLLKQHEHKGLSPLSPDDTM</p>
<p>SEQ ID NO:127 - BXA- 196480- вариант</p>	<p>MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHINLFSDLQDG RRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQGYERTS SPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHRVLIHTVREETMMVMTEDMPLISYVPSTYLTEITHVS QALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIIHHSK KTAALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEK WRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYKWLKELQDGIG QRQTVVRTLNATGEEIIQSSKTDASILQEKLGSNLNRWQEVCKQLSDR KKRLEEQKNDLAPGLTTIGASPTQTVTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSL MLEVERLQELQEATDELDELKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEK VKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNRWKL LQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLLSTSVOGPWERAISPKNVPYYIN HETQTTCDWDHPKMTLEYQSLADLNNVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLD LLSLSAACDQALDQHNLKQNDQPMDILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNV PLCVDMCLNWLLNVYDTGRTGRIRVLSFKGTGIISLCKAHLEDKYRYLQV QVASTGFCDQRRGLLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFA NNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPVLRVAAAETAKHQAKCNICK ECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSG EDVRDFAKVLKKNKFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETPAQILI SLESEERGELERILADLEEENRNLQAEYDRLLKQHEHKGLSPLSPDDT M</p>
<p>SEQ ID NO:128 - BXA- 196481</p>	<p>MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHINLFSDLQDG RRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLFDWNSVVCQQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHSQQITVSLAQGYERTS SPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHVSYPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDL FKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIIHHSKTAALQSATPVERVKLQEALSQ</p>

	DFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLR KTQIPENWEHAKYKWLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQQSSKT DASILQEKLGSNLNRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLLEGLEKLYQEPRELPP EERAQNVTRLLRKQAEVNTWEKLNLSADWQRKIDETLERLQELQE ATDELDKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKE NVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLLQVAVEDRVRQL HEAHRDFGPASQHFLLSTSVOGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCDWHPK MTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLSL SAACDALD QHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHN NLVNVPLCVDMCLNWL LNVYDTGRTGRIRVLSFKTGIISLCKAHLEDKYRYL FKQVASSTGFCDQ RRLGLLLHDSIQIPRQLGEVASF GGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFL DWMRLEPQSMVWLPV LHRVAAAETA KHQAKCNICKECPIIGFRYRSLK HFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKN KFRTRKRYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETPAQILISLESEERGELERIL ADLEENRNLQAEYDRLKQQHEHKGLSPLSPDDTM
SEQ ID NO:129 - BXA- 027741	MLWWEVEEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQH IENLFSDLQDG RRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLDFDWN SVVCQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPDKK SILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAA YVTTS DPTRSPFPSQHLEAPEDK SFGSSLM ESEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGK LSEDEETE VQEQMNLNSRWECLR VASMEKQSNLHLLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQ NEMLSSLQKLA VLKADLEK KQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKT EAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTTVMETVTTV TTREQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDIHTVREETMMVMTE DMPL EIS YVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQEESLKNIKDS LQSSGRIDIIHSKKTAALQSA TPVERVKLQEALSQ LDFQWEKVNKMY KDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAK YKWLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQQSSKT DASILQEKLGSNL LRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDEL DKLRQAEVIKGSW QPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQL SPYNLSTLEDLNTRWKLLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLLSTS VQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLSL SAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINCL TTIYDRLEQEHN NLVNVPLCVDMCLNWL LNVYDTGRTGRIRVLSFKT GIISLCKAHLEDKYRYL FKQVASSTGFCDQRRLLGLLLHDSIQIPRQLGEV ASF GGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPV LHR VAAAETA KHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKG HKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTRKRYFAKHPRMGYLP VQTVLEGDNMETPAQILISLESEERGELERILADLEENRNLQAEYDRLK QQHEHKGLSPLSPDDTM
SEQ ID NO:130 - BXA- 027744	MLWWEVEEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQH IENLFSDLQDG RRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNDLVNIG STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLDFDWN SVVCQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPDKK SILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAA YVTTS DPTRSPFPSQHLEAPEDK SFGSSLM ESEVN

	<p>LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHIHTVREETMMVMTEDMPLAISYVPSTYLTEITHVSQAL LEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIIHSSKTA ALQSATPVERVKLQEAALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWR RFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYKWLKELQDGIGQR QTVVRTL NATGEEIIQSSKTDASILQEKLGSNLNRWQEVCKQLSDRKK RLEEQAPGLTTIGASPTQTVTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSLMLEVPAL ADFNRAWTELTDWLSLLDQVIKSQRVMVGDLEDINEMIIKQKATMQDL EQRRPQLEELITAAQNLKNKTSNQEARTIITDRIERIQNQWDEVQEHLQN RRQQLNEMLERLQELQEATDELDLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQ DHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLN TRWKLLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLSTSVQGPWERAI SPNK VPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQ KALCLDLLSLSAACDALDQHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEH NNLVNVPLCVDMCLNWLNVYDTGRTGRIRVLSFKTGII SLCKAHLED KYRYLFKQVASSTGFCDQRRLLG LLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSV RSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPV LHRVAAAETAKHQ AKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHPMVEY CTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNM ETPAQILISLESEERGERILADLEEENRNLQAEYDRLKQQHEHKGLSP LPSPPDTM</p>
<p>SEQ ID NO:131 - BXA- 027742</p>	<p>MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQH IENLFSDDLQDG RRLLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNVLDVNI STDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSW VRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRHPDLFDWNSVVCQS ATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTY PDKKSILMYITSLFQVLPQ QVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQM HYSQQITVSLAQQYERTS SPKPRFKSYAYTQAA YVTTSDPTRSPFP SQHLEAPEDKSFSSLMSEVN LDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMM DLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLESEDEETEVEQEMNLLNSRWECLR VASMEKQSNLHRV LMDLQNKELNDWLT KTEERTRKMEEPLGPD LEDLKRQVQHKVLQEDLEQEVRVNSLTHM VVVVDESSGDHATAAL EEQLKVLGDRWANICRWTEDRVLLQDILLK WQRLTEEQCLFSAWLS EKEDAVNKIHTTGFKDQNEMLSSLQKLA VLKADLEKKKQSMGKLYSL KQDLLSTLKNKSVTQKTEAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAIHT VREETMMVMTEDMPLAISYVPSTYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCA KDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIIHSSKTAALQSATPVERVKLQ EALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWR RFHYDIKIFNQWLTE AEQFLRKTQIPENWEHAKYKWLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEII QSSKTDASILQEKLGSNLNRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQE ATDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKE NVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLLQVAVEDRVRQL HEAHRDFGPASQHFLSTSVQGPWERAI SPNKVPYYINHETQTTCDWHPK MTELYQSLADLNNVRFSA YRTAMKLRRLQKALCLDLLSLSAACDALD QHNLKQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLCVDMCLNWL LVYDTGRTGRIRVLSFKTGII SLCKAHLEDKYRYLFKQVASSTGFCDQ RRLG LLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFL DWMRLEPQSMVWLPV LHRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLK HFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKN KFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETDTM</p>

SEQ ID NO:132 - BXA-027743	MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIEENLFSDLQDGRRLDLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNNDLVNIGSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRDLDFDWNVVCQQSATORLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYDPKKSILMYITSLFQVLPQQVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHYSQQITVSLAQQGYRTSPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEEVNLDRYQTALVEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMMDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLEDEETEVEQEMNLLNSRWECLRVASMEKQSNLHIHTVREETMMVMTEDEMPLEISYVPSTYLTEITHVVSQALLEVEQLLNAPDLC AKDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIIHKKTAALQSATPVERVKLQEAALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYKWLKELQDQIGQRQTVVRTL NATGEEIIQSSKTDASILQEKLGLSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQAPGLTTIGASPTQTVTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSLMLESDQWKRLHLSLQELLVWLQLKDDLSRQAPIGGDFPAVQKQNDVHRAFKR ELKTKEPVIMSTLETVRIFL TEQPLEGLEKLYQEPRELPEERAQNVTRLLRKQAEVNTWEKLNLSADWQRKIDETLERLQELQEA TDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPA SQHFLSTSVQGPWERAISPKNVPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADLNNVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQ PMDILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNPLCYDMCLNWLLNVYDTGRTGRIRVLSFKTGHSCLKAHLEDKYRYLQVAVASSTGFCDQRRLLGLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSFCQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWLPVLRVAAAETAKHQAKCNICKECPHGFYRSLKHFNYDICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKKNKFRTRKYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMETPAQILISLESEERGERILADLEEENRN LQAEYDRLKQQHENKGLSPLSPPTM
----------------------------	---

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 118-132, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична одной из последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 118 (BXA-196477), SEQ ID NO: 119 (BXA-196473), SEQ ID NO: 120 (BXA-196474), SEQ ID NO: 121 (BXA-196475), SEQ ID NO: 122 (BXA-196476), SEQ ID NO: 124 (BXA-196478) или SEQ ID NO: 125 (BXA-196479). В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 118, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 119, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 120, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере

аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В определенных вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 131, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В определенных вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 132, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, имеет формулу (I):

$$H1-R1-L1-R3-H2-L2-L3-R16-R17-R24-H4$$

(I)

где H1 представляет собой шарнирный 1 домен дистрофина; R1 представляет собой домен спектринного повтора 1 дистрофина; L1 представляет собой аминокислоты Arg-Val (RV); R3 представляет собой домен спектринного повтора 3; H2 представляет собой шарнирный 2 домен дистрофина; L2 представляет собой аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 74 (SEAQ); L3 представляет собой аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 75 (INTVREE TMMVMTEDEMP LEI); R16 представляет собой спектринный повтор 16 дистрофина; R17 представляет собой спектринный повтор 17 дистрофина; R24 представляет собой спектринный повтор 24 дистрофина; H4 представляет собой шарнирный 4 домен дистрофина; и (-) представляет собой пептидную связь.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, проявляет одно или несколько свойств, выбранных из группы, состоящей из (i) более низкой пролиферации CD4 по сравнению с BXA-027741, (ii) более низкой пролиферации CD8 по сравнению с BXA-027741, и (iv) любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, имеет формулу (II):

$$H1-R1-L-R16-R17-H3-R23-R24-H4$$

(II)

где: H1 представляет собой шарнирный 1 домен дистрофина; R1 представляет собой домен спектринного повтора 1 дистрофина; L представляет собой аминокислоты SEQ ID NO: 84 (INTVREETMMVMTEDEMPLEI); R16 представляет собой спектринный повтор 16 дистрофина; R17 представляет собой спектринный повтор 17 дистрофина; H3 представляет собой шарнирный 3 домен дистрофина; R23 представляет собой спектринный повтор 23 дистрофина; R24 представляет собой спектринный повтор 24 дистрофина; H4 представляет собой шарнирный 4 домен дистрофина; и (-) представляет собой пептидную связь.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 132. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность включает последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 147.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина демонстрирует более высокий уровень экспрессии полипептида миниатюризованного дистрофина, чем BXA-196481. В некоторых других вариантах осуществления уровень экспрессии полипептида миниатюризованного дистрофина по меньшей мере около в 1,5 раза, по меньшей мере около в 1,6 раза, по меньшей мере около в 1,7 раза, по меньшей мере около в 1,8 раза, по меньшей мере около в 1,9 раза, по меньшей мере около в 2 раза, по меньшей мере около в 2,1 раза, по меньшей мере около в 2,2 раза, по меньшей мере около в 2,3 раза, по меньшей мере около в 2,4 раза, по меньшей мере около в 2,5 раза, по меньшей мере около в 2,6 раза, по меньшей мере около в 2,7 раза, по меньшей мере около в 2,8 раза, по меньшей мере

мере около в 2,9 раза или по меньшей мере около в 3 раза выше, чем уровень экспрессии полипептида ВХА-196481.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды миниатюризированного дистрофина могут кодироваться нуклеотидными последовательностями. Некоторые примеры нуклеотидных последовательностей представлены в табл. 8.

Таблица 8

Нуклеотидные последовательности конструкций дистрофина

SEQ ID NO и описание	Последовательность
SEQ ID NO: 133 - ВХА- 196477	ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCCAGTTCAGCAA GTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTCTGCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCT TGGCCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCAAGGTC AACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAATGCTGCCAGACCCCAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCAAGC CCCGGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGAAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG

ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCACACCCACGAGGGCTACAT
 GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG
 CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG
 AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG
 AGTGCCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATAG
 GGTCTGCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTT
 AGCGCCTGGCTGTCCGAGAAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACA
 CCACCGGCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAA
 ACTGGCCGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAAGCAGTCCATG
 GGCAAGCTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGA
 ACAAGAGCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCTGGCTGGACAACCTTCGC
 CCCGTGCTGGGACAACCTGGTGCAGAAAGCTGGAAAAGTCCACCGC
 CAGATCTCCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCCAGCCTGACCCAGA
 CCACCGTGATGGAAACCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGAT
 CCTCGTGAAGCACGCCAGGAAGAACTGCCCCCTCCACCCCCCAG
 AAGAAACGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAGCTCAGATCCACCCG
 TGCGGGAAGAGACAATGATGGTCAATGACAGAGGACATGCCCCTGGA
 AATCAGCTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGT
 CCCAGGCCCTGCTGGAAGTGGAAACAGCTGCTGAACGCCCCCGAG
 GTGCGCCAAGGATTTTCAGGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTG
 AAGAATATCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGCGGCCGGATCGACA
 TCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCCGT
 GGAAAGAGTGAAACTGCAGGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTCCAG
 TGGGAGAAAAGTGAACAAAATGTACAAGGACCCGGCAGGGCAGATTG
 ACCGCAGCGTGGAAAAGTGGCGGCCGTTTCCACTACGACATCAAGAT
 CTCAACCAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTTCTGAGAAAGACC
 CAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGA
 AAGAGCTGCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGTCTGCGGAC
 CCTGAATGCCACCGGCAGGAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACC
 GACGCCAGCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGT
 GGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGA
 AGAACAGCTGGAACGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGA
 GCTGGACCTGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGG
 CAGCCAGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGA
 AAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAAC
 GTGTCCCACGTGAACGACCTGGCCCGCAGCTGACAACACTGGGCA
 TTCAGCTGAGCCCCTACAACCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACC
 CGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCAGGACG
 TGCACGAGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGCCTCCCAGCACTTCTG
 AGCACCAGTGTGCAGGGCCCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAACA
 AGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGA
 CCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAAC
 AACGTGCGGTTACAGCGCTACCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGAC
 TGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCCTGT
 GATGCCCTGGACCAGCACAATCTGAAGCAGAACGACCAGCCATGG
 ATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACCATCTACGACCGGCTG
 GAACAGGAACACAACAATCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGACA
 TGTGCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCCGGCCGACAGGC

	<p>CGGATCAGAGTGCTGTCCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAA AGCCACCTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTCAAACAGGTGGCCT CTAGCACCGGCTTTTGCAGCCAGAGAAGGCTGGGCCTGCTGCTGCAC GACAGCATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTG GCGGCAGCAACATCGAGCCTAGCGTGCGGAGCTGCTTCCAGTTCGCC AACAAACAAGCCCAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTGACTGGATGA GACTGGAACCCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCCGTGCTGCATAGAGT GGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCACATCTGC AAAGAGTGCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTT CAACTACGATATCTGCCAGAGCTGTTTCTTCAGCGGCAGGGTGGCCA AGGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGGAACTACTGCACCCCCAC CACAAGCGGCGAGGATGTGCGGGATTCGCCAAGGTGCTGAAAAAC AAGTTCGGACCAAGCGGTACTTCGCCAAACACCCCGGATGGGCT ACCTGCCTGTGCAGACAGTGCTGGAAGGCGACAACATGGAAACCGA CACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCA GTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCT GATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATACCGTCGAAATAAAAGATC CTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 134 - BXA- 196473</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGAAGATTGCTACGAGCGGAGGACG TGCAGAAGAAAACTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTACGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCCTGTTACGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGACCGCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCAAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA GGAACAATTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAGAGCAGAGCAACCTGCATCT GCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCCAGGAAACAGTGCCTGTTTAGCGCC</p>

TGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACCACCG
 GCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAAACTGGC
 CGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAGCAGTCCATGGGCAAG
 CTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGAACAAGA
 GCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCTGGCTGGACAACCTCGCCCCGGTG
 CTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCAGATC
 TCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCAGCCTGACCCAGACCACCG
 TGATGAAAACCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGT
 GAAGCACGCCAGGAAGAACTGCCCCCTCCACCCCCCAGAAGAAA
 CGGCAGATCACAGTGGACATCCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGA
 TGGTCATGACAGAGGACATGCCCCGTGAAATCAGCTACGTGCCAG
 CACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGTCCCAGGCCCTGCTGGAAG
 TGGAACAGCTGCTGAACGCCCCGACCTGTGCGCCAAGGATTTCTGA
 GGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATATCAAGGATAGC
 CTGCAGCAGAGCAGCGCCGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAA
 CAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCCGTGGAAGAGTGAAACTGCA
 GGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAAGTGAACAAA
 ATGTACAAGGACCCGGCAGGGCAGATTCGACCCGACCGTGGAAAAGT
 GCGGGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAACCAAGTGGCTGACA
 GAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAAGACCCAGATCCCCGAGAACTGGG
 AGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAGAGCTGCAGGACGGCAT
 CGGCCAGAGACAGACAGTCTGTGCGGACCCTGAATGCCACCGGCGAG
 GAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACCGACGCCAGCATTCTGCAGG
 AAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCA
 GCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAGCTGGAACGGCTG
 CAGGAAGTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACCTGAAACTGAGAC
 AGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCAGTGGGCGACCTGCT
 GATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGAAAAAGTGAAGGCCCTGAGA
 GCGGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCACGTGAACGACC
 TGGCCCGGCAGCTGACAACACTGGGCATTCAGCTGAGCCCCTACAA
 CCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACCCGGTGGAAAGCTGCTGCAG
 GTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACGAGGCCACAGAG
 ATTTTGGCCCTGCCTCCCAGCACTTCCTGAGCACCAAGTGTGCAGGGC
 CCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAACAAGGTGCCCTACTACATCAA
 CCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAG
 CTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAACAACGTGCGGTTACAGCGCTA
 CCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGACTGCAGAAAGCTCTGTGCCTG
 GATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCTGTGATGCCCTGGACCAGCACAA
 TCTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACT
 GCCTGACCACCATCTACGACCGGCTGGAACAGGAACACAACAATCT
 CGTGAACGTGCCCCGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGCTGA
 ATGTGTACGACACCGGCCGGACAGGCCGGATCAGAGTGTGTCTTTC
 AAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAAGCCCACCTGGAAGATAAGT
 ACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCTCTAGCACCGGCTTTTGGCAG
 CAGAGAAGGCTGGGCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCTA
 GACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTGGCGGCAGCAACATCGAGCC
 TAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAACAAGCCCCGAGATC
 GAGGCCGCCCTGTTCCCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCAGAGCA

	<p>TGGTGTGGCTGCCCGTCTGCATAGAGTGGCCGCTGCCGAGACAGCC AAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCCATCATCG GCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAG AGCTGTTTCTCAGCGGCAGGGTGGCCAAGGGCCACAAAATGCACT ACCCCATGGTGGAAATACTGCACCCCCACCACAAGCGGCAGGATGT GCGGGATTTGCCAAGGTGCTGAAAAACAAGTTCGGGACCAAGCGG TACTTCGCCAAACACCCCCGGATGGGCTACCTGCCTGTGCAGACAGT GCTGGAAGGCGACAACATGGAAACCGACACCATGTGATGATGATTT GGGCAGAGCGATGGAGTCCCTAGTATCAGTCATGACAGATGAAGAA GGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCTGATTCCCGCATGCGGCCAG CTTATCGATACCGTCGAAATAAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGT GTGTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 135 - BXA- 196474</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGTGCACCC TGGCCTGATCTGGAACATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGC CCCGGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATCT GCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTTAGCGCC TGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACCACCG GCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAAACTGGC CGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAGCAGTCCATGGGCAAG CTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGAACAAGA GCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCCTGGCTGGACAACCTTCGCCCCGGT CTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCCAGATC</p>

<p> TCCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCCAGCCTGACCCAGACCACCG TGATGGAAACCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGT GAAGCACGCCAGGAAGAAGTCCCCCTCCACCCCCCAGAAGAAA CGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAGCTCAGATCCACACCGTGGCGG AAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCCCTGGAAATCAG CTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGTCCCAGG CCCTGCTGGAAGTGAACAGCTGCTGAACGCCCCCGACCTGTGCGCC AAGGATTTGAGGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATA TCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGCGGCCGGATCGACATCATCCA CAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCCGTGGAAAGA GTGAAACTGCAGGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGA AAGTGAACAAAATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTCCAGCCGAG CGTGGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAAC CAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAGACCCAGATCC CCGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAGAGCT GCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGTTCGTGCGGACCCTGAAT GCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACCCGACGCCA GCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGA AGTGTGAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAG AAGAATCCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACC TGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCAGT GGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGAAAAAGTG AAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCC ACGTGAACGACCTGGCCCCGACGTGACAACACTGGGCATTACAGT GAGCCCCACAACTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACCCGGTGG AAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACG AGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGCTCCCAGCACTTCTGAGCACC AGTGTGCAGGGCCCTTGGGAGAGGCCATCTCCCCTAACAAGGTGC CCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCC AAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAACAACGTGC GGTTCAGCGCCTACCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGACTGCAGAA AGTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCTGTGATGCCCT GGACCAGCACAACTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATATCCTG CAGATCATCAACTGCCTGACCACCATCTACGACCGGCTGGAACAGG AACACAACAATCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCTG AATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGACAGGCCGGATCA GAGTGTGTCCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAAGCCCAC CTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCTCTAGCAC CGGCTTTTGCAGACCAGAGAAGGCTGGGCCCTGCTGCTGCACGACAGC ATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTGGCGGCA GCAACATCGAGCCTAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAA AAGCCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGTTCCCTGGACTGGATGAGACTGG AACCCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGCTGCATAGAGTGGCCGCT GCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGAACATCTGCAAAGAGT GCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTAC GATATCTGCCAGAGCTGTTTCTTACGCGGCAGGGTGGCCAAGGGCCA CAAAATGCACTACCCCATGGTGGAAATACTGCACCCCCACCACAAGC GGCAGGATGTGCGGGATTCGCCAAGGTGCTGAAAAACAAGTTC </p>

	<p>GGACCAAGCGGTACTTCGCCAAACACCCCGGATGGGCTACCTGCCT GTGCAGACAGTGCTGGAAGGCGACAACATGGAAACACACCATGTG ATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACA GATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCTGATTCCC GC ATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGTCGAAATAAAAGATCCTATTTC ATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 136 - BXA- 196475</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTACGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACACAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCTGTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGAACTACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTCA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAACG CCCAGTTCAAGAGCTACGCCTATAACCCAGGCCGCCTACGTACCACC AGCGACCCCTACCAGAAGCCCATTCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATAACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTCCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATCT GCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTTAGCGCC TGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACCACCG GCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAACTGGC CGTGTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAGCAGTCCATGGGCAAG CTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGAACAAGA GCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCCTGGCTGGACAACCTTCGCCCGTG CTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCAGATC TCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCAGCCTGACCCAGACCACCG TGATGGAACCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGT GAAGCACGCCAGGAAGAACTGCCCCCTCACCCCCCAGAAGAAA CGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAGCTCAGATCCACACCGTGCGGG AAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCTGGAAATCAG CTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATACCCATGTGTCCAGG</p>

CCCTGCTGGAAGTGAACAGCTGCTGAACGCCCCCGACCTGTGCGCC
 AAGGATTCGAGGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATA
 TCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGCGGCCGGATCGACATCATCCA
 CAGCAAGAAAAACAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCGTGGAAAGA
 GTGAAACTGCAGGAAAGCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGA
 AAGTGAACAAAATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTTCGACCGCAG
 CGTGGAAAAGTGGCGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAAC
 CAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAGACCCAGATCC
 CCGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAAGAGCT
 GCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGTCGTGCGGACCCTGAAT
 GCCACCGGCCGAGGAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACCGACGCCA
 GCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGA
 AGTGTGCAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAG
 AAGCTGGAACGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGG
 ACCTGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCC
 AGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGAAAAA
 GTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGT
 CCCACGTGAACGACCTGGCCCGCAGCTGACAACACTGGGCATTC
 GCTGAGCCCTACAACCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACCCCG
 TGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCAGGACCTGC
 ACGAGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGCCTCCCAGCACTTCTGAGC
 ACCAGTGTGCAGGGCCCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAACAAGG
 TGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCAC
 CCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAACAACG
 TGCGGTTACAGCGCTACCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGACTGCA
 GAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCTGTGATG
 CCCTGGACCAGCACAACTGAAAGCAGAACGACCAGCCATGGATAT
 CCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACCATCTACGACCGGCTGGAAC
 AGGAACACAACAATCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTG
 CCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGGACAGGCCGG
 ATCAGAGTGTGTCCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAAGC
 CCACCTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCTCTA
 GCACCGCTTTTGGCAGCAGAGAGAAGGCTGGGCCTGCTGCTGCACGA
 CAGCATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTGGC
 GGCAGCAACATCGAGCCTAGCGTGGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCA
 ACAACAAGCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTGGACTGGATGAG
 ACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGTCATAGAGTG
 GCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCA
 AAGAGTGCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTC
 AACTACGATATCTGCCAGAGCTGTTTCTTACGCGCAGGGTGGCCAA
 GGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGAATACTGCACCCCCACC
 ACAAGCGGCGAGGATGTGCGGGATTTCCGCCAAGGTGCTGAAAAACA
 AGTTCGGACCAAGCGGTACTTCGCCAACACCCCCGGATGGGCTA
 CCTGCCTGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAAACCGAC
 ACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAG
 TCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCTG
 ATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGTCGAAATAAAGATCC
 TTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG

<p>SEQ ID NO: 137 - BXA- 196476</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGGCCTGATCTGGAACATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCAAGGTC AACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGGTGGAAACAGCCTTCAA TATCGCCAGATAACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCAAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATAACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACTGCTGAAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATCT GCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTTAGCGCC TGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACCACCG GCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAAAACCTGGC CGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAGCAGTCCATGGGCAAG CTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGAACAAGA GCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCCTGGCTGGACAACCTTCGCCCGGTG CTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCAGATC TCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCAGCCTGACCCAGACCACCG TGATGGAACCCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGT GAAGCACGCCAGGAAGAAGTGCACCCCTCCACCCCAAGAGAAA CGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAGCTCAGATCCACACCGTGCAGG AAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCCCTGGAAATCAG CTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGTCCAGG CCCTGCTGGAAGTGGAAACAGCTGCTGAACGCCCCCGACCTGTGCGCC AAGGATTTTCGAGGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATA TCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGCGGCCGGATCGACATCATCCA CAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCGTGGAAAGA GTGAAACTGCAGGAAGCCCTGTCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGA AAGTGAACAAAATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTCGACCCGACG</p>
---	---

	<p>CGTGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAAC CAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAAGACCCAGATCC CCGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAAGAGT GCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGTCTGTGCGGACCCTGAAT GCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACCGACGCCA GCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGA AGTGTGCAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAG AAGAACATCCTGGAACGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACG AGCTGGACCTGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTG GCAGCCAGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGG AAAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGGCAGATCGCCCCCTGAAAAGAAAA CGTGTCCACGTGAACGACCTGGCCCGCAGCTGACAACACTGGGC ATTCAGCTGAGCCCCTACAACCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACA CCCGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCA GCTGCACGAGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGCCTCCAGCACTTCC TGAGCACCAGTGTGCAGGGCCCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAA CAAGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGG GACCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGA ACAACGTGCGGTTACAGCGCTACCGGACCGCCATGAAGCTGGGAG ACTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCCT GTGATGCCCTGGACCAGCACAATCTGAAGCAGAACGACCAGCCCAT GGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACCATCTACGACCGGC TGGAACAGGAACACAACAATCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGAA CATGTGCCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGGACAG GCCGGATCAGAGTGTCTCCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGC AAAGCCCACCTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGG CCTCTAGCACCGGCTTTTGCAGCAGAGAAAGGCTGGGCCTGCTGCTG CACGACAGCATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCT TTGGCGGCAGCAACATCGAGCCTAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTC GCCAACAACAAGCCCAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTGACTGGA TGAGACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGCATAG AGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAACATC TGCAAAGAGTGGCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGC ACTTCAACTACGATATCTGCCAGAGCTGTTTCTTACGCGGCAGGGTG GCCAAGGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGGAAATACTGCACCC CCACCACAAGCGGCGAGGATGTGCGGGATTTCCGCAAGGTGCTGAA AAACAAGTTCCGGACCAAGCGGTACTTCGCCAAACACCCCGGATG GGTACCTGCCTGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAAA CCGACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGT ATCAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAAC TCCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATACCGTCAAATAAAA GATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
SEQ ID NO: 138 - BXA-	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTCAGCAA GTTCCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTACGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGCAGAACAAACAGTGGACCTGGT</p>

196477- Q	AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGGCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCCAGGTG AACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCAAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGTGCACCACAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGC CCCGGTTCAAGAGCTACGCCTATAACCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCTGTGAAGGACCAGTTCCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATAG GGTCTGCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTT AGCGCCTGGCTGTCCGAGAAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACA CCACCGCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAA ACTGGCCGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAAGCAGTCCATG GGCAAGCTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGA ACAAGAGCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCTGGCTGGACAACCTTCGC CCGGTGTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCC CAGATCTCCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCCAGCCTGACCCAGA CCACCGTGTGGAACCCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGAT CCTCGTGAAGCACGCCCAGGAAGAAGTCCCCCTCCACCCCCAG AAGAAACGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAGCTCAGATCCACACCG TGCGGGAAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCCTGGA AATCAGCTACGTGCCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGT CCCAGGCCCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTGAACGCCCCCGACCT GTGCGCCAAGGATTTTCGAGGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTG AAGAATATCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGCGGCCGGATCGACA TCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCGT GGAAAGAGTGAAACTGCAGGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAG TGGGAGAAAGTGAACAAAATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTTCG ACCGCAGCGTGGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACATCAAGAT CTCAACCAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAAGACC CAGATCCCCGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGA AAGAGCTGCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGTCTGCGGAC CCTGAATGCCACCGGCAGGAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACC GACGCCAGCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGT
--------------	--

	<p>GGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGA AGAACAGCTGGAACGGCTGCAGGAAGTGCAGGAGGCCACCGACGA GCTGGACCTGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGG CAGCCAGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGA AAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAAC GTGTCCACGTGAACGACCTGGCCCGCAGCTGACAACACTGGGCA TTCAGCTGAGCCCCTACAACCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACC CGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGC TGCACGAGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGCCCTCCAGCACTTCCTG AGCACCAGTGTGCAGGGCCCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAACA AGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGA CCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAAC AACGTGCGGTTTACGCGCTACCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGAC TGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCTGT GATGCCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGG ATATCCTGCAGATCAACTGCCTGACCACCATCTACGACCGGCTG GAACAGGAACACAACAATCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGACA TGTGCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGACAGGC CGGATCAGAGTGCTGTCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAA AGCCACCTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCT CTAGCACCGGCTTTTGGCAGCAGAGAAGGCTGGGCCTGCTGCTGCAC GACAGCATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTG GCGGCAGCAACATCGAGCCTAGCGTGCGGAGCTGCTTCCAGTTCGCC AACAAAGCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTTGGACTGGATGA GACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGCATAGAGT GGCCGTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGAACATCTGC AAAGAGTGCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTT CAACTACGATATCTGCCAGAGCTGTTTCTTACGCGGCAGGGTGGCCA AGGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGAATACTGCACCCCCAC CACAAGCGGCAGGATGTGCGGGATTCGCCAAGGTGCTGAAAAAC AAGTTCCGGACCAAGCGGTAATTCGCCAAACACCCCGGATGGGCT ACCTGCCCTGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAAACCGA CACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCA GTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCT GATTCGCCATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGTCGAAATAAAAGATC CTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 139 - BXA- 196478</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAGTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGCTGAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGGCCTGATCTGGAACATCATCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCGAGGTC AACGTGATCAACTTCACCACTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA</p>

<p>CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGC CCCGGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCCGCTGGAAGAGGTGCTGAGTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCCGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAGAGCAGAGCAACCTGCATAG AGTACTGCTCCAAGACATCCTGCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAG GAACAGTGCCTGTTTAGCGCCTGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCG TGAACAAGATCCACACCACCGGCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCT GAGCAGCCTGCAGAAACTGGCCGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAG AAAAAGCAGTCCATGGGCAAGCTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGC TGCCACCCCTGAAGAACAAGAGCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCCTG GCTGGACAACCTCGCCCGGTGCTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTG GAAAAGTCCACCGCCAGATCTCCAGGCCGTGACCACAACACAGC CCAGCCTGACCCAGACCACCGTGATGGAACCGTGACAACAGTGAC CACCCGGGAACAGATCCTCGTGAAGCACGCCAGGAAGAACTGCC CCTCACCCCCCAGAAGAAACGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAG CTCAGATCCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTCATGACAGA GGACATGCCCTGGAATCAGCTACGTGCCAGCACCTACCTGACCG AGATCACCCATGTGTCCCAGGCCCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTG AACGCCCCGACCTGTGCGCCAAGGATTCGAGGACCTGTTCAAGCA GGAAGAGAGCCTGAAGAATATCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGC GGCCGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGA GCGCCACCCCCGTGGAAGAGTGAAACTGCAGGAAGCCCTGTCCA GCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAAATGTACAAGGACCGG CAGGGCAGATTCGACCCGACCGTGGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACT ACGACATCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTT CCTGAGAAAGACCCAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTAC AAGTGGTATCTGAAAGAGCTGCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGA CAGTCGTGCGGACCCTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCA GTCCAGCAAGACCGACGCCAGCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGC CTGAACCTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGTCCGACCGGA AGAAGCGGCTGGAAGAACAGCTGGAACGGCTGCAGGAAGTGCAGG AGGCCACCGACGAGCTGGACCTGAACTGAGACAGGCCGAAGTGAT CAAGGGCAGCTGGCAGCCAGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTG CAGGACCATCTGAAAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCC</p>
--

	<p>CCCTGAAAGAAAACGTGTCCACGTGAACGACCTGGCCCCGGCAGCT GACAACACTGGGCATTTCAGCTGAGCCCCCTACAACCTGAGCACACTG GAAGATCTGAACACCCCGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAG ATAGAGTGCAGGACAGCTGCACGAGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGC CTCCCAGCACTTCCTGAGCACCAGTGTGCAGGGCCCTGGGAGAGA GCCATCTCCCCTAACAAGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACA GACCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGC CTGGCTGACCTGAACAACGTGCGGTTTCAGCGCCTACCGGACCGCCAT GAAGCTGCGGAGACTGCAGAAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCC TGTCGCGCCCTGTGATGCCCTGGACCAGCACAATCTGAAGCAGAAC GACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACCAT CTACGACCGGCTGGAACAGGAACACAACAATCTCGTGAACGTCGCC CTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACAC CGGCCGGACAGGCCGATCAGAGTGTGTCTTCAAGACCGGCATC ATCAGCCTGTGCAAAGCCCACCTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTT CAAACAGGTGGCCTCTAGCACCGGCTTTTGGCACCAGAGAAGGCTG GGCCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCG AAGTGGCCAGCTTTGGCGGCAGCAACATCGAGCCTAGCGTGGGAG CTGCTTCCAGTTCGCCAACAAACAAGCCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGT TCCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCCAGAGCATGGTGTGGCTGCC CGTGCTGCATAGAGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCC AAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAG AAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAGAGCTGTTCTTCA GCGGCAGGGTGGCCAAGGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGGAA ATACTGCACCCCCACCACAAGCGGCGAGGATGTGCGGGATTTCCGC AAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGGTACTTCGCCAAC ACCCCGGATGGGCTACCTGCCTGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGA CAACATGGAACCGACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGAT GGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAA ATGTTTTACAACCTCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATAACC GTCGAAATAAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTT TGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 140 - BXA- 196479</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTCCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCACAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA</p>

TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA
 GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC
 ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGC
 CCCGGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC
 AGCGACCCTACCAGAAGCCCATCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC
 CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAAGCGAAGTGAA
 CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG
 CTGAGCGCCGAGGATACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG
 ACGTGGAAGTCTGTAAGGACCAGTTCCACACCACAGAGGGCTACAT
 GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG
 CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG
 AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG
 AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATCT
 GCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTTAGCGCC
 TGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACCACCG
 GCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAACTGGC
 CGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAAGCAGTCCATGGGCAAG
 CTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGAACAAGA
 GCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCCTGGCTGGACAACCTCGCCCCGGTG
 CTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCCATC
 TCCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCCAGCCTGACCCAGACCACCG
 TGATGGAACCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGT
 GAAGCACGCCAGGAAGAACTGCCCCCTCCACCCCCCAGAAGAAA
 CGGCAGATCACAGTGGACAGTGAAGCTCAGATCCACACCGTGCGGG
 AAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCTGGAATCAG
 CTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGTCCAGG
 CCCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTGAACGCCCCCGACCTGTGCGCC
 AAGGATTCGAGGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATA
 TCAAGGATAGCCTGCAGCAGAGCAGCGGCCGGATCGACATCATCCA
 CAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCCGTGGAAGA
 GTGAAACTGCAGGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGA
 AAGTGAACAAAATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTTCGACCCGAG
 CGTGGAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAAC
 CAGTGGCTGACAGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAAGACCCAGATCC
 CCGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAAGAGCT
 GCAGGACGGCATCGGCCAGAGACAGACAGTCTGTGCGGACCCTGAAT
 GCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACCGACGCCA
 GCATTCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGA
 AGTGTGCAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAG
 CTGGAACGGCTGCAGGAAGTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACC
 TGAAACTGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCAGT
 GGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGAAAAAGTG
 AAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCC
 ACGTGAACGACCTGGCCCCGCGAGCTGACAACACTGGGCATTACGCT
 GAGCCCCACAACTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACCCGGTGG
 AAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACG
 AGGCCACAGAGATTTTGGCCCTGCTCCCAGCACTTCCCTGAGCACC
 AGTGTGCAGGGCCCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCCTAACAAAGGTGC

	<p>CCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCC AAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAACAACGTGC GGTTCAGCGCCTACCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGACTGCAGAA AGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCCTGTGATGCCCT GGACCAGCACAAATCTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATATCCTG CAGATCATCAACTGCCTGACCACCATCTACGACCGGCTGGAACAGG AACACAACAATCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCTG AATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGGACAGGCCGGATCA GAGTGTGTCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAAGCCCAC CTGGAAGATAAGTACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCTCTAGCAC CGGCTTTTGCAGACCAGAGAAGGCTGGGCCTGCTGCTGCACGACGC ATCCAGATCCCTAGACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTGGCGGCA GCAACATCGAGCCTAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAA AAGCCCAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTGGACTGGATGAGACTGG AACCCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGCATAGAGTGGCCGCT GCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGT GCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTAC GATATCTGCCAGAGCTGTTTCTTACGCGCAGGGTGCCAAAGGGCCA CAAAATGCACACTACCCCATGGTGAATACTGCACCCCCACCACAAGC GGCGAGGATGTGCGGGATTTGCCAAAGGTGCTGAAAAACAAGTTCC GGACCAAGCGGTACTTCGCCAAACACCCCCGGATGGGCTACCTGCCT GTGCAGACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAAACCGACACCATGT GATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCTTAGTATCAGTCATGAC AGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCTGATTCCCG CATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGTCGAAATAAAAGATCCTTATTT CATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 141 - BXA- 196480</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGGCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCTACACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA</p>

<p> CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTGGTGAAAGACCAGTTCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACCGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCAGCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCACAT CCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTGTGACCGAGGACATG CCCCTGGAAATCAGCTACGTGCCCAGCACCTACCTGACCGAGATCAC CCACGTGTCCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAAACAGCTGCTGAACGCCC CCGACCTGTGCGCCAAGGACTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGA GAGCCTGAAGAATATCAAGGACTCCCTGCAGCAGTCCAGCGCCGG ATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCGCCA CCCCCGTGGAAAGAGTGAAGCTGCAGGAAGCCCTGAGCCAGCTGGA CTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAGATGTACAAGGACCGGCAGGGC AGATTGACCCGACGCTGGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACA TCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACCGAGGCCGAGCAGTTCTGAG AAAGACCCAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGG TATCTGAAAGAAGTGCAGGATGGCATCGGCCAGCGGCAGACCGTGG TGCGCACACTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGAGCAG CAAGACCGACGCCAGCATCCTGCAGGAAAAGCTGGGCTCCCTGAAC CTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGAGCGACCGGAAGAAGA GGCTGGAAGAACAGGCCCTGGCCTGACCACCATCGGCGCCAGCCC TACCCAGACCGTGACCCTGGTGACACAGCCCCTGGTGACAAAAGAG ACAGCCATCTCCAAGCTGGAAATGCCAGCTCCCTGATGCTGGAAGT GAAAGGCTGCAGGAAGTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACCTG AAGCTGCGGCAGGCCGAAAGTATCAAGGGCAGCTGGCAGCCCCTGG GCGACCTGCTGATCGACAGCCTGCAGGACCACCTGGAAAAAGTGAA GGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCCAC GTGAACGACCTGGCCCCGGCAGCTGACCACCCTGGGCATCCAGCTGA GCCCCTACAACCTGAGCACCTGGAAGATCTGAACACCCGGTGGAA GCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACGAG GCCCACAGAGACTTTGGCCCTGCCAGCCAGCACTTCCTGAGCACCTC TGTGCAGGGACCCTGGGAGAGAGCCATCAGCCCCAACAAGGTGCCC TACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCCA AGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCCGACCTGAACAATGTGCG GTTACAGCGCTACCGGACCGCCATGAAGCTGAGGCGGCTGCAGAAA GCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGCCTGAGCGCCGCTGCGACGCCCT GGACCAGCACAACCTGAAGCAGAACGACCAGCCATGGATATCCTG CAGATCATCAACTGCCTGACCACAATCTACGACAGGCTGGAACAGG AACACAACAATCTGGTCAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCTG AATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGGACCGGCAGAATCC GGGTGCTGAGCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAGGCCCA CCTGGAAGATAAGTACCGCTACCTGTTCAAACAGGTGGCCAGCTCCA CCGGCTTTTGCAGCCAGCGGAGACTGGGCCTGCTGCTGCACGACAGC ATCCAGATCCCCAGACAGCTGGGCGAGGTGGCCTCCTTCGGCGGCA GCAACATTGAGCCCAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAA AAGCCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTGACTGGATGAGACTGG </p>

	AACCCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGCTGCATCGGGTGGCCGCT GCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGT GCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTAC GATATCTGCCAGAGCTGCTTCTTCAGCGGCAGAGTGGCCAAAGGCC ACAAAATGCACTACCCCATGGTGGAATACTGCACCCCCACCACAG CGGCGAGGATGTGCGGGACTTCGCCAAGGTGCTGAAAAACAAGTTC CGGACCAAGCGGTACTTTGCCAAGCACCCTGGATGGGCTACCTGCC CGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAAACCCCTGCCAG ATCCTGATCAGCCTGGAAAGCGAGGAACGGGGCGAGCTGGAACGGA TCCTGGCCGATCTGGAAGAGGAAAACCGGAACCTGCAGGCCGAGTA CGACCGGCTGAAGCAGCAGCAGCAGCACAAGGGCCTGAGCCCCCTG CCTAGCCCCCTGACACCATGTGATGATGATTTGGCCAGAGCGATGG AGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAAT GTTTTACAACCTCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGT CGAAATAAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGTTTTTG TGTG
SEQ ID NO: 142 - BXA- 196480- вариант	ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGCTGAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGGCCTGATCTGGAACATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCGAGT AACGTGATCAACTTACCACCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCGACCTGTTGACTGGAACAGCG TGCTGTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA GGAACAATTCAGCTGCACCACAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTACACCAGGCCGCTACGTGACCACC AGCGACCCACCAGAAGCCCATTCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTGGTGAAAGACCAGTTCACACCCACGAGGGTACAT GATGGACCTGACCGCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCAGCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCACCG GGTGTGATCCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTGTATGACC GAGGACATGCCCTGGAAATCAGCTACGTGCCAGCACCTACCTGA CCGAGATCACCCACGTGTCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAAACAGCT

GCTGAACGCCCCGACCTGTGCGCCAAGGACTTCGAGGATCTGTTCA
 AGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATATCAAGGACTCCCTGCAGCAGTC
 CAGCGGCCGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTG
 CAGTCCGCCACCCCCGTGGAAAGAGTGAAGCTGCAGGAAGCCCTGA
 GCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAGATGTACAAGGA
 CCGGCAGGGCAGATTTCGACCGCAGCGTGGAAAAGTGGCGGCGGTTT
 CACTACGACATCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACCGAGGCCGAGC
 AGTTCCTGAGAAAGACCCAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAA
 GTACAAGTGGTATCTGAAAGAAGTGCAGGATGGCATCGGCCAGCGG
 CAGACCGTGGTGCACACTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCC
 AGCAGAGCAGCAAGACCGCAGCCAGCATCCTGCAGGAAAAGCTGGG
 CTCCCTGAACCTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGTGCAGCGAC
 CGAAAGAAGAGGCTGGAAGAACAGAAGAACGACCTGGCCCCCTGGC
 CTGACCACCATCGGCGCCAGCCCTACCCAGACCGTGACCCTGGTGAC
 ACAGCCCGTGGTGACAAAAGAGACAGCCATCTCCAAGCTGGAAATG
 CCCAGCTCCCTGATGCTGGAAGTGGAAAGGCTGCAGGAACTGCAGG
 AGGCCACCGACGAGCTGGACCTGAAGCTGCGGCAGGCCGAAGTGAT
 CAAGGGCAGCTGGCAGCCCGTGGGCGACCTGCTGATCGACAGCCTG
 CAGGACCACCTGGAAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCC
 CCTGAAAGAAAACGTGTCCCACGTGAACGACCTGGCCCCGGCAGCT
 GACCACCCTGGGCATCCAGCTGAGCCCCCTACAACCTGAGCACCCCTGG
 AAGATCTGAACACCCGGTGGAAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGA
 TAGAGTGCGGCAGCTGCACGAGGCCACAGAGACTTTGGCCCTGCC
 AGCCAGCACTTCCTGAGCACCTCTGTGCAGGGACCCCTGGGAGAGAG
 CCATCAGCCCCAACAAAGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACA
 GACCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGC
 CTGGCCGACCTGAACAATGTGCGGTTACAGGCCTACCGGACCGCCAT
 GAAGCTGAGGCGGCTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGC
 CTGAGCGCCGCTGCGACGCCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAGA
 ACGACCAGCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACA
 ATCTACGACAGGCTGGAACAGGAACACAACAATCTGGTCAACGTGC
 CCCTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGAC
 ACCGGCCGACCGGCAGAATCCGGGTGCTGAGCTTCAAGACCGGCA
 TCATCAGCCTGTGCAAGGCCACCTGGAAGATAAGTACCGCTACCTG
 TTCAAACAGGTGGCCAGCTCCACCGGCTTTTTCGACCGAGGAGACT
 GGGCCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCCAGACAGCTGGGC
 GAGGTGGCCTCCTTCGGCGGCAGCAACATTGAGCCCAGCGTGCGGA
 GCTGCTCCAGTTCGCCAACAACAAGCCCGAGATCGAGGCCGCCCTG
 TTCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCCAGAGCATGGTGTGGCTGCC
 CGTGTGCATCGGGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCC
 AAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCCATCATCGGCTTCCGGTACAG
 AAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAGAGCTGCTTCTTCA
 GCGGCAGAGTGGCCAAGGGCCACAAAATGCACTACCCATGGTGGAA
 ATACTGCACCCCCACCACCAGCGGCGAGGATGTGCGGGACTTCGCC
 AAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGGTACTTTGCCAAGC
 ACCCCGGATGGGCTACCTGCCCGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGA
 CAACATGGAACCCCTGCCAGATCCTGATCAGCCTGGAAAGCGAG
 GAACGGGGCAGCTGGAACGGATCCTGGCCGATCTGGAAGAGGAAA

	ACCGAACCTGCAGGCCGAGTACGACCGGCTGAAGCAGCAGCACGA GCACAAGGGCCTGAGCCCCCTGCTAGCCCCCTGACACCATGTGAT GATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAG ATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCTGATTCCC GCAT GCGGCCAGCTTATCGATAACCGTCGAAATAAAAGATCCTTATTTTCAT TGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG
SEQ ID NO: 143 - BXA- 196481	ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTCCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCTAAAGAGAAGGGCAGCACACAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCCTGATCTGGAACATCATCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGAACTACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCGACCTGTTTCGACTGGAACACGC TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATAACAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCAG GACGTGGACACCACCTACCCGACAAGAAATCCATCTGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTACCCAGGCCGCCTACGTGACCAC AGCGACCCACCAGAAGCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATAACAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTGGTGAAAGACCAGTTCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACCGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCTGCAG CTGGGCAGCAAGCTGATCGGCACCGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCACAG CTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCACCCACGTGTCCAGG CTCTGCTGGAAGTGAACAGCTGCTGAACGCCCCGACCTGTGCGCC AAGGACTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATA TCAAGGACTCCCTGCAGCAGTCCAGCGGCCGGATCGACATCATCCAC AGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCGCCACCCCCGTGGAAAGAG TGAAGCTGCAGGAAGCCCTGAGCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAA AGTGAACAAGATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTTCGACCGCAGC GTGGAAGAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAACC AGTGGCTGACCGAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAGACCCAGATCCC CGAGAACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAGAAGCTG CAGGATGGCATCGGCCAGCGGCAGACCGTGGTGCACACTGAATG CCACCGGCAGGAAATCATCCAGCAGAGCAGCAAGACCGACGCCAG CATCTGCAGGAAAAGCTGGGCTCCCTGAACCTGCGGTGGCAGGAA

	<p>GTGTGCAAGCAGCTGAGCGACCGGAAGAAGAGGCTGGAAGAACAG CTGGAAGGACTGGAAAAGCTGTACCAGGAACCCAGAGAGCTGCCCC CCGAGGAACGGGCCAGAACGTGACCCGGCTGCTGCGGAAACAGGC CGAAGAGGTGAACACCGAGTGGGAGAAGCTGAACCTGCACCCGCC GACTGGCAGCGGAAGATCGACGAGACACTGGAAAGGCTGCAGGAA CTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACCTGAAGCTGCGGCAGGCCG AAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCCGTGGGCGACCTGCTGATCGA CAGCCTGCAGGACCACCTGGAAAAAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAG ATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCCACGTGAACGACCTGGCCC GGCAGCTGACCACCCTGGGCATCCAGCTGAGCCCCTACAACCTGAG CACCTGGAAGATCTGAACACCCGGTGAAGCTGCTGCAGGTGGCC GTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACGAGGCCACAGAGACTTTG GCCCTGCCAGCCAGCACTTCTGAGCACCTCTGTGCAGGGACCCTGG GAGAGAGCCATCAGCCCCAACAAGGTGCCCTACTACATCAACCAG AGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAGCTGTA CCAGAGCCTGGCCGACCTGAACAATGTGCGGTTTCAGCGCCTACCGG ACCGCCATGAAGCTGAGGCGGCTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATC TGCTGAGCCTGAGCGCCGCTGCGACGCCCTGGACCAGCACAACT GAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATGAGCTGC CTGACCACAATCTACGACAGGCTGGAACAGGAACACAACAATCTGG TCAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCTGAATTGGCTGCTGAAT GTGTACGACACCGGCCGGACCGGCAGAATCCGGGTGCTGAGCTTCA AGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAGGCCACCTGGAAGATAAGTA CCGCTACCTGTTCAAACAGGTGGCCAGCTCCACCGGCTTTTGCGACC AGCGGAGACTGGCCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCCAG ACAGCTGGGCGAGGTGGCCCTCTCGGCGGCAGCAACATTGAGCCC AGCGTGCGGAGCTGCTTCCAGTTTCGCAACAACAAGCCCAGATCG AGGCCGCCCTGTTCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCCAGAGCAT GGTGTGGCTGCCCCTGCTGCATCGGGTGGCCGCTGCCGAGACAGCC AAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAAGAGTGCCCCATCATCG GCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAG AGCTGCTTCTCAGCGGCAGAGTGGCCAAGGGCCACAAAATGCACT ACCCATGGTGAATACTGCACCCCCACCACCAGCGGCGAGGATGT GCGGGACTTCGCAAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGG TACTTTGCCAAGCACCCCCGGATGGGCTACCTGCCCGTGCAGACAGT GCTGGAAGGCGACAACATGGAAACCCCTGCCAGATCCTGATCAGC CTGGAAGCGAGGAACGGGGCGAGCTGGAACGGATCCTGGCCGATC TGGAAGAGGAAAACCGGAACCTGCAGGCCGAGTACGACCGGCTGAA GCAGCAGCACGAGCACAAAGGGCCTGAGCCCCCTGCCTAGCCCCCT GACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTAT CAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAATC CTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATACCGTCGAAATAAAGA TCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 144 -</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT</p>

BXA- 027741	GAACAAGGCCCTGCGGGTGTCTGCAGAACAACAACGTGGACCTGGT AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCCTGATCTGGAACATCATCTCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCTGTATAT CACCAGCCTGTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAATGCTGCCAGACCCCAAGTGACCAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGAGCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAAGGCTCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCTGCAG CTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCATCT GCTGAAGTGGCAGCGGCTGACCGAGGAACAGTGCCTGTTTAGCGCC TGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCGCTGAACAAGATCCACACCACCG GCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAGCCTGCAGAAACTGGC CGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAAAGAAAAGCAGTCCATGGGCAAG CTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCACCCTGAAGAACAAGA GCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCTGGCTGGACAACCTCGCCCGGTG CTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAAAGTCCACCGCCAGATC TCCAGGCCGTGACCACAACACAGCCAGCCTGACCCAGACCACCG TGATGGAACCCGTGACAACAGTGACCACCCGGGAACAGATCCTCGT GAAGCACGCCCAGGAAGAACTGCCCCCTCACCCCAAGAGAAGAAA CGGCAGATCACAGTGGACATCCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGA TGGTCATGACAGAGGACATGCCCTGGAATCAGCTACGTGCCAG CACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGTCCCAGGCCCTGCTGGAAG TGGAACAGCTGCTGAACGCCCCGACCTGTGCGCCAAGGATTTCGA GGACCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATATCAAGGATAGC CTGCAGCAGAGCAGCGCCGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAA CAGCCGCCCTGCAGAGCGCCACCCCGTGGAAGAGTGAAACTGCA GGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAA ATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTCCACCGCAGCGTGGAAAAGT GGCGGCGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACA GAGGCCGAGCAGTTCCTGAGAAAGACCCAGATCCCCGAGAACTGGG AGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAGAGCTGCAGGACGGCAT CGGCCAGAGACAGACAGTCGTGCGGACCCTGAATGCCACCGGCGAG GAAATCATCCAGCAGTCCAGCAAGACCGACGCCAGCATTCTGCAGG
----------------	--

	<p>AAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCA GCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAGCTGGAACGGCTG CAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACCTGAAACTGAGAC AGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCAGTGGGCGACCTGCT GATCGACTCCCTGCAGGACCATCTGGAAAAAGTGAAGGCCCTGAGA GGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCACGTGAACGACC TGGCCCGGCAGCTGACAACACTGGGCATTCAGCTGAGCCCCTACAA CCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACCCGGTGAAGCTGCTGCAG GTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACGAGGCCACAGAG ATTTTGGCCCTGCCTCCAGCACTTCCTGAGCACCAGTGTGCAGGGC CCTTGGGAGAGACCATCTCCCCTAACAAGGTGCCCTACTACATCAA CCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAG CTGTACCAGAGCCTGGCTGACCTGAACAACGTGCGGTTACAGCGCTA CCGACCGCCATGAAGCTGCGGAGACTGCAGAAAGCTCTGTGCCTG GATCTGTGTCCCTGTCCGCCCTGTGATGCCCTGGACCAGCACAA TCTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACT GCCTGACCACCATCTACGACCGGCTGGAACAGGAACACAACAATCT CGTGAACGTGCCCCGTGCGTGGACATGTGCCCTGAATTGGCTGCTGA ATGTGTACGACACCGGCCGGACAGGCCGATCAGAGTGTGCCTTC AAGACCGCATCATCAGCCTGTGCAAAGCCCACCTGGAAGATAAGT ACCGGTATCTGTTCAAACAGGTGGCCTCTAGCACCGGCTTTTGCAC CAGAGAAGGCTGGGCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCTA GACAGCTGGGCGAAGTGGCCAGCTTTGGCGGCAGCAACATCGAGCC TAGCGTGCGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAAAGCCCGAGATC GAGGCCGCCCTGTTCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCAGAGCA TGGTGTGGCTGCCCGTGTGCATAGAGTGGCCGTGCCGAGACAGCC AAGCACAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCCATCATCG GCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAG AGCTGTTTCTCAGCGCAGGGTGGCCAAGGGCCACAAAATGCACT ACCCCATGGTGAATACTGCACCCCAACCAAGCGGCGAGGATGT GCGGGATTTGCCAAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGG TACTTCGCCAACACCCCGGATGGGCTACCTGCCTGTGCAGACAGT GCTGGAAGGCGACAACATGGAACCCCTGCCAGATCCTGATCAGC CTGGAATCCGAGGAACGGGCGAGCTGGAACGGATCCTGGCCGATC TGGAAGAGGAAAAACCGGAACCTGCAGGCCGAGTACGACCGGCTGAA GCAGCAGCACGAGCACAAAGGGCCTGAGCCCCCTGCCTAGCCCCCT GACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTAT CAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTACAACCTC CTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGTCGA</p>
<p>SEQ ID NO: 145 - BXA- 027744</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTGAACGCCAGTTCAGCAA GTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTACGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAAACAGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA</p>

<p> TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACACCCCCAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTACACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCACCAGAAGCCCATTCGCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATAACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTGGTGAAAGACCAGTTCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACCGCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCAGCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCACAT CCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTGATGACCGAGGACATG CCCCTGAAAATCAGCTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCAC CCACGTGTCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTGAACGCCC CCGACCTGTGCGCCAAGGACTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGA GAGCCTGAAGAATATCAAGGACTCCCTGCAGCAGTCCAGCGGCCGG ATCGACATCACCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCGCCA CCCCCGTGAAAGAGTGAAAGCTGCAGGAAGCCCTGAGCCAGCTGGA CTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAGATGTACAAGGACCGGCAGGGC AGATTGACCGCAGCGTGGAAGAGTGGCGGGCGGTTCCACTACGACA TCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACCGAGGCCGAGCAGTTCCTGAG AAAGACCCAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGG TATCTGAAAGAAGTGCAGGATGGCATCGGCCAGCGGCAGACCGTGG TGCGCACACTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGAGCAG CAAGACCGACGCCAGCATCCTGCAGGAAAAGCTGGGCTCCCTGAAC CTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGAGCGACCGGAAGAAGA GGCTGGAAGAACAGGCCCTGGCCTGACCACCATCGGCGCCAGCCC TACCCAGACCGTGACCCTGGTGACACAGCCCGTGGTGACAAAAGAG ACAGCCATCTCCAAGCTGGAATGCCAGCTCCCTGATGCTGGAAGT ACCTGCTCTGGCAGATTTCAACCGGGCTTGGACAGAACTTACCGACT GGCTTTCTGCTTGATCAAGTTATAAAATCACAGAGGGTGATGGTG GGTGACCTTGAGGATATCAACGAGATGATCATCAAGCAGAAGGCAA CAATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGTCCCCAGTTGGAAGAAGTCA TACCGCTGCCAAAATTTGAAAAACAAGACCAGCAATCAAGAGGCT AGAACAATCATTACGGATCGAATTGAAAGAATTCAGAATCAGTGGG ATGAAGTACAAGAACCTTCAGAACCGGAGGCAACAGTTGAATGA AATGCTGGAAGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTG GACCTGAAGCTGCGGCAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGC CCGTGGGCGACCTGCTGATCGACAGCCTGCAGGACCACCTGGAAAA </p>
--

	<p>AGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTG TCCACGTGAACGACCTGGCCCCGCGAGCTGACCACCCTGGGCATCCA GCTGAGCCCCCTACAACCTGAGCACCCTGGAAGATCTGAACACCCGG TGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGC ACGAGGCCACAGAGACTTTGGCCCTGCCAGCCAGCACTTCCTGAGC ACCTCTGTGCAGGGACCCTGGGAGAGAGCCATCAGCCCCAACAAAGG TGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCAC CCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCCGACCTGAACAATG TGCGGTTACAGCGCTACCGGACCGCCATGAAGCTGAGGCGGCTGCA GAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGCCTGAGCGCCGCCTGCGACG CCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATAT CCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACAATCTACGACAGGCTGGAAC AGGAACACAACAATCTGGTCAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTG CCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACACCGGCCGGACCGGCAGA ATCCGGGTGCTGAGCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAGGC CCACCTGGAAGATAAGTACCGCTACCTGTTCAAACAGGTGGCCAGCT CCACCGGCTTTTGGCACCAGCGGAGACTGGGCCTGCTGCTGCACGAC AGCATCCAGATCCCCAGACAGCTGGGCGAGGTGGCCTCCTTCGGCG GCAGCAACATTGAGCCCAGCGTGCGGAGCTGTTCCAGTTCGCCAAC AACAAAGCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGTTCTGGACTGGATGAGAC TGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGCATCGGGTGGCC GCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAG AGTGCCCATCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAAC TACGATATCTGCCAGAGCTGCTTCTTCAGCGGCAGAGTGGCCAAGGG CCACAAAATGCACTACCCCATGGTGAATACTGCACCCCCACCACCA CGCGGAGGATGTGCGGACTTCGCCAAGGTGCTGAAAACAAGTT CCGGACCAAGCGGTACTTTGCCAAGCACCCCCGGATGGGCTACCTGC CCGTGCAGACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAACCCCTGCCCA GATCCTGATCAGCCTGGAAGCGAGGAACGGGGCGAGCTGGAACGG ATCCTGGCCGATCTGGAAGAGGAAAACCGGAACCTGCAGGCCGAGT ACGACCGGCTGAAGCAGCAGCACGAGCACAAGGGCCTGAGCCCCCT GCCTAGCCCCCTGACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGATG GAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAAA TGTTTTACAACCTCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATAACCGT CGAAATAAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTTG TGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 146 - BXA- 027742</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTCACCAAATGGGTCAACGCCCAGTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGATCTGCTGGAAGGCCTGACCGGACAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTCGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGGCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAAGTGAAGAACGT GATGAAGAACATCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAG ATCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCAAGAACTACCCCCAAG TGAACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTG</p>

AATGCCCTGATCCACAGCCACAGACCCGACCTGTTCGACTGGAACA
GCGTCGTGTGTCAGCAGAGCGCCACCCAGAGGCTGGAACACGCCTT
CAATATCGCCAGATAACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGACCCC
GAGGATGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGT
ATATCACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCTCAGCAGGTGTCATCGAG
GCCATCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCCCAAAGTGACCA
AAGAGGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACTCTCAGCA
GATCACCGTGTCCCTGGCCCAGGGCTACGAGAGAACCAGCAGCCCC
AAGCCCCGGTTCAAGAGCTACGCCTATACCCAGGCCGCCTACGTGAC
CACCAGCGACCCTACCAGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAA
GCCCCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAGCGAAG
TGAACCTGGATAGATAACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCTG
GCTGCTGAGCGCCGAGGATACTGCAGGCTCAGGGCGAGATCAGC
AACGACGTGGAAGTCGTGAAGGACCAGTTCCACACCCACGAGGGCT
ACATGATGGACCTGACAGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATTCT
GCAGCTGGGCTCCAAGCTGATCGGCACCGCAAGCTGAGCGAGGAC
GAAGAGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGA
TGGGAGTGCCTGAGAGTGGCCAGCATGGAAGAGCAGAGCAACCTGC
ACCGGGTGTGATGGATCTGCAGAACCAGAAGCTGAAAGAGCTGAA
CGACTGGCTGACCAAGACCGAGGAACGACCCGGAAGATGGAAGA
GGAACCCCTGGGACCAGACCTGGAAGATCTGAAAAGACAGGTGCAG
CAGCACAAAGTGCTGCAGGAAGATCTGGAACAGGAACAGGTGCGCG
TGAACAGCCTGACCCACATGGTCTGTTGGTGGACGAGAGCAGCGG
CGATCATGCCACAGCCGCTCTGGAAGAACAGCTGAAGGTGCTGGGC
GACAGATGGGCCAACATCTGCCGGTGGACCGAGGATAGATGGGTGC
TGCTGCAGGACATCCTGCTGAAGTGGCAGCGGCTGACAGAGGAACA
GTGCCGTCTCCGCTGGCTGTCCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACA
AAATCCACACCACCGGCTTCAAGGACCAGAACGAGATGCTGAGCAG
CCTGCAGAACTGGCCGTGCTGAAGGCCGACCTGGAAGAGAAAAAG
CAGTCCATGGGCAAGCTGTACTCCCTGAAGCAGGACCTGCTGTCCAC
CCTGAAGAACAAAGAGCGTGACCCAGAAAACCGAGGCCCTGGCTGGAC
AACTTCGCCCGGTGCTGGGACAACCTGGTGCAGAAGCTGGAAGAGT
CCACCGCCAGATCTCCAGGCCATTACACCGTGCGGGAAGAGAC
AATGATGGTCATGACTGAGGACATGCCCTGGAATCAGCTACGTG
CCCTCCACCTACCTGACCGAGATCACCCATGTGTCCAGGCCCTGCT
GGAAGTGGAACAGCTGCTGAACGCCCCGATCTGTGCGCCAAGGAC
TTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATATCAAGG
ACTCTCTGCAGCAGTCCAGCGGCAGAATCGACATCATCCACAGCAA
GAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCGCCACCCCGTGGAAAGAGTGAAA
CTGCAGGAAGCCCTGTCCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGA
ACAAGATGTACAAGGACCGGCAGGGCAGATTTCGACCGCAGCGTGGA
AAAGTGGCGGGGTTCCACTACGACATCAAGATCTTCAACCAGTGG
CTGACCGAGGCCGAACAGTTCCTGAGAAAGACCCAGATCCCCGAGA
ACTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGTATCTGAAAGAACTGCAGGA
TGGCATCGGCCAGAGACAGACCGTCTGCGGACACTGAATGCCACC
GGCGAGGAAATCATCCAGCAGAGCAGCAAGACCGACGCCAGCATCC
TGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAACCTGAGATGGCAGGAAGTGTG
CAAGCAGCTGTCCGACCGGAAGAAGCGGCTGGAAGAACAGCTGGAA

	<p>CGGCTGCAGGAAGTGCAGGAGGCCACCGACGAGCTGGACCTGAAAC TGAGACAGGCCGAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCAGTGGGCGA CCTGCTGATCGATTCTCTGCAGGACCACCTGGAAAAAGTGAAGGCC TGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGTGTCCCACGTGAA CGACCTGGCCCGGCAGCTGACAACACTGGGCATCCAGCTGAGCCCC TACAACCTGAGCACACTGGAAGATCTGAACACCCGGTGAAGCTGC TGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGCACGAGGCCCA CAGAGATTTTGGCCCTGCCTCCCAGCACTTCTGAGCACCTCAGTGC AGGGCCCTTGGGAGAGAGCCATCTCCCTAACAAGGTGCCCTACTAC ATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGA CCGAGCTGTACCAGAGCCTGGCCGACCTGAACAATGTGCGGTTTCA CGCCTACCGGACCGCCATGAAGCTGCGGAGACTGCAGAAAAGCTGT TGCCTGGATCTGCTGTCCCTGAGCGCCGCCTGTGATGCCCTGGACCA GCACAATCTGAAGCAGAACGACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATC ATTAACCTGCCTGACCACCATCTACGACCGGCTGGAACAGGAACACA ACAACCTCGTGAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGG CTGCTGAATGTGTACGACACCCGGCCGGACAGGCCGGATCAGAGTGC TGAGCTTCAAGACCGGCATCATCAGCCTGTGCAAAGCCCATCTGGAA GATAAGTACCGTACCTGTTTCAAACAGGTGGCCAGCTTACCGGCTT CTGCGATCAGAGAAGGCTGGGCCTGCTGCTGCATGACTCCATCCAGA TCCCCAGACAGCTGGGCGAGGTGGCCCTTTTCGGCGGCAGCAATATC GAGCCTAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAACAAGCCCC AGATCGAGGCCGCCCTGTTTCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCCA GAGCATGGTGTGGCTGCCCGTGTGCATAGAGTGGCCGCTGCCGAG ACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAATATCTGCAAAGAGTGCCCCA TCATCGGCTTCCGGTACAGAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATC TGCCAGAGCTGTTTCTTACGCGGCAGGGTGGCCAAGGGCCACAAAA TGCACTACCCCATGGTGAATACTGCACCCCCACCACAAGCGGAGA GGATGTGCGGGACTTCCCAAGGTGTGAAAAACAAGTTCCGGACC AAGCGGTATTTCCGCAACACCCCCGGATGGGCTACCTGCCTGTGCA GACAGTGTGGAAGGCGACAACATGGAAACCGACACCATGTGATGA TGATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATG AGAAGGAGCAGAATAAATGTTTTACAACCTCTGATTTCCCGCATGCG GCCAGCTTATCGATACCGTCAAATAAAAAGATCCTTATTTTCATTGG ATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 147 - BXA- 027743</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTACGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTACGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGC CCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGTGAACATCGGC AGCACCGACATCGTGGACGGCAAC CACAAGCTGACCCTGGGCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCA GGTCAAAAACGTGATGAAGAACA TCATGGCCGGCCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGATCCTGCTGAG CTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAA</p>

<p> CTACCCCAGGTCAACGTGATCAACTTCACCACCTCTTGAGCGACG GCCTGGCCCTGAACGCCCTGATC CACAGCCACCGGCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCGTGGTCTGCCA GCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGG AACACGCCTTCAATATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCT GCTGGATCCCGAGGACGTGGACAC CACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATATCACCAGCCTGT TCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTG TCCATCGAGGCCATCCAGGAAGTGGAATGCTGCCAGACCCCCCA AAGTGACCAAAGAGGAACACTTCC AGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATCACCGTGTCCCTG GCTCAGGGCTACGAGCGGACCAG CAGCCCCAAGCCCCGTTCAAGAGCTACGCCTACACCCAGGCCGCT ACGTGACCACCAGCGACCCCACC AGAAGCCCATTCCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCCCCGAGGACAAGA GCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAA GCGAAGTGAACCTGGACAGATACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCT GTCCTGGCTGCTGAGCGCCGAGGA TACACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACGACGTGGAAGTGGTG AAAGACCAGTTCCACACCCACGAG GGCTACATGATGGACCTGACCGCCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACA TCCTGCAGCTGGGCAGCAAGCTGA TCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAGAGACAGAGGTGCAGG AACAGATGAACCTGCTGAACAGCAG ATGGGAGTGCCTGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTG CACATCCACACCGTGCGGGAAGAG ACAATGATGGTATGACCGAGGACATGCCCTGGAAATCAGCTACG TGCCAGCACCTACCTGACCGAGA TCACCCAGTGTCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTGAAC GCCCCGACCTGTGCGCCAAGGA CTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGAGAGCCTGAAGAATATCAAG GACTCCCTGCAGCAGTCCAGCGGC CGGATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCG CCACCCCGTGGAAAGAGTGAAGC TGCAGGAAGCCCTGAGCCAGCTGGACTTCCAGTGGGAGAAAGTGAA CAAGATGTACAAGGACCGGCAGGG CAGATTCGACCGCAGCGTGGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGAC ATCAAGATCTCAACCAGTGGCTG ACCGAGGCCGAGCAGTTCTTGAGAAAGACCCAGATCCCCGAGA GGGAGCACGCCAAGTACAAGTGGT ATCTGAAAGAACTGCAGGATGGCATCGGCCAGCGGCAGACCGTGGT GCGCACACTGAATGCCACCGGCGA GGAAATCATCCAGCAGAGCAGCAAGACCGACGCCAGCATCCTGCAG GAAAAGCTGGGCTCCCTGAACCTG CGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGAGCGACCGGAAGAAGAGG CTGGAAGAACAGGCCCTGGCCTGA CCACCATCGGCCGACCCCTACCCAGACCGTGACCCTGGTGACACA GCCCCTGGTGACAAAAGAGACAGC </p>

<p> CATCTCCAAGCTGGAATGCCAGCTCCCTGATGCTGGAATCTGACC AGTGGAAAGCGTCTGCACCTTTCT CTGCAGGAACTTCTGGTGTGGCTACAGCTGAAAGATGATGAATTAA GCCGGCAGGCACCTATTGGAGGCG ACTTCCAGCAGTTCAGAAGCAGAACGATGTACATAGGGCCTTCAA GAGGGAATTGAAAACTAAAGAACC TGTAATCATGAGTACTCTGAGACTGTACGAATATTTCTGACAGAGC AGCCTTTGGAAGGACTAGAGAAA CTCTACCAGGAGCCCAGAGAGCTGCCTCCTGAGGAGAGAGCCCAGA ATGTCACTCGGCTTCTACGAAAGC AGGCTGAGGAGGTCAATACTGAGTGGGAAAAATTGAACCTGCACTC CGCTGACTGGCAGAGAAAAATAGA TGAGACCCTGGAAAGGCTGCAGGAACTGCAGGAGGCCACCGACGAG CTGGACCTGAAGCTGCGGCAGGCC GAAGTGATCAAGGGCAGCTGGCAGCCCGTGGGCGACCTGCTGATCG ACAGCCTGCAGGACCACCTGGAAA AAGTGAAGGCCCTGAGAGGCGAGATCGCCCCCTGAAAGAAAACGT GTCCCACGTGAACGACCTGGCCCG GCAGCTGACCACCCTGGGCATCCAGCTGAGCCCCTACAACCTGAGC ACCCTGGAAGATCTGAACACCCGG TGGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATAGAGTGCGGCAGCTGC ACGAGGCCACAGAGACTTTGGCC CTGCCAGCCAGCACTTCTGAGCACCTCTGTGCAGGGACCCTGGGAG AGAGCCATCAGCCCCAACAAGGT GCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGACCACCTGTTGGGACCAC CCCAAGATGACCGAGCTGTACCAG AGCCTGGCCGACCTGAACAATGTGCGGTTACAGCGCCTACCGGACCG CCATGAAGCTGAGGCGGCTGCAGA AAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGCCTGAGCGCCGCTGCGACGCC CTGGACCAGCACAACCTGAAGCA GAACGACCAGCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCA CAATCTACGACAGGCTGGAACAG GAACACAACAATCTGGTCAACGTGCCCTGTGCGTGGACATGTGCCT GAATTGGCTGCTGAATGTGTACG ACACCGGCCGGACCGGCAGAATCCGGGTGCTGAGCTTCAAGACCGG CATCATCAGCCTGTGCAAGGCCCA CCTGGAAGATAAGTACCGCTACCTGTTCAAACAGGTGGCCAGCTCCA CCGGCTTTTGCAGCCAGCGGAGA CTGGGCCCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCCAGACAGCTGG GCGAGGTGGCCTCCTTCGGCGGCA GCAACATTGAGCCCAGCGTGCAGGAGCTGCTTCCAGTTCGCCAACAAC AAGCCCAGATCGAGGCCGCCCT GTTCTGGAAGTGGATGAGACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTG CCCGTGCTGCATCGGGTGGCCGCT GCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCCAAGTGCAACATCTGCAAAGAGT GCCCCATCATCGGCTTCCGGTACA GAAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAGAGCTGCTTCTTC AGCGGCAGAGTGGCCAAGGGCCA </p>

	<p> CAAAATGCACTACCCCATGGTGGAATACTGCACCCCCACCACCAGC GCGGAGGATGTGCGGGACTTCGCC AAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGGTACTTTGCCAAGC ACCCCCGGATGGGCTACCTGCCCG TGCAGACAGTGCTGGAAGGCGACAACATGGAAACCCCTGCCAGAT CCTGATCAGCCTGGAAAGCGAGGA ACGGGGCGAGCTGGAACGGATCCTGGCCGATCTGGAAGAGGAAAA CGGAACCTGCAGGCCGAGTACGAC CGGCTGAAGCAGCAGCACGAGCACAAGGGCCTGAGCCCCCTGCCTA GCCCCCTGACACCATGTGATGAT GATTTGGGCAGAGCGATGGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATG AAGAAGGAGCAGAATAAATGTTTT ACAACTCCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATACCGTCGAAA TAAAAGATCCTTATTTTCATTGG ATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG </p>
<p> SEQ ID NO: 148 - BXA- 212371 </p>	<p> ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCCAGAGTGACCGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGCTGCAGAACAACAACGTGGACCTGGTG AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCCTGATCTGGAACATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCGACCTGTTGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAATGCTGCCAGACCCCAAAAGTGACCAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCCAAGC CCCGGTTCAAGAGCTACGCCTACACCAGGCCGCTACGTGACCACC AGCGACCCACCAGAAGCCCATTCCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATAACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATACACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTGTTGAAAGACCAGTTCCACACCCACGAGGGTACAT GATGGACCTGACCGCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCAGCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCTGCGGGTGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCACAT CCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTGATGACCGAGGACATG CCCCTGGAATCAGCTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCAC CCACGTGTCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAACAGCTGCTGAACGCC </p>

CCGACCTGTGCGCAAGGACTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGA
 GAGCCTGAAGAATATCAAGGACTCCCTGCAGCAGTCCAGCGGCCGG
 ATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCGCCA
 CCCCCTGGAAAGAGTGAAGCTGCAGGAAGCCCTGAGCCAGCTGGA
 CTTCCAGTGGGAGAAAAGTGAACAAGATGTACAAGGACCGGCAGGGC
 AGATTCGACCGCAGCGTGGAAAAGTGGCGGGGTTCCACTACGACA
 TCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACCGAGGCCGAGCAGTTCCTGAG
 AAAGACCCAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGG
 TATCTGAAAGAGCTGCAGGACGGCATCGGCCAGCGGCAGACAGTGG
 TCCGCACCCTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGAGCAG
 CAAGACCGACGCCAGCATCCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAAC
 CTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGAGCGACCGGAAGAAGC
 GGCTGGAAGAACAGGCCCTGGCCTGACCACAATCGGCGCCAGCCC
 TACCAGACCGTGACCCTGGTGACACAGCCCGTGGTGACAAAAGAG
 ACAGCCATCAGCAAGCTGGAAAATGCCAGCAGCCTGATGCTGGAAA
 GCGACCAGTGGAAAGCGGCTGCACCTGAGCCTGCAGGAACTGCTGGT
 CTGGCTGCAGCTGAAGGACGACGAGCTGAGCAGACAGGCCCCCATC
 GCGGGCATTTCGCCCGCTGCAGAAAACAGAACGACGTGCACCGGG
 CCTTCAAGCGCGAGCTGAAAACAAAAGAACCCGTGATCATGAGCAC
 CCTGGAACCGTGCGGATCTTCTGACCGAGCAGCCCCCTGGAAGGC
 CTGGAAGCTGTACCAGGAACCCAGAGAGCTGCCCCCGAGGAAC
 GGGCCAGAACGTGACCAGACTGCTGCGGAAGCAGGCCGAAGAGGT
 CAACACCGAGTGGGAGAAGCTGAACCTGCACAGCGCCGACTGGCAG
 CGGAAGATCGACGAGACACTGGAACGGCTGCAGGAACTGCAGGAG
 GCCACCGACGAGCTGGACCTGAAGCTGAGACAGGCCGAAGTATCA
 AGGGCAGCTGGCAGCCCGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCA
 GGACCACCTGGA AAAAGTGAAGGCCCTGCGGGGCGAGATCGCCCC
 CTGAAAGAAAACGTGTCCACGTGAACGACCTGGCCCCGCGAGCTGA
 CCACCCTGGGCATCCAGCTGAGCCCCCTACAACCTGTCCACCCTGGA
 GATCTGAACACCCGGTGAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATA
 GAGTGGGCGAGCTGCACGAGGCCACAGAGACTTTGGCCCTGCCAG
 CCAGCACTTCTGAGCACCTCTGTGCAGGGACCCTGGGAGAGAGCC
 ATCAGCCCCAACAAGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGA
 CCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCT
 GGCCGACCTGAACAATGTGCGGTTACAGCCTACCGGACCGCCATG
 AAGCTGAGGCGGCTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGCCT
 GAGCGCCGCTGCGACGCCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAGAAC
 GACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACAAT
 CTACGACAGGCTGGAACAGGAACAACAATCTGGTCAACGTGCC
 CTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACAC
 CGGCCGACCGGCAGAAATCCGGGTGCTGAGCTTCAAGACCGGCATC
 ATCAGCCTGTGAAGGCCACCTGGAAGATAAGTACCGCTACCTGTT
 CAAACAGGTGGCCAGCTCCACCGCTTTTTCGACAGCGGAGACTG
 GGCCCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCCAGACAGCTGGGCG
 AGGTGGCCTCCTTCGGCGCAGCAACATTGAGCCCAGCGTGCAGGAG
 CTGCTTCCAGTTCGCCAACAAAGCCCCGAGATCGAGGCCCGCCCTGT
 TCCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTGCC
 CGTGTGCATCGGGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCC

	<p>AAGTGCAACATCTGCAAAGAGTGCCCATCATCGGCTCCGGTACAG AAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAGAGCTGCTTCTCA GCGGCAGAGTGGCCAAGGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGA ATACTGCACCCACCACCAGCGGGCAGGATGTGCGGGACTTCGCCAAGC AAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGGTACTTTGCCAAGC ACCCCGGATGGGCTACCTGCCCGTGCAGACAGTGCTGGAAGGCGA CAACATGGAACCGACACCATGTGATGATGATTTGGGCAGAGCGAT GGAGTCCTTAGTATCAGTCATGACAGATGAAGAAGGAGCAGAATAA ATGTTTACAACCTCTGATTCCCGCATGCGGCCAGCTTATCGATAACC GTCGAAATAAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTT TGTGTG</p>
<p>SEQ ID NO: 149 - BXA- 212372</p>	<p>ATGCTGTGGTGGGAGGAAGTGGAAAGATTGCTACGAGCGCGAGGACG TGCAGAAGAAAACCTTACCAAATGGGTGAACGCCAGTTTCAGCAA GTTTCGGCAAGCAGCACATCGAGAACCTGTTTCAGCGACCTGCAGGAC GGCAGACGGCTGCTGGACCTGCTGGAAGGCCTGACCGGCCAGAAGC TGCCCAAAGAGAAGGGCAGCACCAGAGTGCACGCCCTGAACAACGT GAACAAGGCCCTGCGGGTGTGTCAGAACAACAACGTGGACCTGGT AACATCGGCAGCACCGACATCGTGGACGGCAACCACAAGCTGACCC TGGCCCTGATCTGGAACATCATCCTGCACTGGCAGGTCAAAAACGTG ATGAAGAACATCATGGCCGGCTGCAGCAGACCAACAGCGAGAAGA TCCTGCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCACCCGGAACCTACCCCGAGGTC AACGTGATCAACTTACCACCTCTTGGAGCGACGGCCTGGCCCTGAA CGCCCTGATCCACAGCCACCGGCCCGACCTGTTTCGACTGGAACAGCG TGGTCTGCCAGCAGAGCGCCACCCAGCGGCTGGAACACGCCTTCAA TATCGCCAGATACCAGCTGGGCATCGAGAAGCTGCTGGATCCCGAG GACGTGGACACCACCTACCCCGACAAGAAATCCATCCTGATGTATAT CACCAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCCCAGCAGGTGTCCATCGAGGCCA TCCAGGAAGTGGAAATGCTGCCAGACCCCAAGTGAACAAAGA GGAACACTTCCAGCTGCACCACCAGATGCACTACAGCCAGCAGATC ACCGTGTCCCTGGCTCAGGGCTACGAGCGGACCAGCAGCCCAAGC CCCGTTCAAGAGCTACGCCTACACCCAGGCCGCCTACGTGACCACC AGCGACCCACCAGAAGCCCATTCACCCAGCCAGCATCTGGAAGCCC CCGAGGACAAGAGCTTCGGCAGCAGCCTGATGGAAGCGAAGTGAA CCTGGACAGATAACCAGACCGCCCTGGAAGAGGTGCTGTCTGGCTG CTGAGCGCCGAGGATAACTGCAGGCCAGGGCGAGATCAGCAACG ACGTGGAAGTGGTGAAGACCAAGTTCCACACCCACGAGGGCTACAT GATGGACCTGACCGCCACCAGGGCAGAGTGGGCAACATCCTGCAG CTGGGCAGCAAGCTGATCGGCACCGGCAAGCTGAGCGAGGACGAAG AGACAGAGGTGCAGGAACAGATGAACCTGCTGAACAGCAGATGGG AGTGCCGCGGGTGGCCAGCATGGAAAAGCAGAGCAACCTGCACAT CCACACCGTGCGGGAAGAGACAATGATGGTGTGATGACCGAGGACATG CCCCTGGAATCAGCTACGTGCCAGCACCTACCTGACCGAGATCAC CCACGTGTCCAGGCTCTGCTGGAAGTGGAAACAGCTGCTGAACGCC CCGACCTGTGCGCAAGGACTTCGAGGATCTGTTCAAGCAGGAAGA GAGCCTGAAGAATATCAAGGACTCCCTGCAGCAGTCCAGCGGCCGG ATCGACATCATCCACAGCAAGAAAACAGCCGCCCTGCAGTCCGCCA CCCCGTGGAAGAGTGAAGCTGCAGGAAGCCCTGAGCCAGCTGGA</p>

	<p>CTTCCAGTGGGAGAAAGTGAACAAGATGTACAAGGACCGGCAGGGC AGATTGACCCGACGCTGGAAAAGTGGCGGCGGTTCCACTACGACA TCAAGATCTTCAACCAGTGGCTGACCGAGGCCGAGCAGTTCTGAG AAAGACCCAGATCCCCGAGAAGTGGGAGCACGCCAAGTACAAGTGG TATCTGAAAGAGCTGCAGGACGGCATCGGCCAGCGGCAGACAGTGG TCCGCACCCCTGAATGCCACCGGCGAGGAAATCATCCAGCAGAGCAG CAAGACCGACGCCAGCATCCTGCAGGAAAAGCTGGGCAGCCTGAAC CTGCGGTGGCAGGAAGTGTGCAAGCAGCTGAGCGACCCGGAAGAAGC GGCTGGAAGAACAGGCCCTGGCCTGACCACAATCGGCGCCAGCCC TACCCAGACCGTGACCCCTGGTGACACAGCCCCTGGTGACAAAAGAG ACAGCCATCAGCAAGCTGGAATGCCAGCAGCCTGATGCTGGA CGACCCAGTGGAAAGCGGCTGCACCTGAGCCTGCAGGAAGTCTGGT CTGGCTGCAGCTGAAGGACGACGAGCTGAGCAGACAGCCCCCATC GGCGGCGATTTCCCCGCCGTGCAGAAACAGAACGACGTGCACCGGG CCTTCAAGCGGAGCTGAAAACAAAAGAACCCGTGATCATGAGCAC CCTGAAAACCGTGCGGATCTTCTGACCGAGCAGCCCCTGGAAGGC CTGAAAAGCTGTACCAGGAACCCAGAGAGCTGCCCCCGAGGAAC GGGCCAGAACGTGACCAGACTGCTGCGGAAGCAGGCCGAAGAGGT CAACACCGAGTGGGAGAAGCTGAACCTGCACAGCCGCGGACTGGCAG CGAAAGATCGACGAGACACTGGAACGGCTGCAGGAAGTGCAGGAG GCCACCGACGAGCTGGACCTGAAGCTGAGACAGGCCGAAGTGATCA AGGGCAGCTGGCAGCCCGTGGGCGACCTGCTGATCGACTCCCTGCA GGACCACCTGGA AAAAGTGAAGGCCCTGCGGGGCGAGATCGCCCC CTGAAAGAAAACGTGTCCACGTGAACGACCTGGCCCCGGCAGCTGA CCACCCTGGGCATCCAGCTGAGCCCCACAACTGTCCACCCTGGAA GATCTGAACACCCGGTGGAAAGCTGCTGCAGGTGGCCGTGGAAGATA GAGTGGCGCAGCTGCACGAGGCCACAGAGACTTTGGCCCTGCCAG CCAGCACTTCTGAGCACCTCTGTGCAGGGACCCTGGGAGAGAGCC ATCAGCCCCAACAAAGGTGCCCTACTACATCAACCACGAGACACAGA CCACCTGTTGGGACCACCCCAAGATGACCGAGCTGTACCAGAGCCT GGCCGACCTGAACAATGTGCGGTTACGCGCCTACCGGACCGCCATG AAGCTGAGGCGGCTGCAGAAAGCTCTGTGCCTGGATCTGCTGAGCCT GAGCGCCGCTGCGAACCCCTGGACCAGCACAACTGAAGCAGAGA GACCAGCCCATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACAAT CTACGACAGGCTGGAACAGGAACACAACAATCTGGTCAACGTGCC CTGTGCGTGGACATGTGCCTGAATTGGCTGCTGAATGTGTACGACAC CGGCCGACCGGCAGAAATCCGGGTGCTGAGCTTCAAGACCGGCATC ATCAGCCTGTGCAAGGCCACCTGGAAGATAAGTACCGCTACCTGTT CAAACAGGTGGCCAGCTCCACCGGCTTTTGGCACCAGCGGAGACTG GGCCTGCTGCTGCACGACAGCATCCAGATCCCCAGACAGCTGGGCG AGGTGGCCCTCTCGGCGGCAGCAACATTGAGCCAGCGTGCAGGAG CTGCTTCCAGTTCGCCAACAAAGCCCGAGATCGAGGCCGCCCTGT TCCTGGACTGGATGAGACTGGAACCCAGAGCATGGTGTGGCTGCC CGTGCTGCATCGGTGGCCGCTGCCGAGACAGCCAAGCACCAGGCC AAGTGCAACATCTGCAAGAGGTGCCCATCATCGGCTTCCGGTACAG AAGCCTGAAGCACTTCAACTACGATATCTGCCAGAGCTGCTTCTTCA GCGGCAGAGTGGCAAGGGCCACAAAATGCACTACCCCATGGTGA ATACTGACCCCCACCACAGCGGCGAGGATGTGCGGACTTCGCC</p>
	<p>AAGGTGCTGAAAAACAAGTTCCGGACCAAGCGGTA CTTTGCCAAGC ACCCCGGATGGGCTACCTGCCCGTGCAGACAGTGTGGAAGGCCGA CAACATGGAACCGACACCATGTGATGATGAGAAGTCTTTTCCACAT GGCAGATGAAATAAAAGATCCTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGG TTTTTTGTGTG</p>

SEQ ID NO: 148 кодирует конструкцию BXA-212371, которая аналогична конструкции BXA-027743, за исключением того, что С-конец удален.

SEQ ID NO: 149 кодирует конструкцию BXA-212372, которая аналогична BXA-212371, но с более коротким 3'UTR.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризованного дистрофина содержит или представляет собой конструкцию, показанную в табл. 9.

Аминокислотная последовательность полипептида миниатюризированного дистрофина ВХА-213788

SEQ ID NO:	Последовательность
152	MLWWEVEEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHINLFSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVLDVNI GSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLS WVRQSTRNYPQVNVINFTTSWSDGLALNALIHSRPLDFDWNNSVVCQQ SATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPKKSILMYITSLFQVLP QQVSIEAIQEVEMLPRPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQQGYERT SSPKPRFKSYAYTQAAAYVTTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEV NLDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYM MDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLEDEETEVEQEQMNLNSRWECL RVASMEKQSNLHIHTVREETMMVMTEDMPLSEISYVPSTYLTEITHVSAQ LLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQEESLKNIKDSLQSSGRIDIIHKKKT AALQSATPVERVKLQEALSQDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKW RRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKQIPENWEHAKYK WYLKELQDGIGQ RQTVVRTL NATGEEIIQQSSKTDASILQEKLGSNLNRWQEVCKQLSDRK KRLEEQKNDLAPGLTTIGASPTQT VTLVTQPVVTKETAISKLEMPSSLM LESDQWKRLHLSLQELLVWLQLKDELRSQAPIGGDFPAVQKQNDVH RAFKRELKTKPEVIMSTLETVRIFLTEQPLEGLEKLYQEPRELPEERAQ NVTRLLRKQAEVNTWEKLNLSADWQRKIDETLERLQELQEATDEL DLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSH VNDLARQLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAH RDFGPASQHFLSTS VQGPWERAISPKNVPHYINHETQTTTCWDHPKMTL YQSLADLNNVRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLLSLAACDALDQHNL KQNDQPM DILQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNPLCVDMCLNWLNVY DTGRTGRIRVLSFKTGII SLCAHLEDKYRYLQKQV ASSTGFCQRRGL LLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMR LEPQSMVWLPVLHRVAAAETA KHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNY
	DICQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRT KRYFAKHPRMGYLPVQTVLEGDNMET

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризированного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 152, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризированного дистрофина содержит или представляет собой конструкцию, показанную в табл. 10.

Аминокислотная последовательность полипептида миниатюризированного дистрофина ВХА-213780 J11V3

SEQ ID NO:	Последовательность
153	MLWWEVEEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIEENLFSDLQDG RRLDLLLEGLTGQKLPKEKGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVLDLNI GSTDIVDGNHKLTLGLIWNILHWQVKNVMKNIMAGLQQTNSEKILLS WVRQSTRNYPQVNVINFTTSDGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQQ SATQRLEHAFNIARYQLGIEKLLDPEDVDTTYPDKKSILMYITSLFQVLP QQVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQQITVSLAQGYERT SSPKPRFKSYAYTQAAYVTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSLMSEV NLDRYQTALEEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYM MDLTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLEDEETEVEQEQMNLNSRWEC RVASMEKQSNLHRVLLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGF DQNEMLSSLQKLAVLKADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQ KTEAWLDNFARCWDNLVQKLEKSTAQISQAVTTTQPSLTQTVMETVT TVTTRQILVKHAQEELPPPPQKKRQITVDSEIHTVREETMMVMTEDM PLEISYVPSTYLTEITHVSQLLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQEEESLK NIKDSLQSSGRIDIHSSKKAALQSATPVERVKLQEALSQDLDFQWEKV NKMYKDRQGRFDRSVEKWRRFHYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENW EHAKEYKWLKELQDGIGQRQTVVRTL NATGEEIIQSSKTDASILQEK GSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQLERLQELQEATDELCLKLRQAEVI KGSWQPVGDLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLARQLTT LGIQLSPYNLSTLEDLNRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHF LSTSVQGPWERAI SPNKVPYINHETQTTCWDHPKMTELYQSLADLNN VRFSAYRTAMKLRRLQKALCLDLSLSAACDALDQHNLKQNDQPMDI LQIINCLTTIYDRLEQEHNNLVNVPLCVDMLNWLNVYDTGRTGRIRV LSFKTGII SLCAHLEDKYRYLQVASFSTGFCDQRRLLGLLHDSIQIPR QLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAALFLDWMRLEPQSMVWL PVLHRVAAAETA KHQAKCNICKECP IGFYRSLKHFNYDICQSCFFSGR
	VAKGHKMHYPMVEYCTPTTSGEDVRDFAKVLKNKFRTRKRYFAKHPR MGYLPVQTVLEGDNMET

SEQ ID NO: 153 кодирует конструкцию ВХА-213780J11V3, которая аналогична конструкции ВХА-196477, за исключением того, что аминокислоты А и Q внутреннего линкера SEAQ (SEQ ID NO: 74), а также последние три аминокислоты на С-конце удалены в ВХА-213780J11V3.

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризированного дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 153, где аминокислотная последовательность при экспрессии обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью.

В некоторых вариантах осуществления миниатюризированный дистрофин ВХА-213780 J11V3 может кодироваться нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 11.

Нуклеотидная последовательность полипептида миниатюризированного дистрофина ВХА-213780J11V3

SEQ ID NO:	Последовательность
154	<p>atgctgtggtgggaggaagtggaagattgctacgagcgcgaggacgtgcagaagaaaccttaccaaatggg tgaaccccagttcagcaagttcggcaagcagcacatcgagaacctgttcagcgcacctgcaggacggcagacg cctgtctggacctgtggaaggcctgaccggccaagaagctgcccagaagaggcagaccagagtgacacg cctggaacaactggaacaaggccctgagggtgctgcagaacaacaactggacctgggtgaactcggcagcac cgacatcgtggacggcaaccacaagctgacctgggctgatctggaacatcatcctgcactggcaggtcaaaa acgtgatgaagaacatcgtgcccggcctgcagcagaccaacagcgagaagatcctgctgagctgggtgccc gagcaccggaaactacccccaggtcaactgatcaactcaccacctctggagcgcagcggcctggccctgaacg cctgatccacagccaccggcccagctgttcgactggaacagcgtgctgtccagcagagcgcaccaccagcg gttggaaacacgcttcaatatgccagataccagctgggcatcgagaagctgctgatcccaggacgtggaca ccactacccgacaagaatccatcctgatgtatatcaccagcctgttccaggtgctgcccagcaggtgtccat cgagccatccaggaagtggaaatgctgcccagacccccagaagtaccaaagaggaaacttccagctgcac caccagatgactacagccagcagatcacctgtccctggcccaggctacgagagaaccagcagccccaag ccccgttcaagagtactacccatataccagggcgcctacgtgaccaccagcagcctaccagaagccattccc cagccagcatctggaagccccgaggacaagagcttcggcagcagcctgatggaagcgaagtgaacctgga cagataccagaccctggaaagaggtgctgagctgctgagcgcaggatacactcagggctcaggg cgagatcagcaacgacgtggaagctggaagaccagttccacaccacgagggtacatgatggacctgaca gcccaccagggcagagtgggcaacatcctgcagctgggctccaagctgacggcaccggcaagctgagcag gacgaagagacagaggtgctgaggaacagatgaacctgctgaacagcagatgggagtgctgctgggtggccag catggaagcagagcaacctgcatagggtcctgctgaaagtggcagcgcctgaccgaggaacagctgctgta gcccctgctgctgcgagaaaggacgccgtgacaagatccacaccaccggcttcaaggaccagacgaga</p> <p>tgctgagcagcctgcagaaactggcctgctgaaaggccagcctggaaaaaagaaagcagtcctatgggcaagct gtactcctgaaagcaggacctgtgtccacctgaaagaacaagagcgtgacccagaaaaccgaggcctggctg gacaactcggcgtgctgggacaacctggctgcaagctggaaaagtcaccgccagatctcccaggccg tgaccacaacacagcccagcctgaccagaccaccctgatggaaccctgacaacagtgaccaccgggaac agatcctctgaaagcagcccaggaagaactccccctccacccccagaagaaacggcagatcacagtg acagtgaaatccacaccgtgcccgaagagacaatgatgtcatgacagaggacatgcccctggaaatcagctac gcccagcaccctacctgaccagatcccatgtgcccaggcctgctggaagtggaaacagcctgctgaacct ccccgacctgtgcccgaagattcgaggacctgtcaagcaggaaagagcctggaagaatcaaggatagcc tgcaagcagcagcggccgacatcatccacagcaaaaaagcccctgcagagcgcacccccc gtggaagagtgaaactgcaggaagcctgtcccagctggacttcagtgaggagaaagtgaacaaaatgtaca ggaccggcagggcagattcagccgagcctggaagagtgccgctgctccactacgacatcaagatctcaac cagtggtgacagagccgagcagttctgaaagaccagatccccgagaactgggagcagcccaagtac aagtggatctgaaagagctgcagacggcagcggccagagacagacagctgctgcccctgaaatgccaccg gcgaggaatcaccagcagcaagaccagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc gctgctgagcaggaagtgtgcaagcagctgtccagcaggaagagcggctggaagaacagcctggaacgctgc aggaaactgcagggaccaccagcagctggacctgaaactgagcagcggcgaagtgatcaaggcagctgg cagccagtgggcagcctgctgactcctgcaggacctgtgaaaaagtgaaggccctgagagggcagaga tcgccccctgaaagaaaactgtcccacgtgaacacctggcccggcagctgacaacactgggcttccagctg agcccctacaacctgagcactggaaatctgaaacaccggtggaagctgctgcaagtgccctggaagata gagtgccgagctgcagagggccacagagatgtggcctgctcccagcacttctgagcaccagctgctgag ggcccttgggagagagcctatccctcaacaaggtgcccctactacatcaaccacgagacacagcactgtg ggaccaccacaagatgaccgagctgaccagcctggctgacctgaaacagctgctgctgagcagcctaccgg accgcatgaaagctgaggagactgcagaaagctctgctgctgagctgctgctcctgtcccccctgtgatcc ctggaccagcacaatctgaagcagaacgaccagccatggatatcctgcagatcatcaactgctgaccaccatc tacgaccggctggaacaggaacasaacaatctctgtaacgtgcccctgctgctggacatgtcctgaaatggctg ctgaaatgtgacgaccggccgacagcgggatcagagtgctgctcctcaagaccggcatcatcagcctgtg caaagcccacctggaagataagtaccggtatctgttcaaacaggtggcctctagcaccggctttggaccagag aaggctggcctgctgctgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc agcaacatcagcctagcctgctgagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc cctggactgagactggaaccccagagcagctggtgctgcccctgctgcatagagtgccgctgcccag acagccaagcaccaggaagtgaacatctgcaagagtgcccacatcagccttccgtacagaagcctgaa gcactcaactacgatatctgcagagctgttcttcagcggcagggctggccaaaggcccaaaaatgactacc catggtggaatcctgccccaccacaagcggcagagatgtcgggatttcgcaaggtgctgaaaaacaagt tccggaccaagcggctacttcccaaacccccggatgggctacctgctgctgagcagctgctggaaggcga caacatggaaactcgaGAAGTCTTTTCACATGGCAGATGAAATAAAAGATC CTTATTTTCATTGGATCTGTGTGTTGGTTTTTGTGTG</p>

В некоторых вариантах осуществления полипептид миниатюризированного дистрофина имеет соединительный участок между шарнирным 2 (H2) доменом и доменом спектринового повтора 16 R16 (R16), который содержит аминокислотную последовательность, указанную в табл. 12.

Таблица 12

Аминокислотные последовательности соединительных участков

SEQ NO	ID	Последовательность
NO: 155		LPPPPPQKKRQITVDIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 156		LPPPPPQKKRQITVDSIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 157		LPPPPPQKKRQITVDSEIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 158		LPPPPPQKKRQITVDQIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 159		LPPPPPQKKRQITVDAQIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 160		LPPPPPQKKRQITVIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 161		LPPPPPQKKRQITVDHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 162		LPPPPPQKKRQITVHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 163		LPPPPPQKKRQITVDSQIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 164		LPPPPPQKKRQITVDSHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 165		LPPPPPQKKRQITVQIHTVREETMMVMTEDMPLEI
NO: 166		QKKRQITVDSEAQIHTVREETMMV

В других вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина, включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 133-149, где полипептид миниатюризованного дистрофина при экспрессии нуклеотидной последовательности обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В других вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина, включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 133 (BXA-196477), SEQ ID NO: 134 (BXA-196473), SEQ ID NO: 135 (BXA -196474), SEQ ID NO: 136 (BXA-196475), SEQ ID NO: 137 (BXA-196476), SEQ ID NO: 139 (BXA-196478), SEQ ID NO: 140 (BXA-196479), SEQ ID NO: 148 (BXA-212371) или SEQ ID NO: 149 (BXA-212372). В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина, включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 133, где полипептид миниатюризованного дистрофина при экспрессии нуклеотидной последовательности обладает по меньшей мере одной дистрофиновой активностью. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид миниатюризованного дистрофина, включает последовательность нуклеиновой кисло-

96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 99-100 в комбинации, где аминокислотная последовательность включает SEQ ID NO: 74-75 в комбинации (SEAQIHTVREE TMMVMTEDEMP LEI).

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую последовательность SEQ ID NO: 75 (IHTVREE TMMVMTEDEMP LEI), где молекула нуклеиновой кислоты по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 100 (ATCCACCGTGCAGGAAAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCTGGA AATC).

В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность может использоваться в качестве линкера, соединяющего один или несколько доменов дистрофина. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяет первый домен дистрофина и второй домен дистрофина. В некоторых вариантах осуществления первый и второй домен дистрофина, которые могут быть соединены, представляют собой домен R1 и домен R16. В других вариантах осуществления первый и второй домен дистрофина, которые могут быть соединены, представляют собой домен R3 и домен R16. В других вариантах осуществления первый и второй домен дистрофина, которые могут быть соединены, представляют собой домен H2 и домен R16.

В некоторых вариантах осуществления изобретение включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 99 (AGTGAAGCTCAG).

В некоторых вариантах осуществления изобретение включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 100 (ATCCACCGTGCAGGAAAGAGACAATGATGGTCATGACAGAGGACATGCCCTG GAAATC).

В некоторых вариантах осуществления изобретение включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 99 и 100 в комбинации, (AGTGAAGCTCAGATCCACCGTGCAGGAAAGAGACAATGATGGTCATGACAGA ACATGCCCTGGAAATC).

В некоторых вариантах осуществления линкер помещен в полипептид миниатюризованного дистрофина, описанный в данном документе, путем соединения двух доменов полипептида миниатюризованного дистрофина (например, доменов H2 и R16). В некоторых вариантах осуществления линкер расположен между доменами H2 и R16 в полипептиде миниатюризованного дистрофина, содержащем ABD1-H1-R1-R3-H2-L-R16-R17-R24-H4-CR-C конц, где ABD1 представляет собой актин-связывающий домен 1, H1 представляет собой шарнирный 1 домен, R1 представляет собой домен спектринового повтора 1, R3 представляет собой домен спектринового повтора 3, H2 представляет собой шарнирный 2 домен, L представляет собой линкер, например, SEQ ID NO: 74 или SEQ ID NO: 75 (или оба в комбинации) (или последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична данным последовательностям), R16 представляет собой домен спектринового повтора 16, R17 представляет собой домен спектринового повтора 17, R24 представляет собой домен спектрина 24, H4 представляет собой шарнирный 4 домен, CR представляет собой богатый цистеином домен и С-конец представляет собой необязательный С-концевой домен (или его часть). Настоящее изобретение также обеспечивает линкер, содержащий IHTVREETMVMTEDEMPLEI (SEQ ID NO: 84). В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 75 (IHTVREETMVMTEDEMPLEI) (или последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентична последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 84 (IHTVREETMVMTEDEMPLEI)), помещают в описанный в данном документе

полипептид миниатюризованного дистрофина путем соединения двух доменов полипептида миниатюризованного дистрофина (например, доменов R1 и R16). В некоторых вариантах осуществления линкер расположен между доменами R1 и R16 в полипептиде миниатюризованного дистрофина, содержащем ABD1-H1-R1-L-R16-R17-H3-R23-R24-H4-CR-C конц, где ABD1 представляет собой активизирующий домен 1, H1 представляет собой шарнирный 1 домен, R1 представляет собой домен спектринового повтора 1, L представляет собой линкер, например, SEQ ID NO: 84, R16 представляет собой домен спектринового повтора 16, R17 представляет собой домен спектринового повтора 17, H3 представляет собой шарнирный 3 домен, R23 представляет собой домен спектрина 23, R24 представляет собой домен спектрина 24, H4 представляет собой шарнирный домен 4, CR представляет собой богатый цистеином домен и C-конец представляет собой C-концевой домен (или его часть).

5.3.3. Некодирующие полинуклеотиды

В некоторых аспектах в данном документе обеспечены молекулы нуклеиновой кислоты, например, ДНК или РНК, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид миниатюризованного дистрофина.

В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе молекулы нуклеиновой кислоты содержат некодирующие компоненты. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе молекулы нуклеиновой кислоты содержат промоторы. Некоторые служащие примерами регуляторные последовательности для экспрессии в клетках-хозяевах млекопитающих включают вирусные элементы, которые обеспечивают высокие уровни экспрессии белков в клетках млекопитающих, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные от цитомегаловируса (CMV), вакуолизирующего обезьяньего вируса 40 (SV40), аденовируса (например, аденовирусный основной поздний промотор (AdMLP)) и вируса полиомы. В качестве альтернативы, могут применяться невирусные регуляторные последовательности, такие как промотор убиквитина или промотор бета-глобина. Дополнительно, регуляторные элементы, состоящие из последовательностей из других источников, такие как промоторная система SRa, которая содержит последовательности из раннего промотора SV40 и длинного концевой повтора вируса Т-клеточной лейкемии 1 типа (Takebe, Y. et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8: 466-472). В некоторых вариантах осуществления регуляторная последовательность содержит тканеспецифический промотор. В некоторых вариантах осуществления тканеспецифический промотор управляет экспрессией интересующего гена в ткани, выбранной из группы, состоящей из сердца, печени, легких, глаз, нервной системы, лимфатической системы, центральной и нервной системы, нервных клеток, мышечных и стволовых клеток. В некоторых вариантах осуществления промоторы, раскрытые в данном документе, представляют собой тканеспецифические промоторы. В некоторых вариантах осуществления промотор управляет экспрессией терапевтического белка в гепатоцитах, мышечных клетках, эндотелиальных клетках, синусоидальных клетках или нейрональных клетках или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления промотор выбран из группы, состоящей из промотора гена синапсина 1, промотора тиретина мыши (mTTR), промотора эндогенного фактора VIII человека (F8), промотора альфа-1-антитрипсина человека (hAAT), минимального промотора человеческого альбумина, промотора мышечного альбумина, промотора тристетрапролина (TTP), промотора CASI, промотора CAG, промотора цитомегаловируса (CMV), промотора α 1-антитрипсина (AAT), промотора мышечной креатинкиназы (MCK), промотора тяжелой цепи миозина альфа (α MHC), промотора миоглобина (MB), промотора десмина (DES), промотора SPc5-12, промотора 2R5Sc5-12, промотора dMCK, промотора tMCK, промотора а-синуклеина и промотора фосфоглицераткиназы (PGK).

В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе молекулы нуклеиновой кислоты содержат интронную последовательность. В некоторых вариантах осуществления интронная последовательность расположена в направлении 5' от нуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид миниатюризованного дистрофина. В некоторых вариантах осуществления интронная последовательность расположена в направлении 3' от промотора. В некоторых вариантах осуществления интронная последовательность включает синтетическую интронную последовательность.

В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе молекулы нуклеиновой кислоты содержат посттранскрипционный регуляторный элемент. В некоторых вариантах осуществления посттранскрипционный регуляторный элемент расположен в направлении 3' от нуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид миниатюризованного дистрофина. В некоторых вариантах осуществления посттранскрипционный регуляторный элемент содержит мутантный посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита сурка (WPRE), сайт связывания микроРНК или целевую последовательность ядерной ДНК, или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления молекулы нуклеиновой кислоты, раскрытые в данном документе, содержат 3'UTR-поли(А) хвостовую последовательность. В некоторых вариантах осуществления 3'UTR-поли(А) хвостовая последовательность выбрана из группы, состоящей из поли(А) bGH, поли(А) актина, поли(А) гемоглобина и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления 3'UTR-поли(А) хвостовая последовательность включает поли(А) bGH.

В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе молекулы нуклеиновой ки-

слоты содержат энхансерную последовательность. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе молекулы нуклеиновой кислоты содержат первый инвертированный концевой повтор (ITR) и/или второй ITR. В некоторых вариантах осуществления первый ITR и второй ITR идентичны. В некоторых вариантах осуществления первый ITR и/или второй ITR получены из аденоассоциированного вируса. В некоторых вариантах осуществления первый ITR получен из аденоассоциированного вируса и второй ITR получен из аденоассоциированного вируса.

Далее признается, что молекула нуклеиновой кислоты может содержать дополнительные элементы, которые способствуют трансляции полипептида. Такие последовательности включают, например, последовательности Козак (Kozak), присоединенные к 5'-концу полипептида, кодирующего полинуклеотид. Консенсусная последовательность Козак представляет собой последовательность, которая встречается на эукариотической мРНК, которая играет роль в инициации процесса трансляции и имеет консенсус (gee)gccRccAUGG (SEQ ID NO: 150); где (1) строчная буква обозначает наиболее распространенное основание в позиции, где основание, тем не менее, может изменяться; (2) заглавные буквы указывают на высококонсервативные основания, то есть последовательность AUGG является постоянной или редко, если вообще, изменяется, за исключением кода неоднозначности IUPAC 'R', который указывает, что в данной позиции обычно наблюдается пурин (аденин или гуанин); и (3) последовательность в скобках ((gee)) имеет неопределенное значение.

В одном неограничивающем варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты включает функциональный вариант последовательности Козак или его фрагмент. Функциональный вариант последовательности Козак или его фрагмент сохранит способность увеличивать трансляцию белка по сравнению с уровнем трансляции с последовательности, лишенной лидерной последовательности. Такой функциональный фрагмент может содержать по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40 непрерывных нуклеотидов последовательности Козак или последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 150 или SEQ ID NO: 151 (gccaccATGG). Альтернативно, функциональный вариант может включать по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с последовательностью Козак или последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 150 или SEQ ID NO: 151.

5.3.4. Гетерологичные фрагменты

В некоторых вариантах осуществления полипептиды по настоящему изобретению могут дополнительно содержать дополнительный элемент, например, гетерологичный фрагмент. Такие элементы могут способствовать экспрессии полипептида, способствовать секреции полипептида, улучшать стабильность полипептида, обеспечивать более эффективную очистку полипептида и/или модулировать активность полипептида. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный фрагмент представляет собой фрагмент полипептида. В других вариантах осуществления гетерологичный фрагмент представляет собой неполипептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит гетерологичный фрагмент, слитый с полипептидом.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения полипептид, описанный в данном документе, включает один или несколько дополнительных гетерологичных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления гетерологичные фрагменты представляют собой фрагменты, увеличивающие период полужизни. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный фрагмент включает альбумин или его фрагмент, Fc-область иммуноглобулина, C-концевой пептид (СТР) β -субъединицы хорионического гонадотропина человека, последовательность PAS, последовательность НАР, трансферрин или его фрагмент, или альбумин-связывающий фрагмент, или его производное, или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды, раскрытые в данном документе, содержат один или несколько дополнительных гетерологичных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления гетерологичные фрагменты представляют собой фрагменты, увеличивающие период полужизни. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный фрагмент включает альбумин, константную область иммуноглобулина или ее часть, иммуноглобулин-связывающий полипептид, иммуноглобулин G (IgG), альбумин-связывающий полипептид (ABP), фрагмент PASилирования, фрагмент HESилирования, ХТЕН, фрагмент ПЭГилирования или область Fc, или любую их комбинацию.

5.4. Клетки

В определенных аспектах в данном документе обеспечены клетки (например, клетки-хозяева), экспрессирующие (например, рекомбинантно) белки, описанные в данном документе, и векторы экспрессии, содержащие нуклеотиды, кодирующие белки, описанные в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит молекулы нуклеиновой кислоты, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит векторы, описанные в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин выбрана из группы, состоящей из клетки млекопитающего, клетки насекомого, дрожжевой клетки, трансгенной клетки млекопитающего и клетки растения. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой прокариотическую клетку. В некоторых вариантах осуществления прокариотическая клетка представляет собой бактериальную

клетку.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего. Такие клетки-хозяева млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки CHO, VERO, BHK, Hela, MDCK, HEK293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT2O и T47D, NS0 (линия клеток миеломы мыши, которая не продуцирует эндогенно цепи иммуноглобулина), CRL703O, COS (например, COS1 или COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, BW, LM, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10, HBK, NSO, HT1080 и HsS78Bst.

5.5. Векторы.

5.5.1. Аденоассоциированный вирус (AAV).

5.5.1.1. Обзор

В данном документе обеспечиваются векторы (например, векторы экспрессии), содержащие молекулы нуклеиновых кислот, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие миниатюризованный белок дистрофина, для рекомбинантной экспрессии в клетках-хозяевах и клетках, представляющих собой цель терапевтического вмешательства. Используемый в данном документе термин "вектор" предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной переносить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана; или объекта, содержащего такую молекулу нуклеиновой кислоты, способную переносить другую нуклеиновую кислоту. Одним типом вектора является "плазида", которая обозначает кольцевую петлю двухцепочечной ДНК, в которую можно лигировать дополнительные сегменты ДНК. Другим типом вектора является вирусный вектор, в котором дополнительные сегменты ДНК можно лигировать в вирусный геном. Конкретные векторы или полинуклеотиды, которые являются частью векторов, являются способными к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, обладающие бактериальной точкой начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, не эписомальные векторы млекопитающих) можно интегрировать в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, таким образом, они реплицируются вместе с геномом хозяина. Кроме того, конкретные векторы способны управлять экспрессией генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы обозначены в данном документе как "рекомбинантные экспрессионные векторы" (или просто "экспрессионные векторы"). Как правило, экспрессионные векторы для использования в способах рекомбинантной ДНК часто присутствуют в форме плазмид. В настоящем описании термины "плазида" и "вектор" можно иногда использовать как взаимозаменяемые, в зависимости от контекста, так как плазида является наиболее общепринятой формой вектора. Однако в данном документе также раскрыты другие формы экспрессионных векторов, такие как вирусные векторы (например, дефектные по репликации ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые выполняют эквивалентные функции. В некоторых вариантах осуществления раскрытые в данном документе полинуклеотиды экспрессируются с помощью аденоассоциированного вируса (AAV). AAV представляет собой одноцепочечный ДНК-вирус без оболочки, относящийся к семейству Parvoviridae. В отличие от большинства других членов семейства Parvoviridae, AAV является дефектным по репликации и способен эффективно реплицироваться только в присутствии вируса-помощника, такого как аденовирус или вирус герпеса. Впервые AAV был обнаружен в середине 1960-х годов как контаминант вирусных препаратов аденовируса. См. Atchison R W, Casto B C, HAMMON W M. *Science*. 149(3685), 754-756 (1965). С тех пор были разработаны более безопасные и более эффективные способы использования AAV в качестве вектора рекомбинантной ДНК. См., например, Hermonat P.L. and Muzyczka N. *Proc Natl Acad Sci USA*. 81(20), 6466-6470 (1984). 3. Laughlin C.A., et al. *Gene*, 23(1), 65-73 (1983). Matsushita T., et al. *Gene Ther*. 5(7), 938-945 (1998). Xiao X., et al. *Journal of Virology*. 72(3), 2224-2232 (1998). Было показано, что небольшое количество геномов AAV интегрируется в хромосому хозяина. См. Cheung AK, Hoggan MD, Hauswirth WW, et al. *Integration of the adeno-associated virus genome into cellular DNA in latently infected human detroit 6 cells*. *J Virol* 1980; 33:739-748. AAV иммунологически отличается от любого известного аденовирусного антигена. Капсид AAV содержит геном одноцепочечной ДНК (оцДНК). См. Rose JA, Berns KI, Hoggan MD, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969;64:863-869.

AAV имеет одноцепочечный ДНК-геном размером 4,7 т.п.н., кодирующий ген репликации (*rep*) и гены капсидирующих белков (*cap*), фланкированные двумя инвертированными концевыми повторами (ITR). Он преимущественно не интегрируется и образует стабильные эписомы в неделяющейся ткани. Несмотря на высокую распространенность серотипа среди взрослого населения, AAV не был связан с какими-либо заболеваниями у человека. См. Gonçalves, M. *Viol. J.* 2, 43 (2005). Стабильная экспрессия AAV в тканях, отсутствие патогенности и простота получения высоких титров сделали его очень привлекательным вектором и популярной платформой для переноса генов.

Рекомбинантный AAV (rAAV) представляет собой генетически модифицированный AAV, в котором обычно часть генов *rep* и *cap* или все гены *rep* и *cap* заменены гетерологичными трансгенными последовательностями. Рекомбинантные AAV также могут запускать долговременную экспрессию трансгенов в постмитотических клетках, скорее всего, потому, что геном рекомбинантного AAV сохраняется в значительной степени в виде кольцевых эписом в ядре. Единственным дис-действующим элементом ДНК у rAAV, необходимым для продукции rAAV, являются инвертированные концевые повторы (ITR)

AAV, тогда как гены гер, сар и аденовирусные гены-помощники могут быть обеспечены в транс-положении. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, раскрытых в данном документе, гAAV содержат только гетерологичную трансгенную ДНК, фланкированную ITR-последовательностями, и данный геном инкапсидирован внутри серотип-специфичного капсида AAV.

AAV обладает уникальными признаками, которые делают его привлекательным в качестве векторной системы для доставки чужеродной ДНК в клетки. Инфекция клеток в культуре AAV, как правило, не является цитопатической, и естественное инфицирование людей и других животных протекает незаметно и бессимптомно. Более того, AAV инфицирует множество различных типов клеток млекопитающих, что дает возможность воздействовать на многие различные ткани *in vivo*. AAV также обладает дополнительными преимуществами, которые делают его особенно привлекательной вирусной системой для доставки генов, включая стимулирование иммунного ответа, который является относительно мягким по сравнению с другими формами доставки генов, и постоянную экспрессию как в делящихся, так и в покоящихся клетках на основе неинтегрирующейся, эписомальной векторной ДНК. Кроме того, AAV выдерживает условия, используемые для инактивации аденовируса (от 56 до 65°C в течение нескольких часов), что делает холодную консервацию вакцин на основе гAAV менее критичной.

Репликация вирусной ДНК не требуется для интеграции в геном клетки-хозяина, и, следовательно, для данного процесса не требуется вирус-помощник. Провирусный геном AAV является инфекционным подобно клонированной ДНК в плаزمиде, что делает возможным создание рекомбинантных геномов. Более того, поскольку сигналы, управляющие репликацией, инкапсидацией и интеграцией генома AAV, содержатся в ITR генома AAV, внутренние приблизительно 4,7 т.п.н. генома (кодирующие белки репликации и структурные белки капсида, гер-сар) могут быть заменены чужеродной ДНК, такой как кассета экспрессии гена, содержащая промотор, представляющую интерес ДНК и сигнал полиаденилирования.

Векторы AAV могут включать дополнительные элементы, которые функционируют в цис- или транс-положении. В конкретных вариантах осуществления вектор AAV, который включает векторный геном, также имеет одну или несколько последовательностей инвертированных концевых повторов (ITR), которые фланкируют 5'- или 3'-конец донорной последовательности; элемент контроля экспрессии, который управляет транскрипцией (например, промотор или энхансер) донорной последовательности, такой как конститутивный или регулируемый элемент управления, или элемент контроля тканеспецифической экспрессии; последовательность интрона, полинуклеотидная последовательность-наполнитель; и/или полиадениновая последовательность, расположенная на 3' конце донорной последовательности. В некоторых вариантах осуществления AAV реплицируется с помощью вируса-помощника. Ряд таких вирусов-помощников для AAV известны из уровня техники, включая аденовирусы, герпивирусы и поксвирусы, такие как вирус коровьей оспы. Аденовирусы охватывают много различных подгрупп, хотя обычно используется аденовирус типа 5, подгруппы С. Многочисленные аденовирусы человека, не относящиеся к человеку млекопитающих и птиц известны и доступны из депозитариев, таких как ATCC. Вирусы семейства герпеса включают, например, вирусы герпеса простого (HSV) и вирусы Эпштейн-Барра (EBV), а также цитомегаловирусы (CMV) и вирусы псевдобешенства (PRV); которые также доступны из депозитариев, таких как ATCC.

Типичные векторы AAV включают последовательности капсидных белков любого из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, Rh10, Rh74 или AAV-2i8, или варианта капсидного белка AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, Rh10, Rh74 или AAV-2i8. Рекомбинантные векторы AAV по изобретению также включают AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, Rh10, Rh74 или AAV-2i8 и их варианты. Конкретные варианты капсидных белков включают варианты капсидных белков AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, Rh10, Rh74 или AAV-2i8, такие как последовательность капсидного белка с аминокислотной заменой, делецией или вставкой/добавлением. В одном варианте осуществления вектором AAV является AAV9.

В некоторых аспектах изобретение относится к AAV, обладающим различными способностями в отношении поражения тканей (например, тканевыми тропизмами). В некоторых вариантах осуществления капсидные полипептиды вариантов AAV дополнительно проявляют повышенную трансдукцию или тропизм в одном или нескольких типах стволовых клеток человека по сравнению с невариантными родительскими капсидными полипептидами. В некоторых вариантах осуществления типы стволовых клеток человека включают, но не ограничиваются ими, эмбриональные стволовые клетки, стволовые клетки взрослой ткани (т.е. соматические стволовые клетки), стволовые клетки костного мозга, клетки-предшественники, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и репрограммированные стволовые клетки. В некоторых вариантах осуществления взрослые стволовые клетки могут включать органоидные стволовые клетки (т.е. стволовые клетки, полученные из любого интересующего органа или системы органов в организме). В некоторых вариантах осуществления целевая ткань AAV представляет собой гонаду, диафрагму, сердце, желудок, печень, селезенку, поджелудочную железу, мышцы или почки. В некоторых вариантах осуществления AAV нацелен на органы тела, которые включают, но без ограничения, кожу, волосы, ногти, сенсорные рецепторы, потовую железу, сальные железы, кости, мышцы, головной мозг, спинной мозг, нерв, гипофиз, шишковидную железу, гипоталамус, щитовидную железу,

паразитовидную железу, тимус, надпочечники, поджелудочную железу (островковую ткань), сердце, кровеносные сосуды, лимфатические узлы, лимфатические сосуды, тимус, селезенку, миндалины, нос, глотку, гортань, трахею, бронхи, легкие, рот, глотку, пищевод, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, прямую кишку, анальный канал, зубы, слюнные железы, язык, печень, желчный пузырь, поджелудочную железу, аппендикс, почки, мочеточники, мочевой пузырь, уретру, яички, семявыносящий проток, мочеиспускательный канал, простату, половой член, мошонку, яичники, матку, маточные (фаллопиевы) трубы, влагалище, вульву и молочные железы (груды). Системы органов тела включают, но не ограничиваются ими, покровную систему, скелетную систему, мышечную систему, нервную систему, эндокринную систему, сердечно-сосудистую систему, лимфатическую систему, дыхательную систему, пищеварительную систему, мочевыделительную систему и репродуктивную систему. В некоторых вариантах осуществления трансдукция и/или тропизм AAV с вариантными полипептидами капсида увеличивается на около 5, около 10, около 15, около 20, около 25, около 30, около 35, около 40, около 45, около 50, около 55, около 60, 65, около 70, около 75, около 80, около 85, около 90, около 95, около 99 или около 100% по сравнению с AAV, имеющим невариантные полипептиды капсида. В некоторых вариантах осуществления трансдукция и/или тропизм увеличиваются от около 5 до около 80%, от около 10 до около 70%, от около 20 до около 60% или от около 30 до около 60%.

5.5.1.2. Гены репликации, капсида и сборки AAV

Однопочечный геном AAV включает три гена: гер (репликация, от слова Replication), сар (капсид, от слова Capsid) и аар (сборка, от слова Assembly). Данные три гена дают начало по меньшей мере девяти генным продуктам за счет использования трех промоторов, альтернативных сайтов старта трансляции и дифференциального сплайсинга.

Ген гер кодирует четыре белка (Rep78, Rep68, Rep52 и Rep40), которые необходимы для репликации и упаковки вирусного генома.

Экспрессия гена сар приводит к образованию белков вирусного капсида (VP1; VP2; VP3), которые образуют внешнюю оболочку капсида, которая защищает вирусный геном, а также активно участвует в связывании клеток и интернализации. Подсчитано, что вирусная оболочка состоит из 60 белков, образующих икосаэдрическую структуру. Ген аар кодирует активирующий сборку белок (AAP) в альтернативной рамке считывания, перекрывающей ген сар. Считается, что данный ядерный белок обеспечивает функцию каркаса для сборки капсида и играет роль в ядрышковой локализации белков VP в некоторых серотипах AAV.

В некоторых вариантах осуществления один или более из генов гер, сар или аар встречаются в природе, например, гены гер, сар или аар включают в себя все или часть генов гер, сар или аар парвовируса. В некоторых вариантах осуществления один или несколько генов гер, сар или аар содержат синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления ген гер содержит синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления ген сар содержит синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления гены гер и сар содержат синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления гены гер и аар содержат синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления гены сар и аар содержат синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления гены гер, сар и аар содержат синтетическую последовательность.

В некоторых вариантах осуществления гер происходит из генома AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и любой их комбинации. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV1. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV2. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV3. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV4. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV5. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV6. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV7. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV8. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV9. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV10. В конкретном варианте осуществления гер происходит из генома AAV11.

В некоторых вариантах осуществления сар происходит из генома AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и любой их комбинации. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV1. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV2. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV3. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV4. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV5. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV6. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV7. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV8. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV9. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV10. В конкретном варианте осуществления сар происходит из генома AAV11.

В некоторых вариантах осуществления аар происходит из генома AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и любой их комбинации. В

конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV1. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV2. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV3. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV4. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV5. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV6. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV7. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV8. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV9. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV10. В конкретном варианте осуществления аар происходит из генома AAV11.

Следует понимать, что конкретный описанный в данном документе геном AAV может иметь гены, происходящие из разных геномов AAV (например, геномы из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 и AAV11). Таким образом, в данном документе описаны AAV, которые содержат любую возможную перестановку/комбинацию из гер, сар или аар.

В некоторых вариантах осуществления, раскрытых в данном документе, AAV представляет собой рекомбинантный AAV (гAAV). В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует один или более из гена гер, гена сар и гена аар. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген гер. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген сар. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген аар. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген гер и отсутствует ген сар. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген гер и отсутствует ген аар. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген сар и отсутствует ген аар. В некоторых вариантах осуществления в гAAV отсутствует ген гер, ген сар и ген аар.

В некоторых вариантах осуществления, раскрытых в данном документе, гAAV модифицируется таким образом, что один или более из гена гер, гена сар и гена аар мутирован так, что изменяется экспрессия одного или нескольких генов AAV. В некоторых вариантах осуществления мутирован ген гер. В некоторых вариантах осуществления мутирован ген сар. В некоторых вариантах осуществления мутирован ген аар. В некоторых вариантах осуществления мутированы ген гер и ген сар. В некоторых вариантах осуществления мутированы ген гер и ген аар. В некоторых вариантах осуществления мутированы ген сар, ген гер и ген аар.

5.5.1.3. Инвертированные концевые повторы

В некоторых вариантах осуществления AAV содержит первый ITR, например, 5' ITR, и второй ITR, например, 3' ITR. Как правило, ITR участвуют в репликации и "спасении" или вырезании из прокариотических плазмид ДНК парвовируса (например, AAV) (Samulski et al., 1983, 1987; Senapathy et al., 1984; Gottlieb and Muzyczka, 1988). Кроме того, сообщалось, что ITR являются минимальными последовательностями, необходимыми для интеграции провирусов AAV и для упаковки ДНК AAV в вирионы (McLaughlin et al., 1988; Samulski et al., 1989). Данные элементы необходимы для эффективного размножения генома парвовируса.

В некоторых вариантах осуществления ITR содержит встречающийся в природе ITR, например, ITR содержит весь или часть ITR парвовируса. В некоторых вариантах осуществления ITR содержит синтетическую последовательность. В одном варианте осуществления первый ITR или второй ITR содержит синтетическую последовательность. В другом варианте осуществления каждый из первого ITR и второго ITR содержит синтетическую последовательность. В некоторых вариантах осуществления первый ITR или второй ITR содержит последовательность, встречающуюся в природе. В другом варианте осуществления каждый из первого ITR и второго ITR содержит встречающуюся в природе последовательность. В некоторых вариантах осуществления ITR включает ITR из генома AAV. В некоторых вариантах осуществления ITR представляет собой ITR генома AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и любой их комбинации. В конкретном варианте осуществления ITR представляет собой ITR генома AAV2. В другом варианте осуществления ITR представляет собой синтетическую последовательность, созданную с помощью генной инженерии и содержащую на своих 5'- и 3'-концах ITR, полученные из одного или нескольких геномов AAV. В некоторых вариантах осуществления ITR получены из одного и того же генома, например, из генома одного и того же вируса, или из разных геномов, например, из геномов двух или более разных геномов AAV. В некоторых вариантах осуществления ITR получены из одного и того же генома AAV. В конкретном варианте осуществления два ITR, присутствующие в молекуле нуклеиновой кислоты по изобретению, являются одинаковыми и могут, в частности, быть ITR AAV2. В одном конкретном варианте осуществления первый ITR и второй ITR идентичны.

В некоторых вариантах осуществления ITR образуют структуры шпильчатой петли. В одном варианте осуществления первый ITR образует шпильчатую структуру. В другом варианте второй ITR образует шпильчатую структуру. Еще в другом варианте осуществления как первый ITR, так и второй ITR образуют шпильчатые структуры. В некоторых вариантах осуществления ITR в молекуле нуклеиновой кислоты, раскрытой в данном документе, представляет собой транскрипционно активированный ITR. Транскрипционно активированный ITR может включать весь или часть ITR дикого типа, который был транскрипционно активирован путем включения по меньшей мере одного транскрипционно активного элемента. В данном контексте подходят различные типы транскрипционно активных элементов. В некоторых вари-

антах осуществления транскрипционно активный элемент является конститутивным транскрипционно активным элементом. Конститутивные транскрипционно активные элементы обеспечивают постоянный уровень транскрипции гена и могут использоваться, когда желательно, чтобы трансген экспрессировался на постоянной основе. В других вариантах осуществления транскрипционно активный элемент представляет собой индуцируемый транскрипционно активный элемент. Индуцируемые транскрипционно активные элементы обычно проявляют низкую активность в отсутствие индуктора (или индуцирующего состояния) и активируются в присутствии индуктора (или переключаются в индуцирующее состояние). Индуцируемые транскрипционно активные элементы могут быть использованы, когда экспрессия требуется только в определенное время или в определенных местах, или когда желательно титрование уровня экспрессии с использованием индуцирующего агента. Транскрипционно активные элементы также могут быть тканеспецифичными; то есть они проявляют активность только в определенных тканях или типах клеток.

Транскрипционно активные элементы могут быть включены в ITR различными способами. В некоторых вариантах осуществления транскрипционно активный элемент включен с 5' конца в любую часть ITR или с 3' конца в любую часть ITR. В других вариантах осуществления транскрипционно активный элемент транскрипционно активированного ITR находится между двумя последовательностями ITR. Если транскрипционно активный элемент включает два или более элемента, которые должны быть разнесены, данные элементы могут чередоваться с частями ITR. В некоторых вариантах осуществления шпильчатая структура ITR удаляется и заменяется инвертированными повторами транскрипционного элемента. Данная последняя компоновка создаст шпильку, имитирующую удаленную часть в структуре. Множественные тандемные транскрипционно активные элементы также могут присутствовать в транскрипционно активированном ITR, и они могут быть смежными или разнесенными. Кроме того, сайты связывания белков (например, сайты связывания Rep) могут быть введены в транскрипционно активные элементы транскрипционно активированных ITR. Транскрипционно активный элемент может включать любую последовательность, обеспечивающую контролируруемую транскрипцию ДНК с помощью РНК-полимеразы с образованием РНК, и может содержать, например, транскрипционно активный элемент, как определено ниже.

Транскрипционно активированные ITR обеспечивают как активацию транскрипции, так и функции ITR для молекулы нуклеиновой кислоты в нуклеотидной последовательности относительно ограниченной длины, которая эффективно максимизирует длину трансгена, который может переноситься и экспрессироваться из молекулы нуклеиновой кислоты. Включение транскрипционно активного элемента в ITR может быть выполнено множеством способов. Сравнение последовательности ITR и требований к последовательности транскрипционно активного элемента может дать представление о способах кодирования элемента в ITR. Например, транскрипционная активность может быть добавлена к ITR посредством внесения определенных изменений в последовательность ITR, которая реплицирует функциональные элементы транскрипционно активного элемента. В данной области техники существует ряд способов эффективного добавления, удаления и/или изменения конкретных нуклеотидных последовательностей в определенных сайтах (см., например, Deng and Nickoloff (1992) *Anal. Biochem.* 200: 81-88). Другой способ создания транскрипционно активированных ITR включает введение сайта рестрикции в желаемое место в ITR. Кроме того, несколько транскрипционно активных элементов могут быть включены в транскрипционно активированный ITR с использованием способов, известных в данной области техники.

В качестве иллюстрации, транскрипционно активированные ITR могут быть сгенерированы включением одного или нескольких транскрипционно активных элементов, таких как: TATA-бокс, GC-бокс, CCAAT-бокс, сайт Sp1, область Inr, сайт CRE (регуляторный элемент цАМФ), сайт ATF-1/CRE, APB β -бокс, APB α -бокс, CArG-бокс, CCAC-бокс или любой другой элемент, участвующий в транскрипции, как известно в данной области техники.

5.5.1.4. Представляющий интерес ген и другие последовательности

Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способам введения AAV-терапии субъекту. В некоторых вариантах осуществления AAV содержит представляющий интерес ген (gene of interest (GOI)). В некоторых вариантах осуществления GOI является молекулой нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, описанную в данном документе, которая кодирует полипептид миниатюризованного дистрофина, описанный в данном документе.

Экспрессируемый GOI может быть либо сегментом ДНК, кодирующим белок, с любыми необходимыми элементами управления (например, промоторами, операторами), желаемыми пользователем, либо некодирующим сегментом ДНК, транскрипция которого производит всю или часть некоторой РНК-содержащей молекулы, такой как рибозим или антисмысловая молекула.

В некоторых вариантах осуществления AAV содержит более одного GOI. В AAV с более чем одним GOI некоторые варианты осуществления включают такие элементы, как IRES или 2A, для совместной экспрессии их с одного промотора. В некоторых вариантах осуществления AAV содержит два представляющих интерес гена, разделенных элементом IRES. В некоторых вариантах осуществления AAV содержит два представляющих интерес гена, разделенных элементом 2A. В некоторых вариантах осуществе-

ствления AAV содержит три представляющих интерес гена, разделенных элементом IRES между представляющими интерес генами (например, GOI-IRES-GOI-IRES-GOI). В некоторых вариантах осуществления AAV содержит три представляющих интерес гена, разделенных элементами 2A между интересующими генами. В некоторых вариантах осуществления AAV содержит регуляторную последовательность. В некоторых вариантах осуществления AAV содержит некодирующую регуляторную ДНК. В некоторых вариантах осуществления геном AAV содержит регуляторные последовательности, которые контролируют экспрессию генов цепей антитела в клетке-хозяине. Термин "регуляторная последовательность" включает промоторы, энхансеры и другие элементы контроля экспрессии (например, сигналы полиаденилирования), которые контролируют транскрипцию или трансляцию генов цепей антитела. Такие регуляторные последовательности описаны, например, в Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)). Специалистам в данной области техники будет понятно, что конструкция AAV, включая выбор регуляторных последовательностей, может зависеть от таких факторов, как выбор клетки-хозяина, подлежащей трансформации, желаемый уровень экспрессии белка и т.д. В некоторых вариантах осуществления геном AAV содержит донорные/акцепторные сайты сплайсинга мРНК. Некоторые регуляторные последовательности для экспрессии в клетках-хозяевах млекопитающих включают вирусные элементы, которые обеспечивают высокие уровни экспрессии белка в клетках млекопитающих, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные из цитомегаловируса (CMV), обезьяньего вируса 40 (SV40), аденовируса (например, аденовирусный основной поздний промотор (AdMLP) и вируса полиомы. В качестве альтернативы, можно использовать невирусные регуляторные последовательности, такие как промотор убиквитина или промотор β -глобина. Кроме того, регуляторные элементы, состоящие из последовательностей из различных источников, таких как промоторная система SRa, которая содержит последовательности из раннего промотора SV40 и длинного концевой повтора вируса лейкемии Т-клеток человека типа 1 (Takebe, Y. et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8:466-472). В некоторых вариантах осуществления регуляторная последовательность содержит тканеспецифический промотор. В некоторых вариантах осуществления тканеспецифический промотор управляет экспрессией представляющего интерес гена в ткани, выбранной из группы, состоящей из сердца, печени, легких, глаз, нервной системы, лимфатической системы, мышечных и стволовых клеток.

5.5.1.5. AAV-препараты

В некоторых вариантах осуществления AAV вектор приготовлен со средством доставки. В некоторых вариантах осуществления средство доставки включает липидную наночастицу. В некоторых вариантах осуществления средство доставки выбрано из группы, состоящей из липосом, нелипидных полимерных молекул, эндосом и любой их комбинации.

5.5.2. Векторы, не относящиеся к AAV

В данном документе также обеспечен вектор, который содержит описанные выше полинуклеотиды, функционально связанные с промотором. Нуклеотидная последовательность "функционально связана" с последовательностью контроля экспрессии (например, промотором), когда последовательность контроля экспрессии контролирует и регулирует транскрипцию и трансляцию данной последовательности. Термин "функционально связанный" применительно к нуклеотидной последовательности включает наличие соответствующего стартового сигнала (например, ATG) перед нуклеотидной последовательностью, которая должна быть экспрессирована, и поддержание правильной рамки считывания для обеспечения экспрессии последовательности под контролем последовательности контроля экспрессии и продукции желаемого продукта, кодируемого последовательностью. Если ген, который желательно вставить в молекулу рекомбинантной нуклеиновой кислоты, не содержит соответствующего стартового сигнала, такой стартовый сигнал может быть вставлен перед геном. "Вектор" представляет собой репликон, такой как плаزمид, фаг или космида, к которому может быть присоединен другой сегмент нуклеиновой кислоты, чтобы вызвать репликацию присоединенного сегмента. Промотор может быть или является идентичным промотору бактерий, дрожжей, насекомых или млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления вектор может быть плазмидой, космидой, дрожжевой искусственной хромосомой (YAC), бактериофагом или вирусной ДНК эукариот. Могут быть использованы другие многочисленные векторные остовы, известные в данной области техники как применимые для экспрессии белка. Такие векторы включают, но без ограничения: аденовирусный вектор, ретровирусный вектор, поксвирусный вектор, бакуловирусный вектор, вирусный вектор герпеса, обезьяний вирус 40 (SV40), цитомегаловирус (CMV), вирус опухоли молочной железы мыши (MMTV) и вирус мышинного лейкоза Молони. Кроме того, один класс векторов содержит элементы ДНК, полученные из вирусов, таких как вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус полиомы, бакуловирус, ретровирусы, или вирус леса Семлики. Такие векторы можно получить коммерчески или собрать из последовательностей, описанных способами, хорошо известными в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления описанный в данном документе вектор приготовлен со средством доставки. В некоторых вариантах осуществления средство доставки включает липидную наночастицу. В некоторых вариантах осуществления средство доставки выбрано из группы, состоящей из липосом, нелипидных полимерных молекул, эндосом и любой их комбинации.

5.6. Фармацевтические композиции

Различные полипептиды и полинуклеотиды, раскрытые в данном документе (также называемые в данном документе "активными соединениями"), могут быть включены в фармацевтические композиции, подходящие для введения. Такие композиции обычно содержат полипептид или полинуклеотиды и фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" предназначен для включения любых без исключения растворителей, дисперсионных сред, покрытий, антибактериальных и противогрибковых средств, изотонических средств и средств, замедляющих всасывание, и т.п., совместимых с фармацевтическим введением. Применение таких сред и средств для фармацевтически активных соединений хорошо известно в данной области техники. За исключением случаев, когда любая обычная среда или средство несовместимы с активным соединением, предполагается их применение в композициях. В композиции также могут быть включены дополнительные активные соединения.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая (a) полипептид, как описано в данном документе, и (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая (a) композицию, содержащую полипептид, как описано в данном документе, и (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая (a) полинуклеотид, как описано в данном документе, и (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая (a) вектор (например, гAAV), как описано в данном документе, и (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая (a) клетку-хозяин, как описано в данном документе, и (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Фармацевтическая композиция по настоящему описанию приготовлена таким образом, чтобы быть совместимой с предполагаемым путем введения. Примеры способов введения включают парентеральный, например, внутривенный, внутрикожный, подкожный, пероральный, трансдермальный (местный) и трансмукозальный, и любую их комбинацию. Другой путь введения включает легочное введение. Кроме того, может быть желательным введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции локально в область, нуждающуюся в лечении. Это может быть достигнуто, например, с помощью местной или региональной инфузии или перфузии во время операции, местного применения, инъекции, катетера, суппозитория или имплантата (например, имплантатов, сформированных из пористых, непористых или гелеобразных материалов, включая мембраны, такие как в виде сиаалластических мембран или волокон) и тому подобного. В другом варианте осуществления терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции доставляется в везикулах, таких как липосомы (см., например, Langer, *Science* 249: 1527-33, 1990 и Treat et al., in *Liposomes in Therapy of Infective Disease, and Cancer*, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, NY, pp. 353-65, 1989).

В еще одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции может быть доставлено в системе с контролируемым высвобождением. В одном примере можно использовать насос (см., например, Langer, *Science* 249: 1527-33, 1990; Sefton, *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 14: 201-40, 1987; Buchwald et al., *Surgery* 88: 507-16, 1980; Saudek et al., *N Engl. J. Med.* 321: 574-79, 1989). В другом примере можно использовать полимерные материалы (см., например, Levy et al., *Science* 228: 190-92, 1985; During et al., *Ann. Neural.* 25: 351-56, 1989; Howard et al., *J. Neurosurg.* 71: 105-12, 1989). Также можно использовать другие системы с контролируемым высвобождением, такие как те, которые обсуждались у Langer (*Science* 249: 1527-33, 1990).

Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил-или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол и м-крезол); полипептиды с низкой молекулярной массой (менее чем около 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбитол; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG).

Фармацевтически приемлемые носители, используемые в парентеральных препаратах, включают

водные носители, неводные носители, антимикробные средства, изотонические средства, буферы, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие средства, эмульгирующие средства, связывающие или хелатирующие средства и другие фармацевтически приемлемые вещества. Примеры водных носителей включают инъекцию хлорида натрия, инъекцию Рингера, инъекцию изотонической декстрозы, инъекцию стерильной воды, инъекцию декстрозы и инъекцию лактата Рингера. Неводные парентеральные носители включают жирные масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и арахисовое масло. Противомикробные средства в бактериостатических или фунгистатических концентрациях могут быть добавлены к парентеральным препаратам, упакованным в многодозовые контейнеры, которые включают фенолы или крезолы, ртути, бензиловый спирт, хлорбутанол, сложные эфиры метил и пропил-пара-гидроксibenзойной кислоты, тимеросал, хлорид бензалкония и хлорид бензетония. Изотонические средства включают хлорид натрия и декстрозу. Буферы включают фосфат и цитрат. Антиоксиданты включают бисульфат натрия. Местные анестетики включают гидрохлорид прокаина. Суспендирующие и диспергирующие средства включают карбоксиметилцеллюлозу натрия, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Эмульгирующие средства включают Полисорбат 80 (TWEEN® 80). Средства, связывающие ионы металлов, или хелатирующие средства, включают ЭДТА. Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешивающихся с водой носителей; и гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для регулирования pH.

Растворы или суспензии, используемые для парентерального, внутривенного или подкожного применения, могут включать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, жирные масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и средства для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. pH можно регулировать с помощью кислот или оснований, таких как соляная кислота или гидроксид натрия. Препарат для парентерального введения может быть заключен в ампулы, одноразовые шприцы или флаконы для многократных доз, изготовленные из стекла или пластика.

Фармацевтические композиции, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы (если они водорастворимы) или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, Cremophor ELS (BASF; Parsippany, NJ) или физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и жидкой до такой степени, чтобы ее можно было легко набрать с помощью шприца. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибки. Носитель может быть растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси. Подходящую текучесть можно поддерживать, например, за счет использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и за счет использования поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может быть достигнуто с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. Во многих случаях будет предпочтительно включать в композицию изотонические средства, например, сахара, многоатомные спирты, такие как маннит, сорбит, хлорид натрия. Пролонгированное всасывание композиций для инъекций может быть достигнуто путем включения в композицию средства, замедляющего абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем включения активного соединения в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием. Обычно дисперсии готовят путем включения активного соединения 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 способами приготовления могут быть вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его раствора, предварительно стерилизованного фильтрованием. Для введения путем ингаляции соединения доставляются в форме аэрозольного спрея из находящегося под давлением контейнера или дозатора, который содержит подходящий пропеллент, например, газ, такой как диоксид углерода, или распылитель. Системное введение также может осуществляться через слизистые оболочки или через кожу. Для трансмукозального или чрескожного введения в составе используются пенетранты, подходящие для проницаемого барьера. Такие пенетранты обычно известны в данной области техники и включают, например, средства для трансмукозального введения, детергенты, соли желчных кислот и производные фузидовой кислоты. Трансмукозальное введение может

осуществляться с помощью назальных спреев или суппозиториев. Для чрескожного введения активные соединения включают в состав мазей, мазей, гелей или кремов, как это обычно известно в данной области техники. Соединения также могут быть приготовлены в форме суппозиториев (например, с обычными суппозиториевыми основами, такими как масло какао и другие глицериды) или удерживающих клизм для ректальной доставки.

В одном варианте осуществления активные соединения получают с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого выведения из организма, например, состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микрокапсулированные системы доставки. Могут использоваться био-разлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфир и полимолочная кислота. Способы приготовления таких составов будут очевидны специалистам в данной области техники. Материалы также можно коммерчески получить от Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. Липосомные суспензии также можно использовать в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Их можно приготовить способами, известными специалистам в данной области техники, например, как описано в патенте США № 4522811. Особенно предпочтительно составлять композиции для перорального или парентерального введения в виде единичной дозированной формы для простоты введения и единообразия дозировки. Единичная дозированная форма, как используется в данном документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъекта, подлежащего лечению, с каждой единицей дозирования, содержащей заранее определенное количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификация стандартных дозированных форм по настоящему описанию продиктована и напрямую зависит от уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, а также ограничений, присущих области создания такого функционального соединения для лечения индивидуумов. Фармацевтические композиции могут быть включены в контейнер, упаковку или дозатор вместе с инструкциями по применению.

5.7. Применение и способы.

5.7.1. Способы производства миниатюризированного дистрофина

В настоящем изобретении также раскрыты способы получения полипептида миниатюризированного дистрофина, включающие: культивирование клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, в подходящих условиях и выделение полипептида миниатюризированного дистрофина.

Используемый в данном документе термин "выделенный" полинуклеотид или молекула нуклеиновой кислоты означает молекулу, которая отделена от других молекул нуклеиновой кислоты, которые присутствуют в природном источнике (например, у мыши или человека) молекулы нуклеиновой кислоты. Более того, "выделенная" молекула нуклеиновой кислоты, такая как молекула кДНК, может быть по существу свободной от другого клеточного материала или культуральной среды при получении рекомбинантными способами или практически не содержать химических предшественников или других химических соединений при химическом синтезе. Например, выражение "по существу свободна" включает препараты полинуклеотида или молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие менее, чем около 15, 10, 5, 2, 1, 0,5 или 0,1% (в частности, менее, чем около 10%) другого материала, например, клеточного материала, питательной среды, других молекул нуклеиновых кислот, химических предшественников и/или других химикатов. В конкретном варианте осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид, описанный в данном документе, выделена или очищена.

Полинуклеотиды могут быть получены и нуклеотидная последовательность полинуклеотидов может быть определена любым способом, известным в данной области техники. Нуклеотидные последовательности, кодирующие полипептиды, описанные в данном документе, например, полипептиды, описанные в табл. 3 и 4, и модифицированные версии данных полипептидов могут быть определены с использованием способов, хорошо известных в данной области техники, то есть, нуклеотидные кодоны, которые, как известно, кодируют определенные аминокислоты, собираются таким образом, чтобы генерировать нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептиды. Такой полинуклеотид, кодирующий полипептид, может быть собран из химически синтезированных олигонуклеотидов (например, как описано в Kutmeier G et al., (1994), *BioTechniques* 17: 242-6), что, вкратце, включает синтез перекрывающихся олигонуклеотидов, содержащих части последовательности, кодирующей полипептид, отжиг и лигирование данных олигонуклеотидов и затем амплификацию лигированных олигонуклеотидов с помощью ПЦР.

В качестве альтернативы, полинуклеотид, кодирующий полипептид, описанный в данном документе, может быть получен из нуклеиновой кислоты из подходящего источника (например, гибридомы) с использованием способов, хорошо известных в данной области техники (например, ПЦР и других способов молекулярного клонирования). Например, ПЦР-амплификация с использованием синтетических праймеров, гибридизируемых с 3'- и 5'-концами известной последовательности, может выполняться с использованием геномной ДНК, полученной из клеток гибридомы, продуцирующих интересующий полипептид. Такие способы ПЦР-амплификации можно использовать для получения нуклеиновых кислот, содержащих последовательность, кодирующую, например, IL2, линкерную последовательность или IL2-R α . Амплифицированные нуклеиновые кислоты можно клонировать в векторы для экспрессии в клетках-

хозяевах и для дальнейшего клонирования, например, для получения полипептидов.

Если клон, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую конкретный полипептид, недоступен, но последовательность молекулы полипептида известна, нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид, может быть химически синтезирована или получена из подходящего источника (например, библиотека кДНК или библиотека кДНК, полученная из нуклеиновой кислоты, предпочтительно поли А+РНК, выделенной из любой ткани или клеток, экспрессирующих представляющие интерес белки, например, из гибридных клеток, выбранных для экспрессии полипептида, описанного в данном документе) путем ПЦР-амплификации с использованием синтетических праймеров, гибридизируемых с 3' и 5'-концами последовательности, или путем клонирования с использованием олигонуклеотидного зонда, специфичного для конкретной последовательности гена, для идентификации, например, клона кДНК из библиотеки кДНК, кодирующей полипептиды. Амплифицированные нуклеиновые кислоты, полученные с помощью ПЦР, затем можно клонировать в реплицируемые клонирующие векторы с использованием любого способа, хорошо известного в данной области техники.

ДНК, кодирующая полипептиды, описанные в данном документе, может быть легко выделена и секвенирована с использованием обычных процедур (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими полипептиды, раскрытые в данном документе). Гибридные клетки могут служить источником такой ДНК. После выделения ДНК может быть помещена в векторы экспрессии, которые затем трансфицируются в клетки-хозяева, такие как клетки *E.coli*, клетки COS обезьян, клетки яичника китайского хомячка (CHO) (например, клетки CHO из системы CHO GS SYSTEM™ (Lonza)) или миеломные клетки, которые иначе не продуцируют белок иммуноглобулина, для получения синтеза полипептидов в рекомбинантных клетках-хозяевах.

5.7.1. Терапевтические применения и способы

Миниатюризированные полипептиды дистрофина, полинуклеотиды, кодирующие миниатюризированные полипептиды дистрофина, векторы (например, гAAV), несущие полинуклеотиды, кодирующие миниатюризированные полипептиды дистрофина, и способы, описанные в данном документе, имеют множество применений *in vitro* и *in vivo*. Так, например, нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид миниатюризированного дистрофина, например, вектор, например, вектор AAV, или полипептиды, описанные в данном документе, можно вводить в клетки в культуре, *in vitro* или *ex vivo* или человеческим субъектам, например, *in vivo*, для лечения болезней. Соответственно, в данном документе раскрыты терапевтические способы с применением любой из молекул нуклеиновой кислоты миниатюризированного дистрофина, раскрытых в данном документе, полипептидов, раскрытых в данном документе, клеток-хозяев, раскрытых в данном документе, векторов, раскрытых в данном документе, или фармацевтических композиций, раскрытых в данном документе, или любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыт способ экспрессии полипептида миниатюризированного дистрофина у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту нуклеиновой кислоты, раскрытой в данном документе, вектора, раскрытого в данном документе, клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, или фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, в данном документе. В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыт способ лечения субъекта, страдающего заболеванием или состоянием, включающий введение субъекту нуклеиновой кислоты, раскрытой в данном документе, вектора, раскрытого в данном документе, полипептида, раскрытого в данном документе, клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, или фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой мышечную дистрофию Дюшена (DMD), мышечную дистрофию Беккера (BMD), X-сцепленную дилатационную кардиомиопатию (XLDC), фациально-лопаточно-плечевую мышечную дистрофию, миотоническую мышечную дистрофию, онечно-поясную мышечную дистрофию, окулофарингеальную мышечную дистрофию, мышечную дистрофию Эмери-Дрейфуса, дистальную мышечную дистрофию и/или врожденную мышечную дистрофию. В других вариантах осуществления заболевание, которое необходимо лечить, представляет собой саркопению, болезнь сердца, кахексию.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, раскрытая в данном документе, полипептид, раскрытый в данном документе, вектор (например, гAAV), раскрытый в данном документе, клетка-хозяин, раскрытая в данном документе, или фармацевтическая композиция, раскрытая в данном документе, вводится внутривенно, чрескожно, внутривожно, подкожно, перорально или легочно, или любая их комбинация. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, раскрытая в данном документе, полипептид, раскрытый в данном документе, вектор, раскрытый в данном документе, клетка-хозяин, раскрытая в данном документе, или фармацевтическая композиция, раскрытая в данном документе, вводится топикально, через слизистую оболочку эпидермиса, интраназальным, пероральным, вагинальным, ректальным, сублингвальным, местным, внутривенным, внутриворужинным, внутримышечным, внутриартериальным, интратекальным, внутриворужинным, внутриочаговым, интракапсульным, внутриглазничным, внутрисердечным, внутривожным, транстрахеальным, подкожным, субкутикулярным, внутрисуставным, субкапсулярным, субарахноидальным, интраспинальным, эпидуральным или внутриворужинным путем. В некоторых вариантах осуществления молекулу нуклеиновой

кислоты, вектор (например, гAAV), клетку-хозяина, как описано в данном документе, или полипептид вводят внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения дополнительно включает введение субъекту второго средства.

Используемый в данном документе термин "субъект" включает любого человека или животное, не относящееся к человеку. Например, способы и композиции, описанные в данном документе, можно применять для лечения субъекта, болеющего раком. Термин "животное, не относящееся к человеку" включает всех позвоночных, например, млекопитающих и не млекопитающих, таких как не относящиеся к человеку приматы, овцы, собаки, коровы, куры, земноводные, рептилии и т.д. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек.

В некоторых вариантах осуществления введение субъекту молекулы нуклеиновой кислоты, вектора (например, гAAV), полипептида, клетки-хозяина или фармацевтической композиции приводит к повышению экспрессии белка дистрофина по сравнению с экспрессией белка дистрофина у субъекта до введения, причем экспрессия белка дистрофина увеличивается по меньшей мере около в 2 раза, по меньшей мере около в 3 раза, по меньшей мере около в 4 раза, по меньшей мере около в 5 раз, по меньшей мере около в 6 раз, по меньшей мере около в 7 раз, по меньшей мере около в 8 раз, по меньшей мере около в 9 раз, по меньшей мере около в 10 раз, по меньшей мере около в 11 раз, по меньшей мере около в 12 раз, по меньшей мере около в 13 раз, по меньшей мере около в 14 раз, по меньшей мере около в 15 раз, по меньшей мере около в 20 раз, по меньшей мере около в 25 раз, по меньшей мере около в 30 раз, по меньшей мере около в 35 раз, по меньшей мере около в 40 раз, по меньшей мере около в 50 раз, по меньшей мере около в 60 раз, по меньшей мере около в 70 раз, по меньшей мере около в 80 раз, по меньшей мере около в 90 раз или по меньшей мере около в 100 раз. В некоторых аспектах настоящего изобретения способ содержит или дополнительно содержит введение терапии AAV субъекту. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение рекомбинантного AAV. Любой рекомбинантный AAV, известный в данной области техники и/или описанный в данном документе, можно применять в способах по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапия AAV включает введение AAV, выбранного из группы, состоящей из 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, змеиного AAV, птичьего AAV, бычьего AAV, собачьего AAV, лошадиного AAV, овечьего AAV, козьего AAV, креветочного AAV и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 1. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 2. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 3. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 4. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 5. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 6. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 7. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 8. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 9. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 10. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 11. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 12. В некоторых вариантах осуществления терапия AAV включает введение AAV типа 13. В некоторых вариантах осуществления лечение субъекта молекулами нуклеиновой кислоты миниатюризированного дистрофина, раскрытыми в данном документе, полипептидами, раскрытыми в данном документе, клетками-хозяевами, раскрытыми в данном документе, векторами, раскрытыми в данном документе, или фармацевтическими композициями, раскрытыми в данном документе, или любой их комбинацией не вызывает значительные воспалительные реакции, например, иммуноопосредованный пневмонит, иммуноопосредованный колит, иммуноопосредованный гепатит, иммуноопосредованный нефрит или почечную дисфункцию, иммуноопосредованный гипофизит, иммуноопосредованный гипотиреоз и гипертиреоз или другие иммуноопосредованные побочные реакции. В некоторых вариантах осуществления лечение субъекта молекулами нуклеиновой кислоты миниатюризированного дистрофина, раскрытыми в данном документе, полипептидами, раскрытыми в данном документе, клетками-хозяевами, раскрытыми в данном документе, векторами, раскрытыми в данном документе, фармацевтическими композициями, раскрытыми в данном документе, или любой их комбинацией не вызывает значительных сердечных расстройств, например, желудочковой аритмии; глазных заболеваний, например, иридоциклит; реакций, связанные с инфузией; повышения уровня амилазы, повышения уровня липазы; расстройств нервной системы, например, головокружение, периферическая и сенсорная невропатия; заболеваний кожи и подкожной ткани, например, сыпь, зуд, эксфолиативный дерматит, многоформная эритема, витилиго или псориаз; респираторных, торакальных и средостенных заболеваний, например, кашель; усталость; тошноту; снижение аппетита; запор; артралгию; или понос.

5.8. Наборы

В настоящем изобретении также раскрыты наборы, содержащие одну или несколько молекул нуклеиновых кислот, как раскрыто в данном документе, один или несколько векторов (например, гAAV), как

раскрыто в данном документе, один или несколько полипептидов, как раскрыто в данном документе, или одну или несколько клеток-хозяев, как раскрыто в данном документе, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления набор также содержит инструкции по введению любого из вышеперечисленного или их комбинации субъекту, нуждающемуся в этом. Термины "набор" и "система", используемые в данном документе, предназначены для обозначения по меньшей мере одной или нескольких молекул нуклеиновой кислоты, как раскрыто в данном документе, одного или нескольких векторов (например, gAAV), как раскрыто в данном документе, одного или нескольких полипептидов, как раскрыто в данном документе, или одной или нескольких клеток-хозяев, как раскрыто в данном документе, или любой их комбинации, которые в конкретных вариантах осуществления находятся в комбинации с одним или несколькими другими типами элементов или компонентов (например, с другими типами биохимических реагентов, контейнеров, упаковок, таких как упаковка, предназначенная для коммерческой продажи, инструкции по применению и тому подобное).

В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, содержащий (а) один или несколько полипептидов миниатюризованного дистрофина, как описано в данном документе, композицию, содержащую полипептид миниатюризованного дистрофина, как описано в данном документе, нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид миниатюризованного дистрофина, как описано в данном документе, вектор (например, gAAV) и/или клетку-хозяин; и (b) и инструкции по введению любого из вышеперечисленного субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, содержащий (а) полипептид миниатюризованного дистрофина, как описано в данном документе, и (b) и инструкции по введению полипептида миниатюризованного дистрофина субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления раскрывается набор, содержащий (а) композицию, содержащую полипептид миниатюризованного дистрофина, как описано в данном документе, и (b) и инструкции по введению композиции субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, содержащий (а) нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид миниатюризованного дистрофина, как описано в данном документе, и (b) и инструкции по введению нуклеиновой кислоты субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, содержащий (а) вектор, как описано в данном документе, и (b) и инструкции по введению вектора субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, содержащий (а) вектор AAV, как описано в данном документе, и (b) и инструкции по введению вектора субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, содержащий (а) клетку-хозяин, как описано в данном документе, и (b) и инструкции по введению клетки-хозяина субъекту, нуждающемуся в этом.

В конкретном варианте осуществления в данном документе обеспечивается фармацевтическая упаковка или набор, включающий один или несколько контейнеров, заполненных одним или несколькими ингредиентами фармацевтических композиций, описанных в данном документе, такими как один или несколько миниатюризованных пептидов дистрофина, обеспеченных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат фармацевтическую композицию, описанную в данном документе, и любое профилактическое или терапевтическое средство, такое как те, которые описаны в данном документе. В некоторых вариантах осуществления наборы могут содержать Т-клеточный митоген, такой как, например, фитогемагглютинин (РНА) и/или форболмиристат ацетат (РМА), или антитело, стимулирующее комплекс ТСR, такое как антитело против CD3 и антитело против CD28. С таким контейнером (контейнерами) необязательно может быть связано уведомление в форме, предписанной государственным агентством, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических или биологических продуктов, причем уведомление отражает одобрение агентством производства, применения или продажи для введения человеку. В данном документе также обеспечиваются наборы, которые можно применять в вышеупомянутых способах. В одном варианте осуществления набор включает полипептид миниатюризованного дистрофина, описанный в данном документе, предпочтительно очищенный полипептид миниатюризованного дистрофина, в одном или нескольких контейнерах. В конкретном варианте осуществления описанные в данном документе наборы содержат по существу выделенный полипептид миниатюризованного дистрофина в качестве контроля. В другом конкретном варианте осуществления описанные в данном документе наборы дополнительно содержат контрольный белок, который не реагирует с антигеном полипептида миниатюризованного дистрофина. В другом конкретном варианте осуществления наборы, описанные в данном документе, содержат один или более элементы для определения связывания полипептида миниатюризованного дистрофина с антигеном дистрофина (например, полипептид миниатюризованного дистрофина может быть конъюгирован с обнаруживаемым субстратом, таким как флуоресцентное соединение, ферментативный субстрат, радиоактивное соединение или люминесцентное соединение, или второе антитело, которое распознает первое антитело, может быть конъюгировано с детектируемым субстратом). В конкретных вариантах осуществления набор, обеспеченный в данном документе, может включать рекомбинантно полученный или химически синтезированный полипептид миниатюризованного дистрофина. Антиген к полипептиду миниатюризованного дистрофина, раскрытому в данном документе, как это предусмотрено в наборе, также может быть прикреплен к твердой подложке. В более конкретном варианте осуществления средство обнаруже-

ния описанного выше набора включает твердую подложку, к которой прикреплен антиген полипептида миниатюризированного дистрофина. Такой набор может также включать несвязанное меченное репортером антитело против человека или антитело против мыши/крысы. В данном варианте осуществления связывание полипептида миниатюризированного дистрофина с антигеном может быть обнаружено путем связывания указанного меченого репортером антитела.

Практика настоящего изобретения будет использовать, если не указано иное, обычные способы клеточной биологии, культуры клеток, молекулярной биологии, трансгенной биологии, микробиологии, рекомбинантной ДНК и иммунологии, которые находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. Такие способы полностью объяснены в литературе. См., например, Sambrook et al., ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook et al., ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover et al., (1985) *DNA Cloning, Volumes I and II*; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*; Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*; Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press) (1986); Perbal (1984) *A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu et al., eds., *Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155*; Mayer and Walker, eds. (1987) *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) *Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); Crooks, *Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications*, 2nd Ed. CRC Press (2007) и в Ausubel et al. (1989) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.).

Все ссылки, процитированные выше, а также все ссылки, процитированные здесь, и аминокислотные или нуклеотидные последовательности (например, номера GenBank и/или номера Uniprot), полностью включены в настоящий документ посредством ссылки. Следующие примеры предлагаются в качестве иллюстрации, а не в качестве ограничения.

6. Примеры.

6.1. Новые миниатюризированные дистрофины с пониженной иммуногенностью и повышенной стабильностью

Мутации в гене дистрофина часто приводят к нарушению стабильности соответствующего белка дистрофина, что, в свою очередь, приводит к протеосомной деградации нестабильного белка дистрофина и дистрофической патофизиологии. Точно так же миниатюризация кодирующей дистрофин ДНК для приведения ее в соответствие с ограниченной упаковочной емкостью AAV может ухудшить стабильность соответствующего миниатюризированного белка дистрофина.

Стабильность различных миниатюризированных белков-дистрофинов исследовали путем сравнения соотношений белок дистрофин : мРНК в клетках, трансфицированных соответствующими векторами экспрессии дистрофина. Были генерированы мужские сердечные миоциты (cardiac myocytes (iCM)), которые происходили от изогенных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (induced-pluripotent stem cell (iPSC)), которые несут преждевременный стоп-кодон E2035X в гене дистрофина, который предотвращает экспрессию эндогенного дистрофина. Данные клетки трансфицировали различными кассетами, экспрессирующими миниатюризированные белки дистрофина, и соотношения белок дистрофин: мРНК исследовали после того, как трансфицированные клетки культивировали *in vitro* в течение 24 дней. Уровни белка исследовали с помощью анализа ELISA Meso Scale Discovery (MSD) и уровни мРНК исследовали с помощью qrtPCR.

Протестированные миниатюризированные дистрофины и результаты испытаний представлены на фиг. 2 и 3, соответственно. Данные показали, что миниатюризированные пептиды дистрофина VXA-027741 (SEQ ID NO: 129) и VXA-027743 (SEQ ID NO: 132) обеспечивают наилучшую стабильность белка.

Впоследствии иммуногенность новых соединений, созданных в рамках данных двух наиболее стабильных конструкций, была протестирована с использованием инструмента прогнозирования иммуногенности *in silico*. Было установлено, что новые соединительные участки конструкции VXA-027743 (R1/линкер R16 (соединительный участок J1), R17/Н3 и Н3/R23 (соединительный участок J7)) (см. фиг. 4 и не показано) имеют минимальный иммуногенный риск, исходя из вышеупомянутого подхода *in silico*. Новые соединительные участки в конструкции VXA-027741 (R1/R3 (соединительный участок J10), H2/линкер R16 (соединительный участок J11) и R17/R24 (соединительный участок J9)) (см. фиг. 5) были проанализированы аналогичным образом. Было установлено, что соединительный участок J9 имеет минимальный иммуногенный риск, в то время как соединительные участки J10 и J11 могут быть улучшены.

Иммуногенный потенциал вышеупомянутых соединительных участков конструкции VXA-027741 и вариантов соединительных участков в ней был протестирован с использованием анализа пролиферации Т-клеток *in vitro*, как описано ниже. Вкратце, образцы мононуклеарных клеток периферической крови (peripheral blood mononuclear cells (PBMC)) были выделены от здоровых добровольцев-людей с помощью центрифугирования в градиенте Ficoll (GE Healthcare) и охарактеризованы в отношении экспрессии че-

ловеческого лимфоцитарного антигена (HLA) класса I и II с использованием комбинации полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплификации и гибридизации с олигонуклеотидными зондами (Prolimmune, Сарасота, Флорида). Панель образцов PBMC от 40 доноров, имеющих профиль экспрессии HLA, близко совпадающий с частотами мировой популяции, использовали для дальнейшего анализа. Образцы PBMC были помечены CFSE (Invitrogen, Carlsbad, CA) для мониторинга пролиферации и помещены в 96-луночные планшеты в шести повторах по 200000 клеток на лунку в RPMI (Lonza, Базель, Швейцария), содержащей 10% человеческого AB (Bioreclamation, Westbury, NY.), заменимые аминокислоты и пенициллин-стрептомицин (оба Gibco/Fisher Scientific).

Соединительные пептиды VXA-027741, их варианты и контрольные пептиды культивировали с панелью из 40 образцов PBMC при концентрации 1 мкМ в течение 7 дней, после чего среду смывали и клетки метили анти-CD4 и анти-CD8 APC моноклональным антителом (BD Biosciences, Franklin Lake, NJ). После удаления промыванием несвязавшихся антител клетки фиксировали 3,7% формалином (Sigma, St. Louis, MO) в PBS и анализировали проточной цитометрией для определения процента пролиферирующих CD4+ клеток или CD8+ клеток.

Процент образцов (среди 40 донорских образцов), которые показали положительный ответ после семи дней культивирования с различными соединительными пептидами VXA-027741 и их вариантами, определяемый как значительное увеличение количества пролиферирующих CD4+ или CD8+ Т клеток по сравнению с PBMC, инкубированными в среде без пептидов с соединительными участками или контрольных пептидов, показано на фиг. 6A (CD4+) и фиг. 6B (CD8+). В качестве контрольных пептидов использовали: (1) каркасный пептид авастина; (2) пептид VL6-VL CDR3; и (3) пептид PADRE-61309.

Было обнаружено, что версия 3 соединительного участка J10 (J10v3) превосходит соединительный участок J10 и другие протестированные его версии, и что версия 12 соединительного участка J11 (J11v12) в целом превосходит в отношении иммуногенного риска соединительный участок J11.

Затем С-концевой домен миниатюризованного дистрофина VXA-027741 был удален с образованием миниатюризованного дистрофина VXA-196473 (SEQ ID NO: 119) (фиг. 7), чтобы лучше приспособиться к ограниченной способности упаковки AAV. Затем J10v3 использовали для замены J10 и J11v12 использовали для замены J11 в миниатюризованном дистрофине VXA-196473, что привело к миниатюризованному дистрофину VXA-196477 (SEQ ID NO: 118) (фиг. 8A и 8B). Для создания J10v3 и J11v12 аминокислоты RV были вставлены между аминокислотами 446 и 447, и аминокислоты SEAQ были вставлены между аминокислотами 606 и 607, соответственно, в VXA-196473 (SEQ ID NO: 119) (фиг. 8A и 8B).

VXA-196473 (SEQ ID NO: 119) был дополнительно модифицирован другими версиями соединительных участков, протестированными следующим образом:

VXA-196474 (SEQ ID NO: 120): соединительный участок 9, версия 2 (J9v2) и соединительный участок 11, версия 12 (J11v12).

VXA-196475 (SEQ ID NO: 121): соединительный участок 9, версия 5 (J9v5) и соединительный участок 11, версия 12 (J11v12).

VXA-196476 (SEQ ID NO: 122): соединительный участок 9, версия 6 (J9v6) и соединительный участок 11, версия 12 (J11v12).

VXA-196478 (SEQ ID NO: 124): соединительный участок 10, версия 6 (J10v6) и соединительный участок 11, версия 12 (J11v12).

VXA-196479 (SEQ ID NO: 125): соединительный участок 11, версия 12 (J11v12).

J9v2 представляет собой замену аминокислот LER на KNI между доменом R17 и доменом R24, то есть аминокислот от 843 до 845 в VXA-196473.

J9v5 представляет собой вставку K между доменом R17 и доменом R24, то есть между аминокислотами 842 и 843 в VXA-196473.

J9v6 представляет собой вставку KNI между доменом R17 и доменом R24, то есть между аминокислотами 842 и 843 в VXA-196473.

J10v3 представляет собой вставку RV между доменами R1 и R3, то есть между аминокислотами 446 и 447 в VXA-196473.

J10v6 представляет собой вставку RVLLQDI между доменами R1 и R3, то есть между аминокислотами 446 и 447 в VXA-196473.

J11v12 представляет собой вставку SEAQ между доменом H2 и линкером перед доменом R16, то есть между аминокислотами 606 и 607 в VXA-196473.

Полученные в результате миниатюризованные дистрофины затем тестировали на стабильность, как описано ранее (фиг. 9). Результаты показали, что конструкция VXA-196477 миниатюризованного дистрофина (которая содержала J10V3 и J11V12) имела не только самый низкий иммуногенный риск, но также была наиболее стабильной. В дополнение, конструкция VXA-212371 полипептида миниатюризованного дистрофина была модифицирована путем удаления последних трех С-концевых аминокислот и вставки последовательности варианта аминокислотного соединительного участка KNDL (J2V10; между доменом спектринового повтора 17 (R17) и шарнирным 3 (H3) доменом) после аминокислотной позиции 682 в VXA-212371 (что приводит к миниатюризованному дистрофину VXA-213788, SEQ ID NO: 152),

которая, как было обнаружено, имеет более низкий иммуногенный риск.

6.2. Физиология *in vitro*

DMD iCM имеют более низкую амплитуду Na⁺-каналов, удлиненный cFPD (интервал Q-T) и большую вариабельность частоты сердечных сокращений при сравнении с изогенными iCM дикого типа при использовании многоэлектродных матриц. DMD iCM также имеют более высокую трансдукцию Ca²⁺ и более низкий импеданс, чем iCM дикого типа, при этом каждый способ подтверждает вариабельность частоты сердечных сокращений в нестимулированных клетках.

Исследовано, может ли экспрессия миниатюризованного дистрофина VXA-196477 в DMD iCM, несущих мутацию E2035X, смягчить фенотип DMD и улучшить физиологические характеристики клеток. Мультиэлектродная регистрация, импедансный анализ сокращения и Ca²⁺ транзиенты используются для измерения эффекта экспрессии миниатюризованного дистрофина. Авторы изобретения также удалили C-концевой домен VXA-027743, чтобы получить VXA-212371, чтобы лучше соответствовать ограниченной упаковочной емкости AAV. Функциональная способность VXA-212371 ослаблять фенотип DMD и улучшать физиологические характеристики тех же клеток исследуется с использованием тех же аналитических процедур, что были предложены для VXA196477.

hiPSC-CM, использованные в данном исследовании, представляли собой DMD (E2035X) iCell, приобретенные у Cellular Dynamics International, Madison, Wisconsin. Фибробласты желудочков человека были приобретены у фирмы Lonza, Walkersville, Maryland. Сообщалось, что iCell hiPSC-CM обладают электрофизиологическими свойствами, близкими к первичным взрослым кардиомиоцитам, и аналогичным образом реагируют на ряд ингибиторов сердечных ионных каналов, а также на агонисты и антагонисты адренергических и мускариновых рецепторов. Собственная работа авторов изобретения показала, что совместное культивирование hiPSC-CM с фибробластами обеспечивает более стабильную подготовку к электрофизиологическим исследованиям с использованием многоэлектродных матриц (multi-electrode arrays (MEA)). hiPSC-CM культивируют с 7% CO₂ на 6-луночных культуральных планшетах, обработанных 0,1% желатином, в течение 7 дней, затем обрабатывают трипсином и разбавляют сердечными фибробластами взрослого человека в соотношении около 5:1. Суспензии hiPSC-CM и фибробластов затем совместно культивировали на покрытых ламинином 9-луночных планшетах с многоэлектродными матрицами (MEA) (256-9wellMEA300/30iR-ITO-mq; Multichannel Systems). hiPSC CM инфицировали экспрессионными конструкциями AAV9-mDys (экспрессирующими миниатюризованные дистрофины VXA-196477 и VXA-213788, фиг. 15D) при MOI 1×10^6 в течение 48 ч, и затем hiPSC-CM оценивали по воздействию на потенциалы внеклеточного поля (field potential (FP)) через 7 дней и 9 дней после заражения. Как VXA-196477, так и VXA-213788 значительно улучшили скорость проведения на ~ 80% по сравнению с DMD CM (двусторонний дисперсионный анализ ***P < 0,001 с последующим тестом Тьюки n = 6) (фиг. 15E). Анализ ELISA на дистрофин подтвердил экспрессию дистрофина в клетках (фиг. 15F). Технология MEA позволяет проводить пространственно-временной анализ возбудимых клеток или тканей с помощью матрицы встроенных в подложку внеклеточных электродов, на которой можно культивировать клетки или помещать ткани. Потенциалы внеклеточного поля (FP) регистрируются каждым электродом и соответствуют потенциалам клеточного действия. Оценка морфологии, продолжительности и скорости проводимости FP дает картину активности ионных каналов после обработки, а также влияния на реполяризацию и проводимость. После 7 дней культивирования hiPSC-CM на MEA-планшетах клетки образовывали спонтанно сокращающийся монослой над записывающими электродами, вставленными в каждую лунку. Спонтанные FP регистрировались от 28 электродов на лунку (диаметр 30 мкм, расстояние от центра до центра 300 мкм) при частоте дискретизации 10 кГц с использованием программного обеспечения USB-MEA256-System и MC Rack для сбора данных (многоканальные системы). После 20-минутного периода уравнивания в увлажненной среде при 37°C с постоянной подачей 5% CO₂ и 95% O₂ каждую лунку трансфицировали экспрессионными конструкциями AAV9-mDys в 300 мкл поддерживающей среды.

Эффекты экспрессии миниатюризованных дистрофинов на интервалы между импульсами (inter-pulse intervals (IPI)) FP контролировали и записывали. Данные были проанализированы с помощью специального программного обеспечения, написанного в MatLab (Mathworks). Частоту ударов (удары в минуту), служащую суррогатом частоты сердечных сокращений, рассчитывали с использованием BR = 60000/IPI, где IPI представляет собой усредненные IPI (мс) 100-секундной записи в установленном режиме при каждом условии. Измеряемыми электрофизиологическими параметрами являются длительность потенциала поля, суррогат реполяризации, и скорость проведения потенциала поля. Длительность потенциала поля корректировалась с учетом изменений частоты ударов (beat rate changes (FRP)). Все обработки выполнялись не менее чем в 3-х повторностях.

Скорость проведения определяли количественно путем измерения времени активации потенциала поля для каждого электрода, вставленного в лунку MEA во время синхронизированного единичного распространяемого биения. Оцифрованные записи потенциалов поля от каждого электрода сглаживались по методу наименьших квадратов с использованием полинома сглаживания по 21 точке (Savitsky & Golay, 1964), с временным окном 2,1 мс. Время активации представляет собой значение пика отрицательной производной каждого волнового сигнала потенциала поля. Время между временем самой ранней актива-

ции и временем самой поздней активации представляет собой время проведения для распространения потенциала поля через монослой кардиомиоцитов, и расстояние между двумя соответствующими электродами представляет собой расстояние проведения. Время проведения потенциала, деленное на расстояние проведения, для каждого случая распространения потенциала представляет собой скорость проведения для каждого сокращения монослойных кардиомиоцитов в лунке МЕА (фиг. 15).

Данные показывают, что обе конструкции миниатюризированных дистрофинов значительно улучшили скорость проведения (фиг. 15).

6.3. In vivo восстановление физиологии скелетных мышц

Скелетные мышцы с дефицитом дистрофина производят меньшую удельную силу (силу на единицу площади) и очень восприимчивы к повреждениям, вызванным сокращением. Восстановление экспрессии дистрофина может смягчить данные нарушения. Дистрофических мышечных mdx в возрасте 2 недель систематически лечат с помощью ретроорбитальной инъекции либо 2e14 vg/kg AAV9-C5-12-BXA-196477, либо AAV9-C5-12-BXA-212371. Физиологию мышц конечностей исследуют в 8-недельном возрасте. Вкратце, колено мышцы зажимается, ступня помещается в стремя, и стремя перемещается, в то время как мышцы максимально сокращаются с помощью игольчатого электрода. Данный анализ измеряет пиковое подергивание и величину тетанической силы мышцы, а также повреждение, вызванное сокращением.

6.4. In vivo профилактика дистрофической патологии

Скелетные мышцы в модели DMD у мышечных mdx обычно подвергаются некрозу и регенерации в возрасте, начиная приблизительно с 3-4 недель. Регенерированные мышцы обычно более разнообразны по размеру и содержат ядра, расположенные в центре на замороженных поперечных срезах. Кроме того, фиброз становится более распространенным в регенерированных мышцах. Измеряют размер мышечных волокон, долю центрально расположенных ядер и фиброз в необработанных мышцах mdx и мышцах mdx, обработанных либо AAV9-C5-12-BXA-196477, либо AAV9-C5-12-BXA-212371. Также количественно определяется доля мышечных волокон, экспрессирующих миниатюризированные дистрофины. Диафрагма, икроножная, передняя большеберцовая мышца и сердечные мышцы исследуются с помощью компьютерных программ визуализации HALO и Columbus.

6.5. Исследование in vivo

План исследования.

Мышечных mdx^{4cv} в возрасте 2 недель обрабатывали 2e14vg/kg AAV9-BXA-196477 или AAV9-BXA-213788. Через две недели после введения n=3 мышечных умерщвляли для изучения целевого воздействия миниатюризированного дистрофина (биораспределение и уровни экспрессии). В возрасте 2 месяцев была исследована правая передняя большеберцовая мышца на прочность и устойчивость к повреждению, вызванному сокращением (n=10), аналогично ранее описанному (Khairallah et. al., 2012). Мышечных умерщвляли в возрасте 3 месяцев и исследовали на предмет целевого воздействия и предотвращения дистрофин (фиг. 16).

Целевое воздействие.

Иммунофлуоресценция. Мышцы замораживали в OCT в 2-метилбутане в жидком N₂. 10 мкм замороженных срезов иммуноокрашивали антителами к дистрофину (Mandys106; DSHB; 1:200) и агглютининовую зародышей пшеницы, конъюгированному с Alexa-647. Антитело Alexa-488 IgG2a использовали для мечения первичного антитела к дистрофину. Срезы получали с помощью конфокального скринингового микроскопа Phoenix Opera High Content (Perkin-Elmer) и количественно оценивали с помощью программного обеспечения Columbus. Вкратце, изображения Alexa-647 были инвертированы, M-режим использовали для поиска клеток и расчета морфологии в выбранной популяции клеток в поперечных срезах <2000 мкм². Далее рассчитывали интенсивность Alexa-488 и отбирали популяцию с интенсивностью больше, чем у контрольных mdx^{4cv} мышечных. Более 90% мышечных у 4-недельных и 12-недельных мышечных были положительными на миниатюризированный дистрофин (фиг. 17). мРНК - Для выделения суммарной РНК ткань гомогенизировали с помощью Qiagen TissueLyzer и РНК выделяли с использованием набора Qiagen RNeasy 96 Universal tissue kit (номер в каталоге Qiagen 74881). Ткань (~ 15) помещали в микропробирку для сбора из набора RNeasy, содержащие 750 мкл реагента Qiazol и один стальной шарик размером 5 мм, гомогенизировали с использованием TissueLyzer при 30 Гц в течение 2 мин и повторяли данный шаг до завершения гомогенизации с последующим центрифугированием при 6000×g в течение 1 мин при 4°C. В каждую пробирку добавляли 150 мкл хлороформа и образцы интенсивно встряхивали в течение 15 с. После 3-минутной инкубации при комнатной температуре образцы центрифугировали при 6000×g в течение 15 мин при 4°C. Водную фазу отбирали (~360 мкл) и переносили в новую пробирку, содержащую 1 объем 70% EtOH, свободного от РНКазы. Все образцы переносили в 96-луночный планшет RNeasy 96, планшеты закрывали лентой AirPore и центрифугировали при 5600×g в течение 4 мин при комнатной температуре. 400 мкл буфера RW1 добавляли в каждую лунку, планшет снова закрывали и центрифугировали в течение 4 мин при 5600×g. Во время центрифугирования готовили исходный раствор ДНКазы, добавляя 550 мкл воды, свободной от РНКазы, на один флакон с ДНКазой. 670 мкл исходного раствора ДНКазы I разбавляли 7,3 мл буфера RDD, перемешивали и хранили при 4°C. Когда центрифугирование было завершено, проток отбрасывали и 80 мкл смеси ДНКазы I добавляли непосредственно

венно в центр каждой лунки, и планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин. После инкубации в каждую лунку добавляли 400 мкл RW1 и планшет герметично закрывали и центрифугировали в течение 4 мин при 5600×g. Проток отбрасывали и добавляли 800 мкл буфера RPE к каждой лунке. Планшет снова герметично закрывали и центрифугировали в течение 4 мин при 5600×g. Данный процесс повторяли, и планшет центрифугировали в течение 10 мин при 5600×g. Затем каждый образец элюировали в неиспользованную пробирку путем добавления 60 мкл воды, свободной от РНКазы, в центр каждой лунки и центрифугирования в течение 4 мин при 5600×g. Для улучшения восстановления 60 мкл повторно наносили на планшет и центрифугировали еще 4 мин при 5600×g. Выход РНК количественно определяли с помощью прибора nanodrop 8000. ОТ-ПЦР - Для синтеза кДНК и последующей ПЦР 1 мкг РНК добавляли в 1 лунку 96-луночного планшета в 10 мкл H₂O (Plate-Axygen, PCR-96-CS). В каждую лунку добавляли 10 мкл мастер-микса (High Capacity cDNA Reverse Transcription kit, Applied Biosystem) и центрифугировали планшет при 1000 об/мин. Синтез кДНК проводили при 25°C в течение 10 мин, 37°C в течение 120 мин, 85°C в течение 5 мин с последующей выдержкой при 4°C. Для кПЦР каждый образец анализировали в двух повторах с наборами праймеров/зондов (прямой праймер 5'-TGGAAGATTGCTACGAGCGC-3'; обратный праймер 5'-CAGGTCGCTGAACAGGTTCT-3'; зонд-6FAM-GCAAGTTCGGCAAGCAGCACA-MGBNFG) в 384-луночных прозрачных реакционных планшетах (applied biosystem; каталожный номер 4483285). К каждой реакционной смеси добавляли 2 мкл к ДНК и 8 мкл мастер-микса (5 мкл быстрого улучшенного мастер-микса, 0,5 мкл смеси 20X FAM зонда/праймеров и 2,5 мкл воды) и планшеты центрифугировали в течение 1 мин при 1000 об/мин. Образцы инкубировали при 95°C в течение 20 с с последующими 40 циклами при 95°C в течение 1 с и 60°C в течение 20 с с использованием системы ViiA7 и программного обеспечения для ПЦР в реальном времени Quant Studio для анализа данных (Applied Biosystem).

Выделение векторного генома/геномной ДНК и кПЦР - для выделения геномной ДНК ткань гомогенизировали с помощью Qiagen TissueLyzer и геномную ДНК выделяли с использованием набора для крови и тканей Qiagen DNeasy 96 (номер в каталоге Qiagen 69581). Ткань (~10 мг) помещали в 96-луночный планшет (costar assay block 1 мл, каталожный номер 3958), содержащий 200 мкл буфера ATL с протеиназой K и одну 5-миллиметровую стальную бусину, гомогенизировали с использованием TissueLyzer 30 Гц, 2 мин, повторяли до завершения гомогенизации. Выделение геномной ДНК проводили с соблюдением инструкций производителя. Для кПЦР каждый образец анализировали в двух экземплярах с наборами праймеров/зондов (прямой праймер 5'-TGGAAGATTGCTACGAGCGC-3'; обратный праймер 5'-CAGGTCGCTGAACAGGTTCT-3'; зонд-6FAM-GCAAGTTCGGCAAGCAGCACA-MGBNFG) в 384-луночных прозрачных реакционных планшетах (applied biosystem; каталожный номер 4483285). К каждой реакционной смеси добавляли 2 мкл геномной ДНК и 8 мкл мастер-микса (5 мкл быстрого улучшенного мастер-микса, 0,5 мкл смеси 20X FAM зонда/праймеров и 2,5 мкл воды) и планшеты центрифугировали в течение 1 мин при 1000 об/мин. Образцы инкубировали при 95°C в течение 20 с с последующими 40 циклами при 95°C в течение 1 с и 60°C в течение 20 с с использованием системы ViiA7 и программного обеспечения для ПЦР в реальном времени Quant Studio для анализа данных (Applied Biosystem).

MSD-ELISA - экспрессию белка определяли с помощью анализа ELISA. 384-луночные планшеты для мультианализа (Meso Scale Discovery, каталожный номер L21XB-4) были предварительно покрыты моноклональным антителом Mapex 1011b в концентрации 2 мкг/мл в бикарбонатном буфере в течение ночи. Затем планшеты блокировали блокирующим буфером (5% BSA в PBS) в течение 4 часов при встряхивании при комнатной температуре. Ткань (~20 мг) гомогенизировали в буфере g1ra при концентрации 1 мг ткани/10 мкл лизирующего буфера (Sigma, каталожный номер R0278) с коктейльной таблеткой ингибиторов протеазы (Roche, каталожный номер 04 693 159001) с использованием Qiagen TissueLyzer при 30 Гц в течение 5 мин и повторяли данный шаг до завершения гомогенизации. Лизат ткани в g1ra разводили от 1 до 3 в связывающем буфере (1% BSA, 0,05% твина 20, 20 mM Tris pH 7,5 в PBS). Лизаты тканей и сульфоконъюгированный Mandys 106 (0,2 мкг/мл) добавляли в предварительно покрытые 384-луночные планшеты и инкубировали при 40°C при встряхивании в течение ночи. Планшеты промывали PBS с 0,05% твина 20 и добавляли 40 мкл буфера T для считывания MSD с поверхностно-активным веществом (каталожный номер R92TC-1). Затем планшеты считывали на машине MSD Sector 6000.

Данные показали, что вводили достаточно вируса для достижения экспрессии (мРНК и белок) в > 90% поперечнополосатых мышечных клеток в возрасте 4 недель (фиг. 18). Креатинкиназа. - Уровень креатинкиназы (СК) как индикатора повреждения мышц измеряли в сыворотке с использованием имеющихся в продаже наборов. СК измеряли в возрасте 4 недель (через 2 недели после доставки). Кроме того, СК измеряли в возрасте 3 месяцев, то есть через 1 месяц после протокола травмы, вызванной сокращением (см. ниже). ***P<0,001 однофакторного дисперсионного анализа с последующим тестом Тьюки, n=10 по сравнению с mdx^{4cv}. Данные показали, что у мышей, получавших ВХА-196477 или ВХА-213788, уровни креатинкиназы и, следовательно, повреждение мышц были значительно снижены (фиг. 19). Функциональные исследования.

Сократительные свойства передней большеберцовой (tibialis anterior (TA)) мышцы тестировали с помощью установки in vivo ("подставка", "башмак", foot plate) в соответствии с инструкциями произво-

дителя (Auroga Scientific). Вкратце, пик тетанического сокращения был достигнут на кривой силы на частоте 150 Гц (сила измеряется в крутящем моменте в ньютон-метрах). Пик тетанического сокращения был одинаковым у мышей дикого типа, мышей mdx^{4cv} и мышей mdx^{4cv}, получавших ВХА-196477 или ВХА-213788. Однако мышечная масса ТА больше у мышей mdx^{4cv} (****P < 0,001 односторонний дисперсионный анализ с последующим тестом Тьюки, n=10), так что нормализация пиковой тетанической силы к массе ТА снижалась у мышей mdx^{4cv} и оставалась на уровне мышей дикого типа у обработанных мышей (***P < 0,001 по сравнению с mdx^{4cv}; односторонний дисперсионный анализ с последующим тестом Тьюки, n=10) (фиг. 20).

Повреждение передней большеберцовой (ТА) мышцы измеряли с помощью прибора *in vivo* ("подставка") в соответствии с инструкциями производителя (Auroga Scientific). Во время пика тетанического сокращения при частоте 150 Гц (максимальный изометрический крутящий момент) подставка поворачивалась от 90 до 135° для напряжения мышц. Данное сокращение повторялось каждую минуту для 20 сокращений, как описано ранее (Khairallah et al., 2012). Максимальный изометрический крутящий момент непосредственно перед напряжением мышц значительно уменьшался с каждым сокращением у мышей mdx^{4cv} (P < 0,0001 по сравнению с мышами дикого типа; двухсторонний дисперсионный анализ; n=9-10). Напротив, как ВХА-196477, так и ВХА-213788 предотвращали повреждение, вызванное сокращением, аналогично уровням дикого типа (****P < 0,0001 ВХА-213788 и **P < 0,01 ВХА-196477 по сравнению с mdx^{4cv} с последующим тестом Тьюки n=9-10). Данные показывают, что обе конструкции миниатюризированных дистрофинов защищают ТА-мышцы от повреждения, вызванного сокращением (фиг. 21).

In vitro и *in vivo* экспрессия миниатюризированных дистрофиновых конструкций, описанных в приведенных в данном документе примерах, находилась под контролем промотора C5-12 (см. US 2004/0175727), из которого были удалены первые семь и последние тринадцать нуклеотидов. Используемый AAV был AAV9, где ITR были из AAV2.

6.6. Дополнительные исследования иммуногенности

Иммуногенность новых соединительных участков (см. табл. 12: SEQ ID NO: от 156 до 166; SEQ ID NO: 155 была исходной последовательностью), созданных между шарнирным 2 (H2) доменом и R16 спектриновым повтором 16 (R16) в полипептиде ВХА-027741 миниатюризированного дистрофина тестировали с использованием инструмента для прогнозирования иммуногенности *in silico*. Было определено, что новый соединительный участок SEQ ID NO: 157 (см. фиг. 22) имеет минимальный иммуногенный риск на основании вышеупомянутого подхода *in silico*. Тестируемые последовательности соединительных участков пронумерованы следующим образом: SEQ ID NO: 155 (1), SEQ ID NO: 156 (2), SEQ ID NO: 157 (3), SEQ ID NO: 158 (4), SEQ ID NO: 159 (5), SEQ ID NO: 160 (6), SEQ ID NO: 161 (7), SEQ ID NO: 162 (8), SEQ ID NO: 163 (9), SEQ ID NO: 164 (10), SEQ ID NO: 165 (11), SEQ ID NO: 166 (12) (см. фиг. 22B). Иммуногенный потенциал вышеперечисленных соединительных участков конструкции ВХА-027741 и варианты соединительных участков в ней были испытаны с использованием *in vitro* анализа пролиферации Т-клеток, как описано выше. Данные показывают, что соединительный участок J11v3 (SEQ ID NO: 157, № 3 на фиг. 22B) вызывал значительно меньшую пролиферацию CD8⁺ (фиг. 23A) и CD4⁺ Т-клеток (фиг. 23B) по сравнению с другими протестированными соединениями и поэтому является лучшим (фиг. 23). Полипептид ВХА-196477 миниатюризированного дистрофина был модифицирован, чтобы нести соединительный участок J11v3, последние три аминокислоты на С-конце были удалены и 3'UTR был укорочен, что дало полипептид ВХА-213780 (SEQ ID NO: 153) миниатюризированного дистрофина и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 154.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептид миниатюризированного дистрофина, содержащий, от N-конца до С-конца, шарнирный 1 (H1) домен, домен спектринового повтора 1 (R1), домен спектринового повтора 3 (R3), шарнирный 2 (H2) домен, домен спектринового повтора 16 (R16), домен спектринового повтора 17 (R17), домен спектринового повтора 24 (R24) и шарнирный 4 (H4) домен дистрофина, где полипептид миниатюризированного дистрофина не содержит спектриновый повтор 2 дистрофина, где домен R1 и домен R3 слиты посредством аминокислот ARG-VAL (RV), и где домен H2 и домен R16 слиты посредством аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 74-75, и где (i) домен H1 и домен R1 слиты непосредственно, (ii) домен R3 и домен H2 слиты непосредственно, (iii) домены R16 и R17 слиты непосредственно, (iv) домены R17 и R24 слиты непосредственно или (v) домены R24 и H4 слиты непосредственно.

2. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1, где полипептид миниатюризированного дистрофина дополнительно содержит домен ABD1 и/или домен CR.

3. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1 или 2, где полипептид миниатюризированного дистрофина состоит из, от N-конца до С-конца, домена ABD1, домена H1, домена R1, аминокислот RV, домена R3, домена H2, аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 74-75, домена R16, домена R17, домена R24, домена H4 и домена CR дистрофина.

4. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-3, где полипептид миниатюризированного

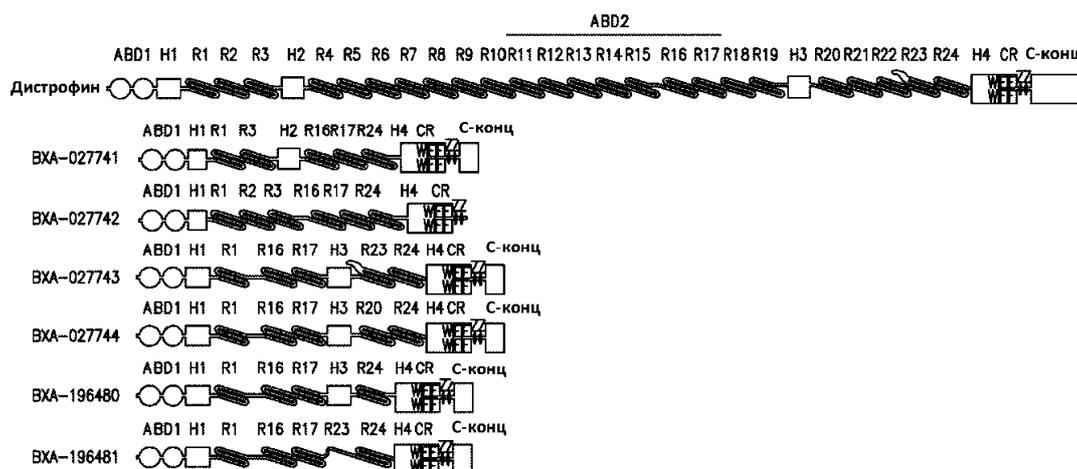
дистрофина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 118.

5. Молекула нуклеиновой кислоты по п.4, где нуклеотидная последовательность содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 133.

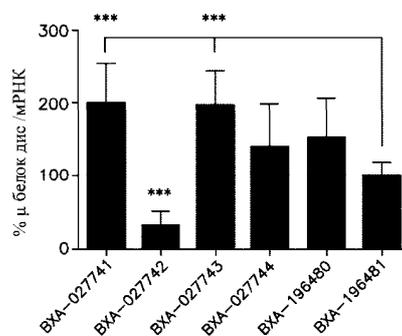
6. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-5, где полипептид миниатюризированного дистрофина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118.



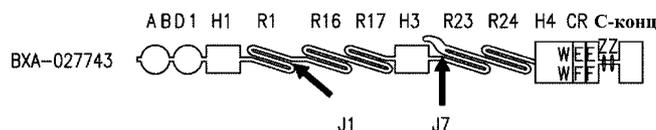
Фиг. 1



Фиг. 2

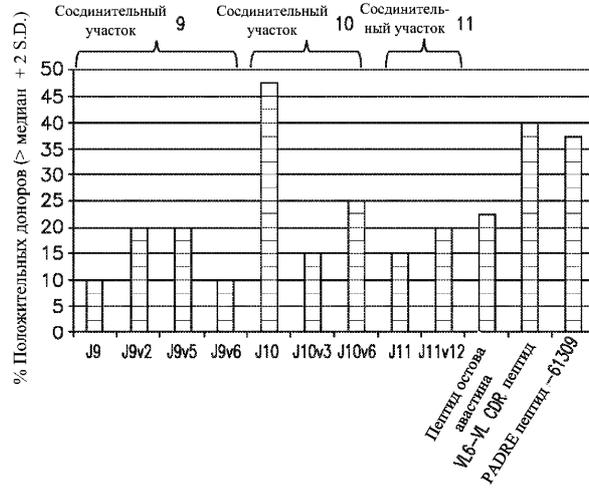
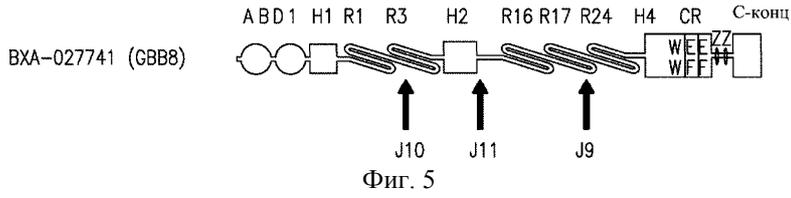


Фиг. 3

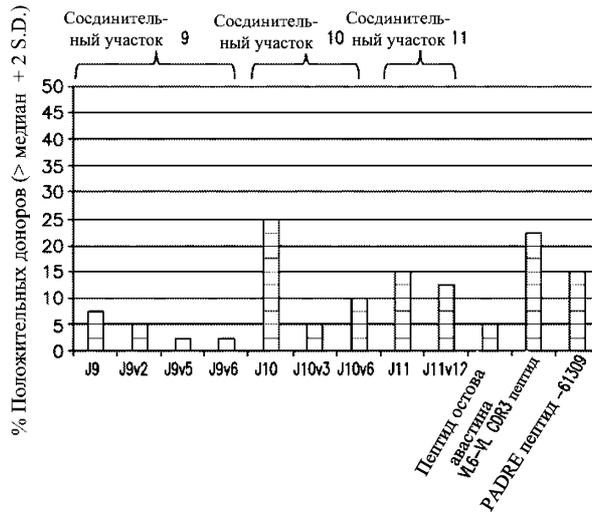


Название	Последовательность
J1 ✓ 1	Исходная WEC LRVASMEKQSNLH IHTVREETMMVMTE D
J7 ✓ 1	Исходная MPSSILMLE SDQWKRLH LSLQELL

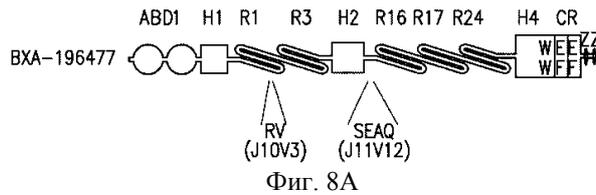
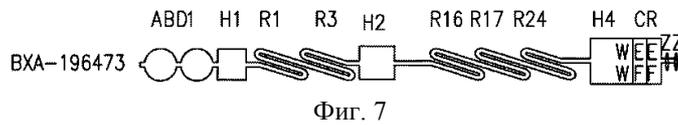
Фиг. 4



Фиг. 6А

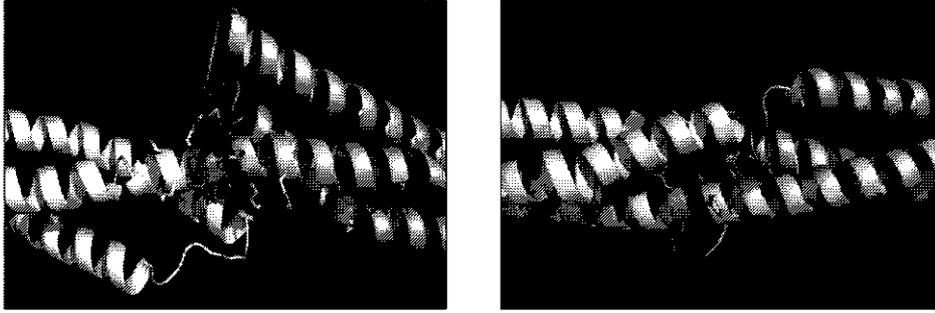


Фиг. 6В

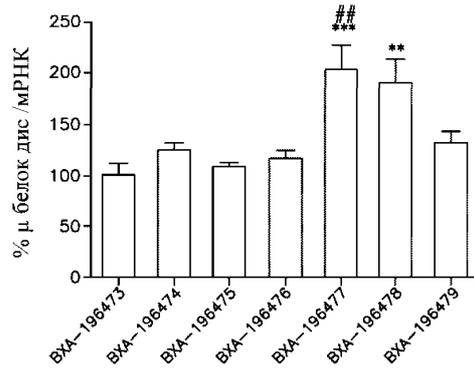


Исходный соединит. участок 10

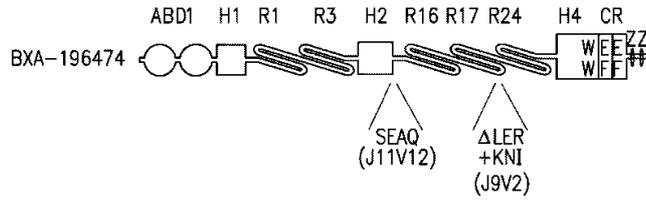
Соединительный участок 10 Версия 3



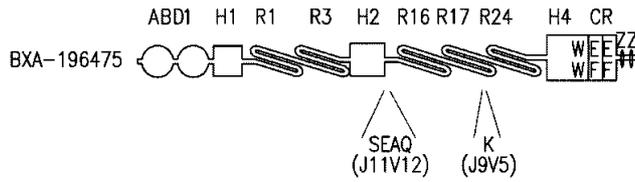
Фиг. 8В



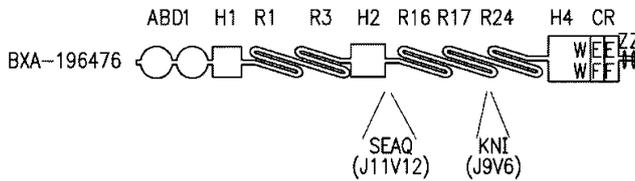
Фиг. 9



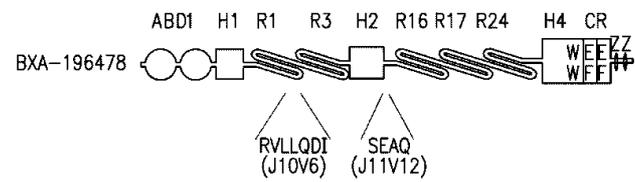
Фиг. 10



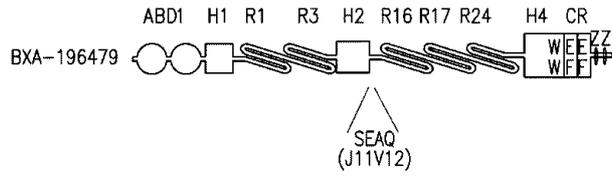
Фиг. 11



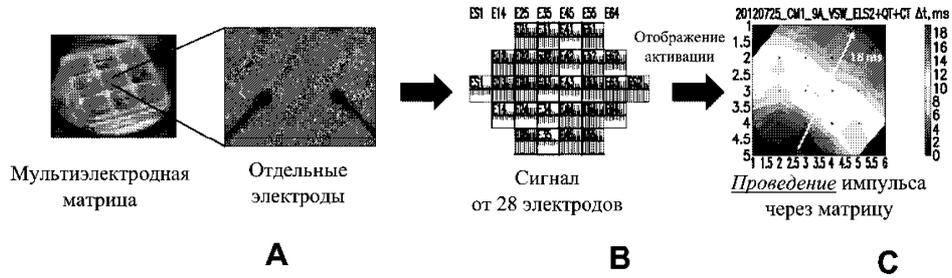
Фиг. 12



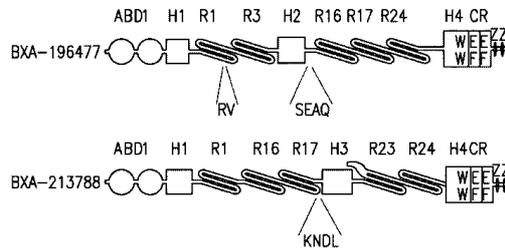
Фиг. 13



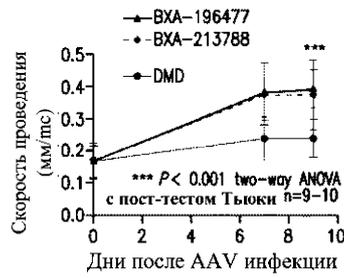
Фиг. 14



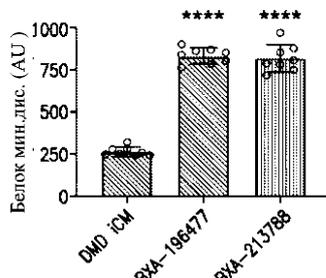
Фиг. 15A, B, C



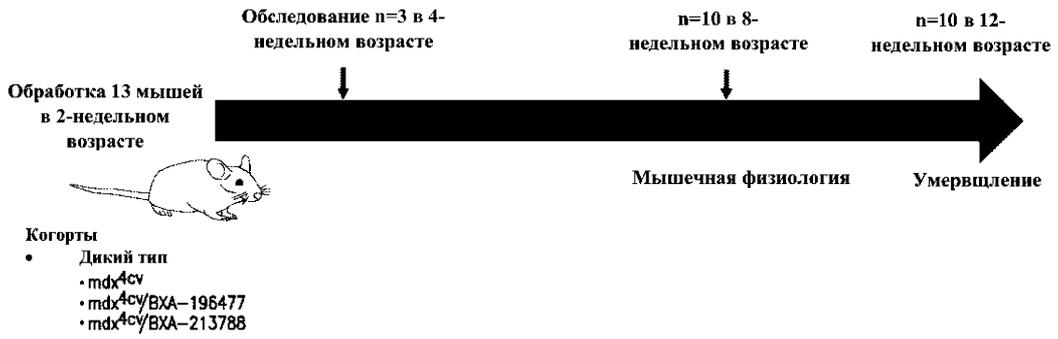
Фиг. 15D



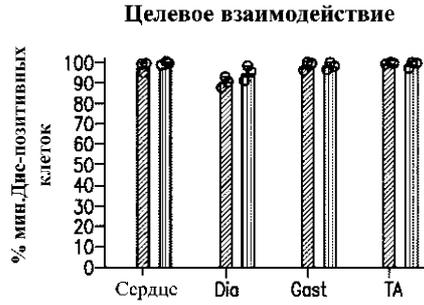
Фиг. 15E



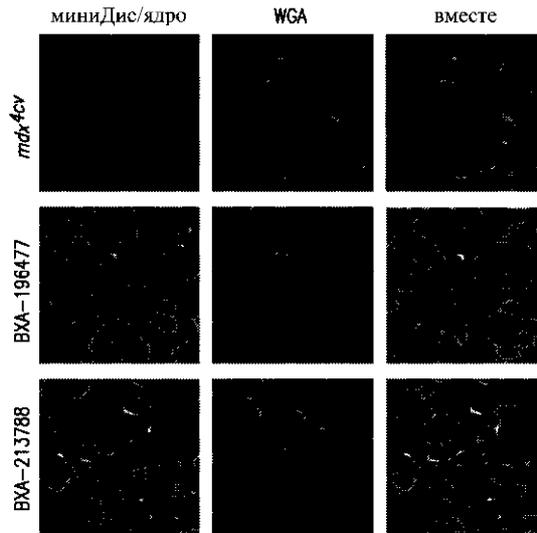
Фиг. 15F



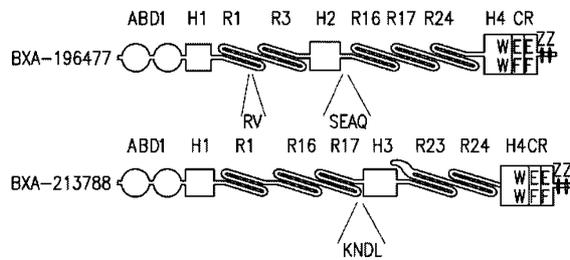
Фиг. 16



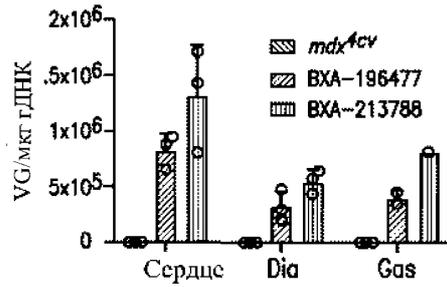
Фиг. 17А



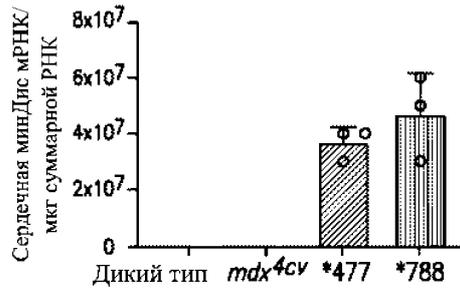
Фиг. 17В



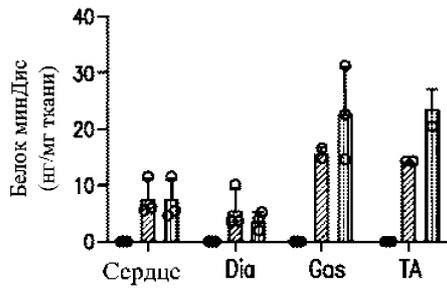
Фиг. 18А



Фиг. 18B

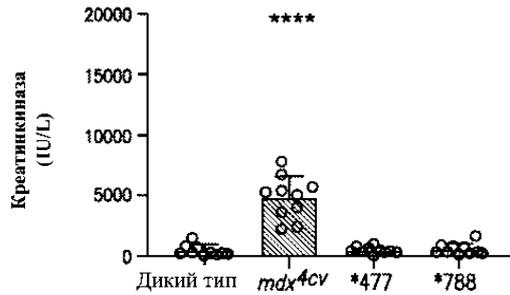


Фиг. 18C



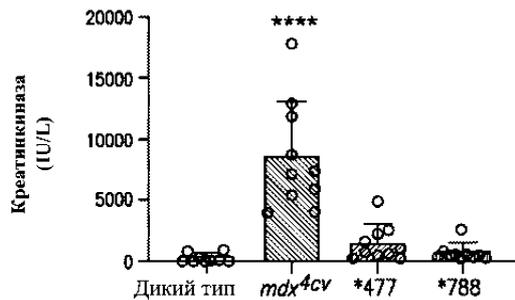
Фиг. 18D

Возраст 4 недели

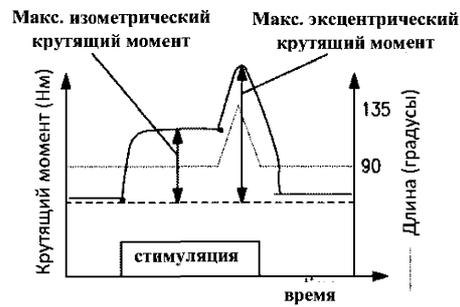
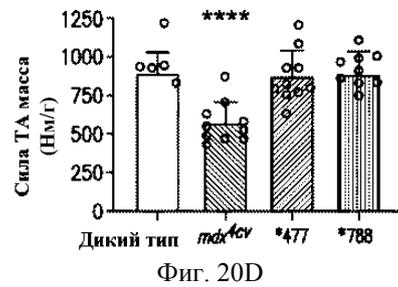
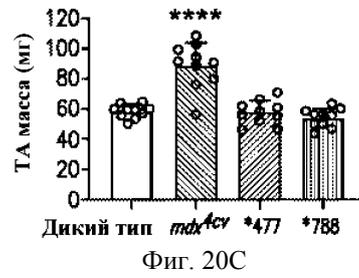
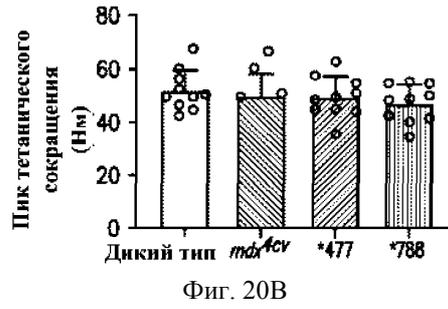
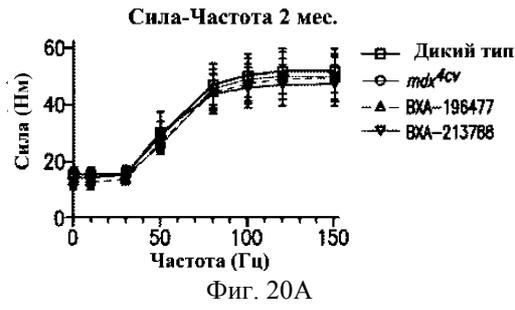


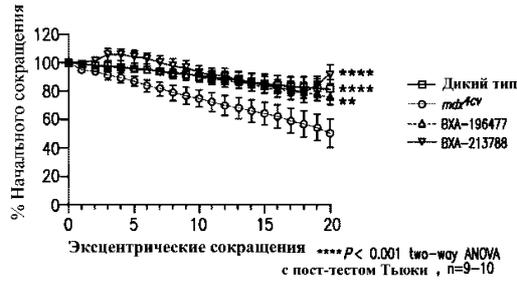
Фиг. 19A

Возраст 12 недель

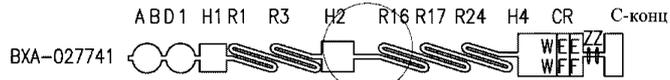


Фиг. 19B

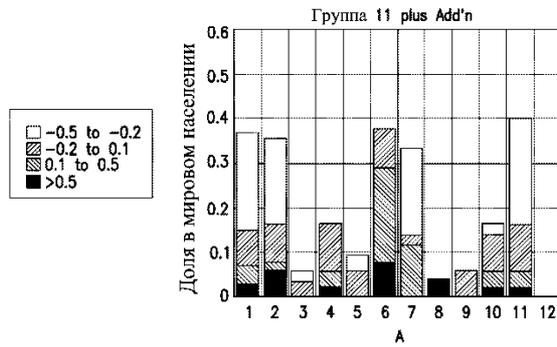




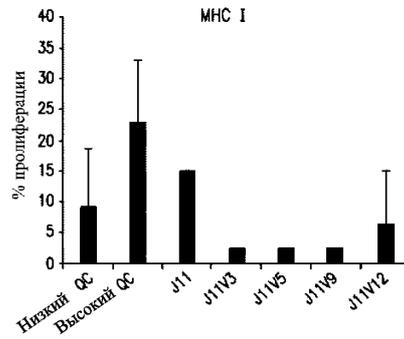
Фиг. 21В



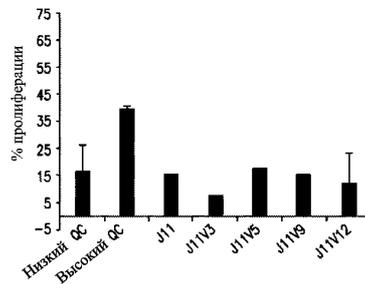
Фиг. 22А



Фиг. 22В



Фиг. 23А



Фиг. 23В

