

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 047022

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.05.27

(51) Int. Cl. *A61K 38/48* (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)

(21) Номер заявки
202190889

(22) Дата подачи заявки
2019.09.27

(54) КЛОСТРИДАЛЬНЫЕ НЕЙРОТОКСИНЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭКЗОГЕННУЮ ПЕТЛЮ АКТИВАЦИИ

(31) 1815817.0

(56) EP-B1-1999142
WO-A1-2016110662
WO-A1-2010020811
US-A1-2011111479

(32) 2018.09.28

(33) GB

(43) 2021.11.10

(86) PCT/GB2019/052732

(87) WO 2020/065336 2020.04.02

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ИПСЕН БИОФАРМ ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:
Купински Адам, Лоувелок Лаура (GB)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способу протеолитического процессинга одноцепочечного клостридиального нейротоксина в соответствующий двухцепочечный клостридиальный нейротоксин, причем способ включает предоставление одноцепочечного клостридиального нейротоксина; и приведение одноцепочечного клостридиального нейротоксина в контакт с энтерокиназой или фактором Ха; где одноцепочечный клостридиальный нейротоксин имеет петлю активации, содержащую полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1), где a=1-10 и b=4-15; и где энтерокиназа или фактор Ха гидролизует пептидную связь петли активации, тем самым продуцируя двухцепочечный клостридиальный нейротоксин. Изобретение также относится к сконструированным клостридиальным нейротоксинам и способам их изготовления, а также к родственным фармацевтическим композициям, нуклеотидным последовательностям и терапевтическим применениям.

B1

047022

047022
B1

Настоящее изобретение относится к клостридиальным нейротоксинам и к способам их активации и применения.

Бактерии рода *Clostridia* продуцируют в высокой степени сильнодействующие и специфические белковые токсины, которые могут отравлять нейроны и другие клетки, к которым они доставляются. Примеры таких клостридиальных нейротоксинов включают нейротоксины, продуцируемые *C. tetani* (TeNT) и *C. botulinum* (BoNT) серотипов A-G и X (см. WO 2018/009903 A2), а также нейротоксины, продуцируемые *C. baratii* и *C. butyricum*.

К клостридиальным нейротоксинам принадлежат некоторые из наиболее известных сильнодействующих токсинов. В качестве примера, ботулиновые нейротоксины имеют величины срединной летальной дозы (LD₅₀) для мышей в диапазоне от 0,5 до 5 нг/кг, в зависимости от серотипа. Как столбнячные, так и ботулиновые токсины действуют посредством ингибирования функции пораженных нейронов, в частности, высвобождения нейротрансмиттеров. В то время как ботулиновый токсин действует на нейромышечные соединения и ингибирует холинэргическую передачу в периферической нервной системе, столбнячный токсин действует в центральной нервной системе.

Клостридиальные нейротоксины экспрессируются в *Clostridium* в качестве одноцепочечных полипептидов. Каждый клостридиальный нейротоксин имеет каталитическую легкую цепь, отделенную от тяжелой цепи (охватывающую N-концевой домен транслокации и C-концевой рецептор-связывающий домен) находящейся на поверхности областью, называемой петлей активации. В ходе созревания белка протеолитическое расщепление петли активации разделяет легкую и тяжелую цепи клостридиального нейротоксина, которые удерживаются вместе дисульфидным мостиком, с образованием полностью активного двухцепочечного токсина. Этот процесс должен быть воспроизведен в ходе рекомбинантного продуцирования токсина.

Экзогенные протеазы, такие как трипсин или Lys-C, используют для протеолитической активации одноцепочечных клостридиальных нейротоксинов. Однако для некоторых клостридиальных нейротоксинов инкубация с Lys-C или трипсином приводит к частичному или ненадлежащему расщеплению одноцепочечного полипептида, что приводит к продуцированию контаминирующих одноцепочечных и/или неактивных продуктов расщепления/деградации (например, в случае BoNT/E), что делает необходимой очистку полноразмерного двухцепочечного полипептида. Таким образом, в настоящее время не существует универсальной экзогенной протеазы для активации клостридиальных нейротоксинов. Это является особенно проблематичным при идентификации нового клостридиального нейротоксина или продуцировании модифицированного (например, химерного или гибридного) нейротоксина, которые требуют скрининга множества протеаз для определения надлежащей активации.

Недавно был идентифицирован ботулиновый нейротоксин серотипа X (BoNT/X) (WO 2018/009903 A2). Было обнаружено, что BoNT/X особенно проблематично активировать, и расщепление трипсином или Lys-C приводит к полной деградации полипептида.

Настоящее изобретение решает одну или несколько из упомянутых выше проблем.

Протеаза энтерокиназа демонстрирует значительно более высокую специфичность к субстрату по сравнению с традиционно используемым трипсином и Lys-C. Эта протеаза распознает и сразу расщепляет C-конец до пептидной последовательности DDDDK (SEQ ID NO: 72). Примечательно, эта последовательность отсутствует во всех из петель активации клостридиального нейротоксина (см. фиг. 1), таким образом, энтерокиназа ранее была исключена в качестве протеазы для применения для активации клостридиальных нейротоксинов.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что энтерокиназа распознает и сразу расщепляет C-конец до последовательности IDGR, присутствующей в петле активации BoNT/C1 (см. фиг. 1). Преимущественно, эта последовательность также может распознаваться и расщепляться фактором Ха - другой протеазой, демонстрирующей высокую субстратную специфичность (например, по сравнению с трипсином и Lys-C). Более того, петля активации BoNT/C1 также имеет остатки лизина и аргинина, позволяя расщепление либо лизином, либо трипсином. Таким образом, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что петля BoNT/C1 представляет собой универсальную петлю активации для клостридиальных нейротоксинов, таким образом, обеспечивая универсальность в виде применения четырех различных протеаз.

В одном аспекте изобретение относится к способу протеолитического процессинга одноцепочечного клостридиального нейротоксина (например, сконструированного клостридиального нейротоксина, описанного в настоящем описании) в соответствующий двухцепочечный клостридиальный нейротоксин, причем способ включает:

- a) предоставление одноцепочечного клостридиального нейротоксина; и
- b) приведение одноцепочечного клостридиального нейротоксина в контакт с энтерокиназой; где одноцепочечный клостридиальный нейротоксин имеет петлю активации, содержащую полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1); и где энтерокиназа гидролизует пептидную связь петли активации, тем самым продуцируя двухцепочечный клостридиальный нейротоксин (например, сконструированный двухцепочечный клостридиальный нейротоксин, описанный в настоящем описании).

В родственном аспекте изобретение относится к способу протеолитического процессинга одноцепочечного кластридиального нейротоксина (например, сконструированного кластридиального нейротоксина, описанного в настоящем описании) в соответствующий двухцепочечный кластридиальный нейротоксин, причем способ включает:

- а) предоставление одноцепочечного кластридиального нейротоксина; и
- б) приведение одноцепочечного кластридиального нейротоксина в контакт с фактором Ха; где одноцепочечный кластридиальный нейротоксин имеет петлю активации, содержащую полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1); и где фактор Ха гидролизует пептидную связь петли активации, тем самым продуцируя двухцепочечный кластридиальный нейротоксин (например, сконструированный двухцепочечный кластридиальный нейротоксин, описанный в настоящем описании).

Одноцепочечный кластридиальный нейротоксин предпочтительно представляет собой сконструированный одноцепочечный кластридиальный нейротоксин по настоящему изобретению, где петля активации представляет собой экзогенную петлю активации. Преимущественно, авторы настоящего изобретения обнаружили, что замена эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина на экзогенную петлю активации, указанную в качестве SEQ ID NO: 1 (которая содержит участок расщепления протеазой в ее естественном контексте) решает проблемы, ассоциированные с модификацией эндогенной петли активации для встраивания участка расщепления протеазой (например, участок расщепления фактором Ха, такой как Ile-Asp-Gly-Arg [SEQ ID NO: 18] или Ile-Glu-Gly-Arg [SEQ ID NO: 19]). В частности, модификация эндогенной петли активации для встраивания участка расщепления протеазой может приводить к конформационным изменениям, которые в свою очередь могут иметь негативный эффект на эффективность расщепления (см) пример 7 настоящего описания).

В особенно предпочтительном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают применение энтерокиназы.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к применению энтерокиназы для гидролиза пептидной связи полипептида (например, кластридиальный нейротоксин), содержащего последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 18 или SEQ ID NO: 19 (предпочтительно SEQ ID NO: 18). Предпочтительно энтерокиназа гидролизует пептидную связь, являющуюся непосредственно С-концевой для SEQ ID NO: 18 или SEQ ID NO: 19 (более предпочтительно SEQ ID NO: 18), содержащейся в полипептидной последовательности. В одном варианте осуществления полипептид содержит полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 1, или полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3.

Настоящее изобретение также относится к способу получения сконструированного кластридиального нейротоксина, причем способ включает:

- а) идентификацию эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина, где кластридиальный нейротоксин отличается тем, что пептидная связь снаружи эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина гидролизуется трипсином или Lys-C; и
- б) замену эндогенной петли активации экзогенной петлей активации, тем самым получая сконструированный кластридиальный нейротоксин, где экзогенная петля активации содержит полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1).

Настоящее изобретение также относится к способу получения сконструированного кластридиального нейротоксина, причем способ включает:

- а) идентификацию эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина, где кластридиальный нейротоксин отличается тем, что эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином или Lys-C; и
- б) замену эндогенной петли активации экзогенной петлей активации, тем самым получая сконструированный кластридиальный нейротоксин, где экзогенная петля активации содержит полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1).

В одном варианте осуществления кластридиальный нейротоксин характеризуется тем, что пептидная связь вне эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина гидролизуется трипсином или Lys-C, и эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином или Lys-C.

В вариантах осуществления, где эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином (и предпочтительно пептидная связь вне эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина не гидролизуется трипсином), способ может дополнительно включать приведение сконструированного кластридиального нейротоксина в контакт с трипсином, который способен гидролизовать пептидную связь в экзогенной петле активации сконструированного кластридиального нейротоксина. Аналогично, в вариантах осуществления, где эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется посредством Lys-C (и предпочтительно пептидная связь не эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина не гидролизуется Lys-C), способ может дополнительно включать приведение сконструированного кластридиального нейротоксина в контакт с Lys-C, который

способен гидролизовать пептидную связь в экзогенной петле активации сконструированного клостридиального нейротоксина.

В одном варианте осуществления способ включает стадию скрининга клостридиального нейротоксина в отношении пригодности для применения в способе по изобретению. Стадия скрининга может включать определение того, гидролизуется ли пептидная связь вне эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина трипсином или Lys-C. Альтернативно или дополнительно, стадия скрининга может включать определение того, является ли неэффективным протеолитический процессинг эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина посредством трипсина или Lys-C.

В противоположность клостридиальному нейротоксину (до модификации способами инженерии) в одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению не является неэффективно протеолитически процессируемым энтерокиназой или фактором Ха, и/или пептидная связь вне экзогенной петли активации сконструированного клостридиального нейротоксина не гидролизуется энтерокиназой или фактором Ха. Таким образом, клостридиальный нейротоксин (до модификации способами инженерии) предпочтительно является резистентным к протеолитическому процессингу энтерокиназой и/или фактором Ха.

Клостридиальный нейротоксин можно идентифицировать в качестве пригодного для модификации способами инженерии в способе по изобретению посредством анализа, включающего приведение в контакт 1 мг клостридиального нейротоксина по меньшей мере с 0,25 мкг трипсина, ≥ 3350 единиц/мг, или Lys-C, ≥ 200 единиц/мг, в 50 мМ реакционном буфере Tris-HCl pH 8,0, 50 мМ NaCl, в течение по меньшей мере 5 часов при по меньшей мере 4°C.

В одном варианте осуществления анализ включает приведение в контакт 1 мг клостридиального нейротоксина с 0,25 мкг трипсина, ≥ 3350 единиц/мг (молярное соотношение клостридиального нейротоксина и трипсина $\sim 1:611$) или Lys-C, ≥ 200 единиц/мг (молярное соотношение клостридиального нейротоксина и Lys-C $\sim 1:734$) в 50 мМ реакционном буфере Tris-HCl pH 8,0, 50 мМ NaCl, в течение 18 часов при 4°C.

В другом варианте осуществления анализ включает приведение в контакт 1 мг клостридиального нейротоксина с 0,40 мкг трипсина, ≥ 3350 единиц/мг (молярное соотношение клостридиального нейротоксина и трипсина $\sim 1:978$) или Lys-C, ≥ 200 единиц/мг (молярное соотношение клостридиального нейротоксина и Lys-C $\sim 1:1174$) в 50 мМ реакционном буфере Tris-HCl pH 8,0, 50 мМ NaCl, в течение 5 часов при 20°C.

Используемый трипсин предпочтительно представляет собой коммерчески доступный TrypZean (Sigma# T3568). Трипсин может иметь полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 47. В одном варианте осуществления трипсин может иметь полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 47. Предпочтительно трипсин может иметь полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 47. Одну единицу указанного трипсина (Trypzean) определяют как количество фермента, которое вызывает изменение поглощения при 253 нм, составляющее 0,003 в мин, при pH 7,6 при 25°C с использованием 0,23 мМ раствора этилового эфира N-бензоил-L-аргинина (BAEE) в качестве субстрата в объеме реакции 3,2 мл.

Используемый Lys-C предпочтительно представляет собой коммерчески доступный Lys-C (Sigma# 00000011047825001). Lys-C может иметь полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 48. В одном варианте осуществления Lys-C может иметь полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 48. Предпочтительно Lys-C может иметь полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 48. Одну единицу указанного Lys-C определяют как количество фермента, которое гидролизует 1,0 мкмоль Tos-Gly-Pro-Lys-pNA в мин при 25°C, pH 7.

Если посредством SDS-PAGE наблюдают один или несколько продуктов расщепления, дополнительных к продуктам расщепления N-цепи и L-цепи клостридиального нейротоксина (предпочтительно при окрашивании кумасси или красителем с эквивалентной чувствительностью), тогда подтверждается, что пептидная связь вне эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина гидролизуется трипсином или Lys-C. Предпочтительно если посредством SDS-PAGE наблюдают по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 продуктов расщепления, дополнительных к продуктам расщепления N-цепи и L-цепи клостридиального нейротоксина после проведения анализа, описанного выше, тогда подтверждается, что пептидная связь вне эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина гидролизуется посредством трипсина или Lys-C.

Дополнительно или альтернативно, если менее 70% эндогенной петли активации протеолитически процессируются трипсином или Lys-C с образованием двухцепочечного клостридиального нейротоксина (при оценке посредством SDS-PAGE, предпочтительно с окрашиванием кумасси или красителем с эквивалентной чувствительностью, после проведения анализа, описанного выше), тогда подтверждается, что эндогенная петля активации неэффективно протеолитически расщепляется трипсином или Lys-C. Предпочтительно если менее 60, 50, 40, 30, 10 или 5% эндогенной петли активации протеолитически процес-

сируются трипсином или Lys-C (при оценке посредством SDS-PAGE после проведения анализа, описанного выше), тогда кластридиальный нейротоксин может характеризоваться тем, что эндогенная петля активации неэффективно протеолитически расщепляется трипсином или Lys-C. Более предпочтительно если менее 30% эндогенной петли активации протеолитически процессируются трипсином или Lys-C (при оценке посредством SDS-PAGE после проведения анализа, описанного выше) тогда кластридиальный нейротоксин может характеризоваться тем, что эндогенная петля активации неэффективно протеолитически расщепляется трипсином или Lys-C.

Кластридиальный нейротоксин (до модификации способами инженерии) предпочтительно представляет собой нейротоксин, в котором пептидная связь (либо внутри, либо вне петли активации) не гидролизуется или по существу не гидролизуется энтерокиназой или фактором Ха. Термин "по существу не гидролизуется" означает, что менее 10, 5, 4, 3, 2 или 1% кластридиального нейротоксина, присутствующего в реакции, содержит пептидную связь, которая гидролизуется энтерокиназой или фактором Ха, в способе по изобретению.

В одном варианте осуществления способ по изобретению дополнительно включает приведение в контакт сконструированного кластридиального нейротоксина с энтерокиназой или фактором Ха (более предпочтительно энтерокиназой), тем самым получая соответствующий двухцепочечный сконструированный кластридиальный нейротоксин.

В одном аспекте изобретение относится к сконструированному кластридиальному нейротоксину (например, получаемому способом по изобретению), где эндогенная петля активации кластридиального нейротоксина заменена экзогенной петлей активации, тем самым получая сконструированный кластридиальный нейротоксин, где экзогенная петля активации содержит полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ple-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1).

В одном варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (до модификации способами инженерии) характеризуется тем, что: пептидная связь вне эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина гидролизуется трипсином или Lys-C. В одном варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (до модификации способами инженерии) характеризуется тем, что: эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином или Lys-C. В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (до модификации способами инженерии) характеризуется тем, что: пептидная связь вне эндогенной петли активации кластридиального нейротоксина гидролизуется трипсином или Lys-C; и эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином или Lys-C. Подтверждение этих признаков кластридиального нейротоксина (до модификации способами инженерии) предпочтительно проводится посредством вышеупомянутого способа анализа.

Изобретение может включать замену эндогенной петли активации любого кластридиального нейротоксина экзогенной петлей активации, описанной в настоящем описании. Предпочтительно кластридиальный нейротоксин не является BoNT/C1. Кластридиальный нейротоксин может представлять собой ботулиновый токсин или столбнячный нейротоксин. Предпочтительно кластридиальный нейротоксин представляет собой ботулиновый нейротоксин (BoNT), такой как BoNT/A, BoNT/B, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F, BoNT/G или BoNT/X.

В одном варианте осуществления кластридиальный нейротоксин для применения в рамках настоящего изобретения представляет собой BoNT/X, BoNT/E или гибрид BoNT/A1C1. Предпочтительно кластридиальный нейротоксин представляет собой BoNT/X или BoNT/E, оба из которых характеризуются тем, что трипсин и/или Lys-C гидролизует пептидную связь вне его эндогенной путли активации, и/или тем, что оба кластридиальных нейротоксина содержат эндогенную петлю активации, которая неэффективно протеолитически процессируется трипсином и/или Lys-C. Наиболее предпочтительно кластридиальный нейротоксин для применения в рамках настоящего изобретения представляет собой BoNT/X.

Термин "эндогенная петля активации", как используют в рамках изобретения, означает петлю активации, присутствующую в рассматриваемом кластридиальном нейротоксине, например, рассматриваемом кластридиальном нейротоксине указанного серотипа. Например, BoNT/A1 включает тяжелую цепь и легкую цепь BoNT/A1, таким образом, эндогенная петля активации BoNT/A1 представляет собой петлю активации A1. Для химер или гибридов кластридиального нейротоксина специалист в данной области может идентифицировать "эндогенную петлю активации", например, посредством определения серотипа(ов), из которого происходит L-цепь и H_N-домен. В некоторых вариантах осуществления химерный или гибридный кластридиальный нейротоксин может иметь эндогенную петлю активации, которая представляет собой слитую конструкцию петель активации из двух различных серотипов. В качестве примера, химерный кластридиальный нейротоксин, такой как BoNT/A1C1, имеет легкую цепь и домен транслокации BoNT/A1, таким образом, эндогенная петля активации BoNT/A1C1 представляет собой петлю активации A1. Примеры петель активации приведены на фиг. 1.

Предпочтительно "эндогенная петля активации" представляет собой любую петлю активации, которая не является SEQ ID NO: 1. В одном варианте осуществления "эндогенная петля активации" представляет собой любую петлю активации, которая не является SEQ ID NO: 2 и/или SEQ ID NO: 3.

Напротив, "экзогенная петля активации", как используют в рамках изобретения, означает петлю активации, которая отличается от эндогенной петли активации, присутствующей в рассматриваемом кло-

стридиальном нейротоксине, например, рассматриваемом кластридиальном нейротоксине указанного серотипа. Например, петля активации BoNT/C1 имеет полипептидную последовательность, отличную от петли активации BoNT/A1 дикого типа, таким образом, петля активации BoNT/C1 является экзогенной для BoNT/A1. Для химер или гибридов кластридиального нейротоксина, специалист в данной области может определить, является ли петля активации "экзогенной петлей активации", например, посредством определения серотипа(ов), из которого происходят L-цепь и H_N-домен. Когда L-цепь представляет собой L-цепь BoNT/B и H_N-домен происходит из BoNT/D, эндогенная петля активации может иметь часть последовательности BoNT/B и часть последовательности BoNT/D, и, если петля активации (например, петля активации C1) отличается от нее, ее считают "экзогенной петлей активации".

Определение того, является ли петля активации "экзогенной петлей активации", можно проводить путем выравнивания последовательности рассматриваемого кластридиального нейротоксина с петлей активации и выявления, присутствует ли петля активации в рассматриваемой последовательности кластридиального нейротоксина. Если она отсутствует, тогда петля активации может быть идентифицирована как экзогенная петля активации.

Предпочтительно вся эндогенная петля активации заменена экзогенной петлей активации, описанной в настоящем описании. Однако в некоторых вариантах осуществления часть эндогенной петли активации заменена, как например, по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 или 40 аминокислотных остатков эндогенной петли активации заменены.

Замену эндогенной петли активации можно проводить любым способом, известным в данной области. Например, замену можно проводить посредством модификации аминокислот. В одном варианте осуществления эндогенная петля активации может быть заменена путем делеции одного или нескольких аминокислотных остатков эндогенной петли активации. Эндогенная петля активации может быть заменена путем замены одного или нескольких аминокислотных остатков эндогенной петли активации на аминокислотные остатки экзогенной петли активации. В некоторых вариантах осуществления эндогенная петля активации (или ее часть) может быть удалена и экзогенная петля активации встроена, предпочтительно в положении, которое прежде занимала эндогенная петля активации. Альтернативно эндогенная петля активации может сохраняться в сконструированном кластридиальном нейротоксине по изобретению и предпочтительно инактивирована (например, посредством мутации). Предпочтительно чтобы эндогенная петля активации (или ее часть, более предпочтительно вся эндогенная петля активации) не присутствовала в сконструированном кластридиальном нейротоксине по изобретению. Предпочтительно чтобы экзогенная петля активации занимала положение в кластридиальном нейротоксине, которое ранее занимала эндогенная петля активации.

Способы модификации белков путем замены, вставки или делеции аминокислотных остатков известны в данной области и могут использоваться при применении настоящего изобретения на практике. В качестве примера, аминокислотные модификации можно вносить путем модификации последовательности ДНК, кодирующей кластридиальный нейротоксин. Этого можно достигать с использованием стандартных способов молекулярного клонирования, например, посредством сайт-направленного мутагенеза, где короткие цепи ДНК (олигонуклеотидов), кодирующие желаемую аминокислоту(ы), используют для замены исходной кодирующей последовательности с использованием фермента полимеразы, или посредством вставки/делеции частей гена с использованием различных ферментов (например, лигазы и эндонуклеазы рестрикции). Альтернативно, модифицированная последовательность гена может быть химически синтезирована.

В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% (например, по меньшей мере 80% или 90%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71. В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71. Предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, представленную в качестве SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71.

В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% (например, по меньшей мере 80% или 90%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68 или SEQ ID NO: 69. В одном варианте

осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68 или SEQ ID NO: 69. Предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68 или SEQ ID NO: 69.

В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% (например, по меньшей мере 80% или 90%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 24. В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 24. Предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 24.

Предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% (например, по меньшей мере 80% или 90%) идентичностью последовательности SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 20. Более предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 20.

Предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% (например, по меньшей мере 80% или 90%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 21. В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 21. Более предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 21.

Предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% (например, по меньшей мере 80% или 90%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24. В одном варианте осуществления эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24. Более предпочтительно эндогенная петля активации содержит полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 24.

Настоящее изобретение охватывает способы и кластридиальные нейротоксины, в которых эндогенная петля активации заменена экзогенной петлей активации, такой как экзогенная петля активации, содержащая полипептид, указываемый как Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1). Хаа или Yaa может представлять собой любую аминокислоту. Количество аминокислот в положении Хаа и Yaa указано буквами "a" и "b", соответственно. В одном варианте осуществления "a" и "b" могут представлять собой любое целое число, которое позволяет протеолитическое расщепление петли активации и обеспечивает активный двухцепочечный кластридиальный нейротоксин. В одном варианте осуществления "a" составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В одном варианте осуществления "b" составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15. В одном варианте осуществления "a" составляет ≤ 12 , ≤ 11 , ≤ 10 , ≤ 9 , ≤ 8 , ≤ 7 , ≤ 6 , ≤ 5 или ≤ 4 . В одном варианте осуществления "b" составляет ≤ 20 , ≤ 19 , ≤ 18 , ≤ 17 , ≤ 16 , ≤ 15 , ≤ 14 , ≤ 13 , ≤ 12 , ≤ 11 , ≤ 10 или ≤ 9 .

В одном варианте осуществления "a" составляет 1-12, например, 1-10. Предпочтительно "a" составляет 1-7, как например, 2-4. Более предпочтительно "a" составляет 3. В одном варианте осуществления "b" составляет 1-20, например, 4-15. Предпочтительно "b" составляет 6-10. Более предпочтительно "b" составляет 8.

Подразумевается, что Хаа или Yaa ограничиваются только одним типом аминокислот. Таким образом, один или несколько остатков, присутствующих в положении Хаа, могут быть независимо выбраны из стандартных аминокислот: аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аргинин, лизин, гистидин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, метионин, триптофан, цистеин, аланин, глицин, валин, лейцин, изолейцин, пролин и фенилаланин. Один или несколько остатков, присутствующих в положении Yaa, могут быть независимо выбраны из стандартных аминокислот: аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аргинин, лизин, гистидин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, метионин, триптофан, цистеин, аланин, глицин, валин, лейцин, изолейцин, пролин и фенилаланин. Предпочтительно аминокислота в положении Yaa (более предпочтительно непосредственно с С-концевой стороны от остатка Arg в SEQ ID NO: 1) не является пролином.

Альтернативно/дополнительно, один или несколько остатков, присутствующих в положении Хаа или Yaa, могут быть независимо выбраны из нестандартной аминокислоты (аминокислота, которая является частью стандартного набора из 20, описанных выше). В качестве примера, нестандартные аминокислоты могут включать 4-гидроксипролин, 6-N-метиллизин, 2-аминоизомаляновую кислоту, изовалин, α-метилсерин, транс-3-метилпролин, 2,4-метанопронин, цис-4-гидроксипролин, транс-4-гидроксипролин,

N-метилглицин, аллотреонин, метилтреонин, гидроксиэтилцистеин, гидроксиэтилгомоцистеин, нитро-глутамин, гомоглутамин, пипеколиновую кислоту, трет-лейцин, норвалин, 2-азафенилаланин, 3-азафенилаланин, 4-азафенилаланин, L-орнитин, L-2-амино-3-гуанидинопропионовую кислоту, или D-изомеры лизина, аргинина и/или орнитина, и 4-фторфенилаланин. Способы внесения нестандартных аминокислот в белки известны в данной области и включают синтез рекомбинантных белков с использованием ауксотрофных экспрессирующих хозяев *E. coli*.

Свойства стандартных аминокислот указаны в таблице ниже:

АМИНОКИСЛОТА			БОКОВАЯ ЦЕПЬ
Аспарагиновая кислота	Asp	D	Заряженная (кислотная)
Глутаминовая кислота	Glu	E	Заряженная (кислотная)
Аргинин	Arg	R	Заряженная (основная)
Лизин	Lys	K	Заряженная (основная)
Гистидин	His	H	Незаряженная (полярная)
Аспарагин	Asn	N	Незаряженная (полярная)
Глутамин	Gln	Q	Незаряженная (полярная)
Серин	Ser	S	Незаряженная (полярная)
Треонин	Thr	T	Незаряженная (полярная)
Тирозин	Tyr	Y	Незаряженная (полярная)
Метонин	Met	M	Незаряженная (полярная)
Триптофан	Trp	W	Незаряженная (полярная)
Цистеин	Cys	C	Незаряженная (полярная)
Аланин	Ala	A	Незаряженная (гидрофобная)
Глицин	Gly	G	Незаряженная (гидрофобная)
Валин	Val	V	Незаряженная (гидрофобная)
Лейцин	Leu	L	Незаряженная (гидрофобная)
Изолейцин	Ile	I	Незаряженная (гидрофобная)
Пролин	Pro	P	Незаряженная (гидрофобная)
Фенилаланин	Phe	F	Незаряженная (гидрофобная)

Следующие аминокислоты считаются заряженными аминокислотами: аспарагиновая кислота (отрицательно), глутаминовая кислота (отрицательно), аргинин (положительно) и лизин (положительно).

Последовательность Ile-Asp/Glu-Gly-Arg, содержащаяся в SEQ ID NO: 1, относится к участку, который, как неожиданно было обнаружено авторами настоящего изобретения, распознается энтерокиназой (а также фактором Ха). Предпочтительно последовательность представляет собой Ile-Asp-Gly-Arg, например, Cys-(Хаа)_a-Ile-Asp-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys. Полагают, что энтерокиназа и фактор Ха гидролизуют пептидную связь непосредственно с С-концевой стороны от Arg в SEQ ID NO: 1 (т.е. пептидная связь между Arg и Yaa).

В одном варианте осуществления аминокислотный остаток Хаа непосредственно с N-концевой стороны от Ile в SEQ ID NO: 1 представляет собой незаряженную гидрофобную аминокислоту, предпочтительно аланин. В некоторых вариантах осуществления "a" составляет по меньшей мере 2, и Хаа содержит по меньшей мере С-концевую незаряженную полярную аминокислоту и заряженную основную аминокислоту непосредственно с N-концевой стороны от нее. Предпочтительно заряженная основная аминокислота представляет собой лизин. Таким образом в вариантах осуществления, где "a" составляет по меньшей мере 2, Хаа может содержать по меньшей мере Lys-Ala, где Ala находится непосредственно с N-концевой стороны от Ile в SEQ ID NO: 1.

В одном варианте осуществления Хаа содержит или состоит из последовательности НКА.

В одном варианте осуществления аминокислотный остаток Yaa непосредственно с С-концевой стороны от Arg в SEQ ID NO: 1 представляет собой незаряженную полярную аминокислоту, предпочтительно серин. В некоторых вариантах осуществления "b" составляет по меньшей мере 2, и Yaa содержит по меньшей мере N-концевую незаряженную полярную аминокислоту и незаряженную гидрофобную аминокислоту непосредственно с С-концевой стороны от нее. Предпочтительно незаряженная гидрофобная аминокислота представляет собой лейцин. Таким образом в вариантах осуществления, где "b" составляет по меньшей мере 2, Yaa может содержать по меньшей мере Ser-Leu, где Ser находится непосредственно с С-концевой стороны от Arg в SEQ ID NO: 1.

В одном варианте осуществления Yaa содержит или состоит из последовательности SLYNKTLDC.

В некоторых вариантах осуществления экзогенная петля активации обладает по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2. В одном варианте осуществления экзогенная петля активации обладает по меньшей мере 80%, 85% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2. Предпочтительно экзогенная петля активации обладает по меньшей мере 95% идентичностью

последовательности с SEQ ID NO: 2. Более предпочтительно экзогенная петля активация обладает по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2.

В особенно предпочтительном варианте осуществления экзогенная петля содержит SEQ ID NO: 2. Более предпочтительно экзогенная петля состоит из SEQ ID NO: 2.

Экзогенная петля также может представлять собой вариант SEQ ID NO: 2, такой как SEQ ID NO: 3, или последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью с ними. SEQ ID NO: 3 представляет собой вариант SEQ ID NO: 2, в котором в участок распознавания энтерокиназой IDGR внесена мутация на IEGR. В одном варианте осуществления экзогенная петля активации обладает по меньшей мере 80%, 85% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3. Предпочтительно экзогенная петля активации обладает по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3. Более предпочтительно экзогенная петля активации обладает по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 3.

В особенно предпочтительном варианте осуществления экзогенная петля содержит SEQ ID NO: 3. Более предпочтительно экзогенная петля состоит из SEQ ID NO: 3.

Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению (например, сконструированный клостридиальный нейротоксин) может кодироваться нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12. В одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению может кодироваться нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению может кодироваться нуклеотидной последовательностью, содержащей (более предпочтительно состоящей из) SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12.

Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению (например, сконструированный клостридиальный нейротоксин) может содержать полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13. В одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению может содержать полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению может содержать (более предпочтительно состоять из) полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13.

Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению (например, сконструированный клостридиальный нейротоксин) предпочтительно представляет собой BoNT/X, где клостридиальный нейротоксин кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. В одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин кодируется нуклеотидной последовательностью, содержащей (или состоящей из) SEQ ID NO: 4. Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению предпочтительно представляет собой BoNT/X, где клостридиальный нейротоксин содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 5. В одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 5. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин содержит (или состоит из) полипептидной последовательности, указанной в качестве SEQ ID NO: 5.

Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению (например, сконструированный клостридиальный нейротоксин) предпочтительно представляет собой BoNT/E, где клостридиальный нейротоксин кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 10. В одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 10. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин кодируется нуклеотидной последовательностью, содержащей (или состоящей из) SEQ ID NO: 10. Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению предпочтительно представляет собой BoNT/E, где клостридиальный нейротоксин содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11. В одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин содержит (или состоит из) полипептидную последовательность, указанную в качестве SEQ ID NO: 11.

В некоторых вариантах осуществления полипептидные последовательности по изобретению (или нуклеотидные последовательности, кодирующие их) могут включать метку для очистки, такую как His-

метка. Подразумевается, что настоящее изобретение также охватывает полипептидные последовательности (и нуклеотидные последовательности, кодирующие их) где метка для очистки удалена.

Настоящее изобретение охватывает приведение в контакт одноцепочечного клостридиального нейротоксина (например, сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению) с протеазой, способной гидролизовать пептидную связь в петле активации одноцепочечного клостридиального нейротоксина, тем самым получая двухцепочечный клостридиальный нейротоксин. Протеаза может представлять собой эндопептидазу. Протеаза может представлять собой энтерокиназу, фактор Ха, Lys-C или трипсин. Предпочтительно протеаза представляет собой энтерокиназу или фактор Ха, более предпочтительно энтерокиназу.

Термин "энтерокиназа" или "ЕК" охватывает энтерокиназы, описанные в настоящем описании, а также любую протеазу, обладающую структурным и/или функциональным сходством (предпочтительно структурным и функциональным сходством), которая способна гидролизовать пептидную связь SEQ ID NO: 1. Подходящая энтерокиназа представляет собой легкую цепь энтерокиназы, которая является коммерчески доступной от NEB (#P8070). Одна единица может быть определена как количество фермента, требуемого для расщепления 25 мкг субстрата MBP-EK-парамиозин-ΔSal до завершения на 95% в течение 16 часов при 25°C в общем объеме реакции 25 мкл (20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 2 mM CaCl₂ (pH 8,0) при 25°C)).

В одном варианте осуществления энтерокиназа содержит последовательность полипептида, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 49. В некоторых вариантах осуществления энтерокиназа содержит последовательность полипептида, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 49. Предпочтительно энтерокиназа содержит (более предпочтительно состоит из) SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления энтерокиназа может дополнительно содержать тяжелую цепь, где тяжелая и легкая цепи соединены дисульфидным мостиком. Такие энтерокиназы являются коммерчески доступными (например, от R&D Systems).

Термин "фактор Ха" охватывает фактор Ха, описанный в настоящем описании, а также любую протеазу, обладающую структурным и/или функциональным сходством (предпочтительно структурным и функциональным сходством), которая способна гидролизовать пептидную связь SEQ ID NO: 1. Подходящий фактор Ха является коммерчески доступным от NEB (#P8010). Одна единица может быть определена как количество фактора Ха, требуемое для расщепления 50 мкг тестируемого субстрата в виде слитого белка MBP, MBP-ΔSal (субстрат MBP-ΔSal представляет собой связывающий мальтозу белок, слитый с укороченной формой парамиозина, с аминокислотами Ile-Glu-Gly-Arg в точке слияния) до завершения на 95% в течение 6 часов или менее при 23°C в объеме реакции 50 мкл (20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 2 mM CaCl₂ (pH 8,0)).

В одном варианте осуществления фактор Ха содержит полипептидную последовательность, обладающую тяжелой цепью по меньшей мере с 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 50 и легкой цепью по меньшей мере с 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 51, где тяжелая и легкая цепи соединены дисульфидным мостиком. В некоторых вариантах осуществления фактор Ха содержит полипептидную последовательность, обладающую тяжелой цепью по меньшей мере с 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 50 и легкой цепью по меньшей мере с 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 51, где тяжелая и легкая цепи соединены дисульфидным мостиком. Предпочтительно фактор Ха содержит (более предпочтительно состоит из) SEQ ID NO: 50 и SEQ ID NO: 51, где тяжелая и легкая цеп соединены дисульфидным мостиком.

Приведение в контакт может происходить в любых подходящих условиях, которые приводят к продуцированию более 30%, 40%, 50% или 60% (предпочтительно более 70%) одноцепочечного клостридиального нейротоксина, протеолитически процессуемого в соответствующий двухцепочечный клостридиальный нейротоксин без гидролиза или без существенного гидролиза пептидной связи вне петли активации указанного клостридиального нейротоксина. "Без существенного гидролиза" может означать, что менее 5%, 4%, 3%, 2% или 1% контактирующих клостридиальных нейротоксинов содержат пептидную связь вне петли активации, которая гидролизует протеазой в способе по изобретению.

Специалист в данной области может выбрать подходящее время реакции, температуру, буферы и молярное соотношение протеазы и одноцепочечного клостридиального нейротоксина для достижения вышеуказанного. Оптимизация таких условий может быть определена эмпирически с использованием стандартных способов, таких как визуальный анализ SDS-PAGE (например, при окрашивании кумасси или красителем со сходной чувствительностью) продуктов реакции после указанного приведения в контакт или спектрометрические способы (например, масс-спектрометрия).

При оценке посредством SDS-PAGE (например, при окрашивании кумасси или красителем со сходной чувствительностью) способ по изобретению предпочтительно приводит к продуцированию только L-цепи и N-цепи клостридиального нейротоксина.

В одном варианте осуществления протеолитический процессинг посредством протеазы в способе по изобретению приводит к продуцированию менее 5 продуктов деградации L-цепи или N-цепи клост-

ридиального нейротоксина, более предпочтительно менее 4, 3, 2 или 1 продуктов деградации. Предпочтительно L-цепь и H-цепь, продуцируемые способом по изобретению, представляют собой полноразмерные L-цепь и H-цепь.

Таким образом, в особенно предпочтительном варианте осуществления протеаза, используемая в способе по изобретению (например энтерокиназа или фактор Ха) гидролизует только пептидную связь SEQ ID NO: 1, более предпочтительно только пептидную связь между Arg и Yaa в SEQ ID NO: 1.

В одном варианте осуществления приведение в контакт происходит в течение по меньшей мере 1 часа, например по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 или 20 часов.

В одном варианте осуществления приведение в контакт происходит при температуре по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40°C.

В одном варианте осуществления приведение в контакт происходит при температуре от 1 до 10°C (предпочтительно приблизительно 4°C). Предпочтительно приведение в контакт происходит при температуре от 1 до 10°C (более предпочтительно приблизительно 4°C) в течение 10-25 часов (предпочтительно 15-20 часов).

В одном варианте осуществления приведение в контакт происходит при температуре 15-25°C (предпочтительно приблизительно 20°C). Предпочтительно приведение в контакт происходит при температуре 15-25°C (более предпочтительно приблизительно 20°C) в течение 10-25 часов (предпочтительно 15-20 часов).

В одном варианте осуществления приведение в контакт происходит при температуре 20-30°C (предпочтительно приблизительно 25°C). Предпочтительно приведение в контакт происходит при температуре 20-30°C (более предпочтительно приблизительно 25°C) в течение 10-25 часов (предпочтительно 15-20 часов).

Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 1 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина. В одном варианте осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению включает использование по меньшей мере 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина. Предпочтительно стадия приведения в контакт способа по изобретению включает использование по меньшей мере 2 мкг (более предпочтительно по меньшей мере 4 мкг) протеазы на мг клостридиального нейротоксина.

В одном варианте осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению включает использование ≤ 20 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина. В одном варианте осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению включает использование ≤ 15 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина. Предпочтительно стадия приведения в контакт способа по изобретению включает использование ≤ 10 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина. Более предпочтительно стадия приведения в контакт способа по изобретению включает использование ≤ 7 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина.

Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование 0,1-20 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина. В одном варианте осуществления способ по изобретению может включать использование 1-10 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина, предпочтительно 4-7 мкг протеазы на мг клостридиального нейротоксина.

Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 10, 20, 30, 40, 50, 60 или 70 единиц энтерокиназы на мг клостридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 60 единиц энтерокиназы (более предпочтительно по меньшей мере 70 единиц) на мг клостридиального нейротоксина. В некоторых вариантах осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование ≤ 150 , ≤ 140 , ≤ 130 , ≤ 120 , ≤ 110 , ≤ 100 , ≤ 90 единиц энтерокиназы на мг клостридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование ≤ 100 единиц энтерокиназы (более предпочтительно ≤ 90 единиц) на мг клостридиального нейротоксина. Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование 50-110 единиц энтерокиназы на мг клостридиального нейротоксина. В одном варианте осуществления способ по изобретению может включать использование 70-90 единиц энтерокиназы на мг клостридиального нейротоксина, например, приблизительно 80 единиц энтерокиназы на мг клостридиального нейротоксина.

Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 0,5, 1, 2, 3, 4 или 5 единиц фактора Ха на мг клостридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 3 единицы фактора Ха (более предпочтительно по меньшей мере 4 единицы) на мг клостридиального нейротоксина. В некоторых вариантах осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование ≤ 15 , ≤ 14 , ≤ 13 , ≤ 12 , ≤ 11 , ≤ 10 , ≤ 9 , ≤ 8 или ≤ 7 единиц фактора Ха на мг клостридиального нейротоксина. Предпочтительно стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование ≤ 8 единиц фактора Ха (более предпочтительно ≤ 7 единиц) на мг клост-

ридиального нейротоксина. Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование 0,5-15 единиц фактора Ха на мг кластридиального нейротоксина. В одном варианте осуществления способ по изобретению может включать использование 1-10 единиц (предпочтительно 4-7 единиц) фактора Ха на мг кластридиального нейротоксина, например, приблизительно 5 или 6 единиц фактора Ха на мг кластридиального нейротоксина.

Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 0,02, 0,04, 0,06 или 0,08 единиц Lys-C на мг кластридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 0,04 единиц Lys-C на мг кластридиального нейротоксина. В некоторых вариантах осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование $\leq 0,5$, $\leq 0,4$ или $\leq 0,2$ единицы Lys-C на мг кластридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование $\leq 0,2$ единицы Lys-C на мг кластридиального нейротоксина. Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование 0,02-0,5 единицы Lys-C на мг кластридиального нейротоксина. Предпочтительно, способ по изобретению может включать использование 0,04-0,2 единицы Lys-C на мг кластридиального нейротоксина.

Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 0,1, 0,2, 0,3 или 0,4 единицы трипсина на мг кластридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование по меньшей мере 0,4 единицы трипсина на мг кластридиального нейротоксина. В некоторых вариантах осуществления стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование $\leq 2,5$, $\leq 2,3$, $\leq 2,1$, $\leq 1,9$ единицы трипсина на мг кластридиального нейротоксина. Предпочтительно, стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование $\leq 1,8$ единицы трипсина на мг кластридиального нейротоксина. Стадия приведения в контакт способа по изобретению может включать использование 0,1-2,5 единицы трипсина на мг кластридиального нейротоксина. Предпочтительно, способ по изобретению может включать использование 0,3-2 единиц (более предпочтительно 0,4-1,8 единицы) трипсина на мг кластридиального нейротоксина.

В одном варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/X. Эталонная последовательность VoNT/X указана в качестве SEQ ID NO: 33. Меченная гистицином версия VoNT/X указана в качестве SEQ ID NO: 34. Эталонная нуклеотидная последовательность, кодирующая VoNT/X, указана в качестве SEQ ID NO: 32.

В одном варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/A. Эталонная последовательность VoNT/A указана в качестве SEQ ID NO: 35.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/B. Эталонная последовательность VoNT/B указана в качестве SEQ ID NO: 36.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/C. Эталонная последовательность VoNT/C₁ указана в качестве SEQ ID NO: 37.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/D. Эталонная последовательность VoNT/D указана в качестве SEQ ID NO: 38.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/E. Эталонная последовательность VoNT/E указана в качестве SEQ ID NO: 39.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/F. Эталонная последовательность VoNT/F указана в качестве SEQ ID NO: 40.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой VoNT/G. Эталонная последовательность VoNT/G указана в качестве SEQ ID NO: 41.

В другом варианте осуществления кластридиальный нейротоксин (например, до модификации способами инженерии) может представлять собой TeNT. Эталонная последовательность TeNT указана в качестве SEQ ID NO: 42.

Как описано выше, кластридиальные нейротоксины образованы из двух полипептидных цепей: тяжелой цепи (H-цепь), которая имеет молекулярную массу приблизительно 100 кДа, и легкой цепи (L-цепь), которая имеет молекулярную массу приблизительно 50 кДа. H-цепь содержит C-концевой нацеливающий компонент (связывающий рецептор домен или H_C-домен) и N-концевой компонент транслокации (H_N-домен).

Примеры эталонных последовательностей легкой цепи включают:

Ботулинический нейротоксин типа А: аминокислотные остатки 1-448;

Ботулинический нейротоксин типа В: аминокислотные остатки 1-440;
 Ботулинический нейротоксин типа С1: аминокислотные остатки 1-441;
 Ботулинический нейротоксин типа D: аминокислотные остатки 1-445;
 Ботулинический нейротоксин типа E: аминокислотные остатки 1-422;
 Ботулинический нейротоксин типа F: аминокислотные остатки 1-439;
 Ботулинический нейротоксин типа G: аминокислотные остатки 1-441;
 Столбнячный нейротоксин: аминокислотные остатки 1-457.

Сообщалось, что для недавно идентифицированного BoNT/X, L-цепь соответствует его аминокислотам 1-439, причем границы L-цепи потенциально отличаются приблизительно на 25 аминокислот (например, 1-414 или 1-464).

Идентифицированные выше эталонные последовательности следует считать основными, поскольку может существовать небольшое варьирование в зависимости от подсеротипов. В качестве примера, в US 2007/0166332 (включенной в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме) цитированы несколько различающиеся клостридиальные последовательности:

Ботулинический нейротоксин типа А: аминокислотные остатки M1-K448;
 Ботулинический нейротоксин типа В: аминокислотные остатки M1-K441;
 Ботулинический нейротоксин типа С1: аминокислотные остатки M1-K449;
 Ботулинический нейротоксин типа D: аминокислотные остатки M1-R445;
 Ботулинический нейротоксин типа E: аминокислотные остатки M1-R422;
 Ботулинический нейротоксин типа F: аминокислотные остатки M1-K439;
 Ботулинический нейротоксин типа G: аминокислотные остатки M1-K446;
 Столбнячный нейротоксин: аминокислотные остатки M1-A457.

Домен транслокации представляет собой молекулу, которая позволяет транслокацию протеазы в клетку-мишень, так что в цитозоле клетки-мишени происходит функциональное проявление активности протеазы. Наличие у какой-либо молекулы (например, белка или пептида) требуемой функции транслокации по настоящему изобретению может быть подтверждено посредством одного из ряда общепринятых способов анализа.

Например, Shone C. (1987) описывает анализ *in vitro* с использованием липосом, нагруженных тестируемой молекулой. Присутствие требуемой функции транслокации подтверждается высвобождением из липосом K^+ и/или меченого NAD, мониторинг которого можно проводить без труда [см. Shone C. (1987) Eur. J. Biochem; vol. 167(1): pp. 175-180].

Следующий пример предоставлен Blaustein R. (1987), где описан простой анализ *in vitro* с использованием плоских фосфолипидных двухслойных мембран. Мембраны нагружают тестируемой молекулой и необходимую функцию транслокации подтверждают повышением проводимости через указанные мембраны [см. Blaustein (1987) FEBS Letts; vol. 226, no. 1: pp. 115-120].

Дополнительная методология, позволяющая оценку слияния мембран и, таким образом, идентификацию доменов транслокации, пригодных для применения в рамках настоящего изобретения, приведена в Methods in Enzymology Vol 220 and 221, Membrane Fusion Techniques, Parts A and B, Academic Press 1993.

Настоящее изобретение также охватывает варианты доменов транслокации при условии, что варианты доменов все еще демонстрируют требуемую активность транслокации. В качестве примера, вариант может обладать по меньшей мере 70%, предпочтительно по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 90%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% гомологией аминокислотной последовательности с эталонным доменом транслокации. Термин фрагмент, когда его используют применительно к домену транслокации, означает пептид, имеющий по меньшей мере 20, предпочтительно по меньшей мере 40, более предпочтительно по меньшей мере 80, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 100 аминокислотных остатков эталонного домена транслокации. В случае клостридиального домена транслокации фрагмент предпочтительно имеет по меньшей мере 100, предпочтительно по меньшей мере 150, более предпочтительно по меньшей мере 200, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 250 аминокислотных остатков эталонного домена транслокации (например, N₂-домен). "Фрагменты" доменов транслокации по настоящему изобретению охватывают фрагменты вариантов доменов транслокации на основе эталонных последовательностей.

Домен транслокации предпочтительно способен образовывать проницаемые для ионов поры в липидных мембранах в условиях низких значений pH. Предпочтительно было обнаружено, что можно использовать только те части белковой молекулы, которые способны к образованию пор в эндосомальной мембране.

Домен транслокации может быть получен из источника микробного белка, в частности, из источника бактериального или вирусного белка. Таким образом, в одном варианте осуществления домен транслокации представляет собой домен транслокации фермента, такого как бактериальный токсин или вирусный белок.

Документально подтверждено, что определенные домены, бактериальных молекул токсинов способны образовывать такие поры. Также известно, что определенные домены транслокации, экспрессируемых вирусами мембранных слитых белков, способны образовывать такие поры. Такие домены можно

использовать в рамках настоящего изобретения.

Домен транслокации может происходить из кластридий, такой как H_N -домен (или его функциональный компонент). H_N означает часть или фрагмент N-цепи кластридиального нейротоксина, приблизительно эквивалентную N-концевой половине N-цепи, или домен, соответствующий этому фрагменту интактной N-цепи. В одном варианте осуществления функция H_C N-цепи может быть устранена путем удаления аминокислотной последовательности H_C (либо на уровне синтеза ДНК, или на уровне после синтеза посредством обработки нуклеазой или протеазой). Альтернативно функция H_C может быть инактивирована посредством химической или биологической обработки. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления N-цепь может быть неспособна связываться с участком связывания на клетке-мишени, с которым связывается нативный кластридиальный нейротоксин (т.е. голотоксин).

Примеры подходящих (эталонных) доменов транслокации включают:

Ботулинический нейротоксин типа А - аминокислотные остатки (449-871);

Ботулинический нейротоксин типа В - аминокислотные остатки (441-858);

Ботулинический нейротоксин типа С - аминокислотные остатки (442-866);

Ботулинический нейротоксин типа D - аминокислотные остатки (446-862);

Ботулинический нейротоксин типа E - аминокислотные остатки (423-845);

Ботулинический нейротоксин типа F - аминокислотные остатки (440-864);

Ботулинический нейротоксин типа G - аминокислотные остатки (442-863);

Столбнячный нейротоксин - аминокислотные остатки (458-879).

Идентифицированную выше эталонную последовательность следует считать основной, поскольку может существовать небольшое варьирование в зависимости от подсеротипов. В качестве примера, в US 2007/0166332 (включенной в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме) цитированы несколько различающиеся кластридиальные последовательности:

Ботулинический нейротоксин типа А - аминокислотные остатки (A449-K871);

Ботулинический нейротоксин типа В - аминокислотные остатки (A442-S858);

Ботулинический нейротоксин типа С - аминокислотные остатки (T450-N866);

Ботулинический нейротоксин типа D - аминокислотные остатки (D446-N862);

Ботулинический нейротоксин типа E - аминокислотные остатки (K423-K845);

Ботулинический нейротоксин типа F - аминокислотные остатки (A440-K864);

Ботулинический нейротоксин типа G - аминокислотные остатки (S447-S863);

Столбнячный нейротоксин - аминокислотные остатки (S458-V879).

В контексте настоящего изобретения различные области H_N кластридиального нейротоксина, содержащие домен транслокации, могут быть пригодными в аспектах настоящего изобретения при условии, что эти активные фрагменты могут облегчать высвобождение нецитотоксической протеазы (например, кластридиальная L-цепь) из внутриклеточных везикул в цитоплазму клетки-мишени и, таким образом, участвовать в исполнении клеточного механизма в целом, где кластридиальный нейротоксин протеолитически расщепляет субстрат. Области H_N из тяжелых цепей кластридиальных нейротоксинов имеют длину приблизительно 410-430 аминокислот и содержат домен транслокации. Исследование показало, что полная длина области H_N из тяжелой цепи кластридиального нейротоксина не является необходимой для активности транслокации домена транслокации. Таким образом, аспекты этого варианта осуществления могут включать области H_N кластридиального нейротоксина, содержащие домен транслокации, имеющий длину, например, по меньшей мере 350 аминокислот, по меньшей мере 375 аминокислот, по меньшей мере 400 аминокислот и по меньшей мере 425 аминокислот. Другие аспекты этого варианта осуществления могут включать области H_N кластридиального нейротоксина, содержащие домен транслокации, имеющий длину, например, не более 350 аминокислот, не более 375 аминокислот, не более 400 аминокислот и не более 425 аминокислот.

Для дальнейших деталей, касающихся генетической основы продуцирования токсинов в *Clostridium botulinum* и *C. tetani*, см. Henderson et al (1997), *The Clostridia: Molecular Biology and Pathogenesis*, Academic press.

Термин H_N охватывает природные части нейротоксина H_N и модифицированные части H_N , имеющие аминокислотные последовательности, которые не встречаются в природе и/или синтетические аминокислотные остатки, при условии, что модифицированные части H_N все еще демонстрируют вышеупомянутую функцию транслокации.

Альтернативно домен транслокации может иметь некластридиальное происхождение. Примеры некластридиальных (эталонных) источников доменов транслокации включают, но не ограничиваются ими, домен транслокации дифтерийного токсина [O'Keefe et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992) 89, 6202-6206; Silverman et al., J. Biol. Chem. (1993) 269, 22524-22532; и London, E. (1992) Biochem. Biophys. Acta., 1112, pp.25-51], домен транслокации экзотоксина типа А *Pseudomonas* [Prior et al. Biochemistry (1992) 31, 3555-3559], домены транслокации токсина сибирской язвы [Blanke et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996) 93, 8437-8442], различные фузогенные или гидрофобные пептиды с функцией транслокации [Plank et al. J. Biol. Chem. (1994) 269, 12918-12924; и Wagner et al (1992) PNAS, 89, pp. 7934-7938], и амфифильные пептиды [Murata et al (1992) Biochem., 31, pp. 1986-1992]. Домен транслокации может представлять собой

домен транслокации, присутствующий во встречающемся в природе белке, или может включать изменения аминокислот при условии, что изменения не нарушают способность домена транслокации к транслокации.

Конкретные примеры вирусных (эталонных) доменов транслокации, пригодные для применения в рамках настоящего изобретения, включают определенные домены транслокации экспрессируемых вирусом мембранных слитых белков. Например, Wagner et al. (1992) и Murata et al. (1992) описывают функцию транслокации (т.е. слияние мембран и везикуляция) ряда фузогенных и амфифильных пептидов, происходящих из N-концевой области гемагглютинин вируса гриппа. Другие экспрессируемые вирусом мембранные слитые белки, известные тем, что они обладают желаемой активностью транслокации, представляют собой домен транслокации фузогенного пептида вируса леса Семлики (SFV), домен транслокации гликопротеина G вируса везикулярного стоматита (VSV), домен транслокации белка F вируса SER и домен транслокации гликопротеина оболочки пенящих вирусов. Кодированные вирусами белки Aspіke имеют конкретное применение в контексте настоящего изобретения, например, белок E1 SFV и белок G VSV.

Использование (эталонных) доменов транслокации, перечисленных в таблице (ниже), включает использование их последовательностей их вариантов. Вариант может содержать одну или более консервативных нуклеотидных замен и/или нуклеотидных делеций или вставок при условии, что вариант обладает необходимой функцией транслокации. Вариант может также содержать одну или более аминокислотных замен и/или аминокислотных делеций или вставок при условии, что вариант обладает необходимой функцией транслокации.

Источник домена транслокации	Аминокислотные остатки	Ссылки
Дифтерийный токсин	194-380	Silverman et al. , 1994, J. Biol. Chem. 269, 22524-22532 London E. , 1992, Biochem. Biophys. Acta., 1113, 25-51
Домен II экзотоксина pseudomonas	405-613	Prior et al. , 1992, Biochemistry 31, 3555-3559 Kihara & Pastan , 1994, Bioconj Chem. 5, 532-538
Гемагглютинин вируса гриппа	GLFGAIAGFIENGWEG MIDGWYG (SEQ ID NO: 73), и ее варианты	Plank et al. , 1994, J. Biol. Chem. 269, 12918-12924 Wagner et al. , 1992, PNAS, 89, 7934-7938 Murata et al. , 1992, Biochemistry 31, 1986-1992
Фузогенный белок вируса леса Семлики	Домен транслокации	Kielian et al. , 1996, J Cell Biol. 134(4), 863-872
Гликопротеин G вируса везикулярного стоматита	118-139	Yao et al. , 2003, Virology 310(2), 319-332
F-белок вируса SER	Домен транслокации	Seth et al. , 2003, J Virol 77(11) 6520-6527
Гликопротеин оболочки пенящего вируса	Домен транслокации	Picard-Maureau et al. , 2003, J Virol. 77(8), 4722-4730

Примеры эталонных последовательностей H_C-домена клостридиального нейротоксина включают:

BoNT/A-N872-L1296;
BoNT/B-E859-E1291;
BoNT/C1-N867-E1291;
BoNT/D-S863-E1276;
BoNT/E-R846-K1252;
BoNT/F-K865-E1274;
BoNT/G-N864-E1297;

TeNT-I880-D1315.

Для недавно идентифицированного BoNT/X, H_C-домен был описан как соответствующий его аминокислотам 893-1306, причем границы домена потенциально варьируются приблизительно на 25 аминокислот (например, 868-1306 или 918-1306).

Клостридиальные нейротоксины, описанные в настоящем описании, кроме того, могут содержать домен, облегчающий транслокацию. Указанный домен облегчает доставку нецитотоксической протеазы в цитозоль клетки-мишени и описан, например, в WO 08/008803 и WO 08/008805, каждая из которых включена в настоящее описание в качестве ссылки.

В качестве примера, подходящие домены, облегчающие транслокацию, включают фузогенный пептидный домен оболочечного вируса, например, подходящие фузогенные пептидные домены включают фузогенный пептидный домен вируса гриппа (например, фузогенный пептидный домен из 23 аминокислот вируса гриппа А), фузогенный пептидный домен альфавируса (например, фузогенный пептидный домен вируса леса Семлики из 26 аминокислот), фузогенный пептидный домен везикуловируса (например, фузогенный пептидный домен вируса везикулярного стоматита из 21 аминокислоты), фузогенный пептидный домен респировируса (например, фузогенный пептидный домен вируса Сендай из 25 аминокислот), фузогенный пептидный домен вируса кори (например, фузогенный пептидный домен вируса собачьей чумы из 25 аминокислот), фузогенный пептидный домен авулаввируса (например, фузогенный пептидный домен вируса болезни Ньюкасла из 25 аминокислот), фузогенный пептидный домен хенипавируса (например, фузогенный пептидный домен вируса Хендра из 25 аминокислот), фузогенный пептидный домен метапневмовируса (например, фузогенный пептидный домен метапневмовируса человека из 25 аминокислот) или фузогенный пептидный домен спумавируса, такой как фузогенный пептидный домен пенящего вируса обезьян; или их фрагменты или варианты.

В качестве следующего примера облегчающий транслокацию домен может содержать H_{CN}-домен клостридиального нейротоксина или его фрагмент или вариант. Более детально, облегчающий транслокацию домен H_{CN} клостридиального нейротоксина может иметь длину по меньшей мере 200 аминокислот, по меньшей мере 225 аминокислоты, по меньшей мере 250 аминокислоты, по меньшей мере 275 аминокислоты. В этом отношении, облегчающий транслокацию домен клостридиального нейротоксина H_{CN} предпочтительно имеет длину не более 200 аминокислот, не более 225 аминокислот, не более 250 аминокислот или не более 275 аминокислот. Конкретные (эталонные) примеры включают:

- Ботулинический нейротоксин типа А - аминокислотные остатки (872-1110);
- Ботулинический нейротоксин типа В - аминокислотные остатки (859-1097);
- Ботулинический нейротоксин типа С - аминокислотные остатки (867-1111);
- Ботулинический нейротоксин типа D - аминокислотные остатки (863-1098);
- Ботулинический нейротоксин типа Е - аминокислотные остатки (846-1085);
- Ботулинический нейротоксин типа F - аминокислотные остатки (865-1105);
- Ботулинический нейротоксин типа G - аминокислотные остатки (864-1105);
- Столбнячный нейротоксин - аминокислотные остатки (880-1127).

Указанные выше положения в последовательности могут несколько варьироваться в зависимости от серотипа/подтипа, и следующие примеры подходящих (эталонных) доменов H_{CN} клостридиального нейротоксина включают:

- Ботулинический нейротоксин типа А - аминокислотные остатки (874-1110);
- Ботулинический нейротоксин типа В - аминокислотные остатки (861-1097);
- Ботулинический нейротоксин типа С - аминокислотные остатки (869-1111);
- Ботулинический нейротоксин типа D - аминокислотные остатки (865-1098);
- Ботулинический нейротоксин типа Е - аминокислотные остатки (848-1085);
- Ботулинический нейротоксин типа F - аминокислотные остатки (867-1105);
- Ботулинический нейротоксин типа G - аминокислотные остатки (866-1105);
- Столбнячный нейротоксин - аминокислотные остатки (882-1127).

Любой из описанных выше облегчающих доменов можно комбинировать с любым из описанных выше пептидов доменов транслокации, которые являются пригодными для применения в рамках настоящего изобретения. Таким образом, в качестве примера, неклостридиальный облегчающий домен можно комбинировать с неклостридиальным доменом транслокации или с клостридиальным пептидом домена транслокации. Альтернативно, домен облегчения транслокации H_{CN} клостридиального нейротоксина можно комбинировать с неклостридиальным пептидом домена транслокации. Альтернативно облегчающий домен H_{CN} клостридиального нейротоксина можно комбинировать с клостридиальным пептидом домена транслокации, примеры которого включают:

- Ботулинический нейротоксин типа А - аминокислотные остатки (449-1110);
- Ботулинический нейротоксин типа В - аминокислотные остатки (442-1097);
- Ботулинический нейротоксин типа С - аминокислотные остатки (450-1111);
- Ботулинический нейротоксин типа D - аминокислотные остатки (446-1098);
- Ботулинический нейротоксин типа Е - аминокислотные остатки (423-1085);
- Ботулинический нейротоксин типа F - аминокислотные остатки (440-1105);

Ботулинический нейротоксин типа G - аминокислотные остатки (447-1105);

Столбнячный нейротоксин - аминокислотные остатки (458-1127).

В некоторых вариантах осуществления кластридиальные нейротоксины по настоящему изобретению могут быть лишены функционального H_C-домена кластридиального нейротоксина. Таким образом, указанные кластридиальные нейротоксины не способны связывать синапсомембранные мембраны крысы (через кластридиальный компонент H_C) в анализах связывания, как описано в Shone et al. (1985) *Eur. J. Biochem.* 151, 75-82. В одном варианте осуществления кластридиальные нейротоксины предпочтительно лишены последних 50 С-концевых аминокислот кластридиального нейротоксина голотоксина. В другом варианте осуществления кластридиальные нейротоксины предпочтительно лишены последних 100, предпочтительно последних 150, более предпочтительно последних 200, особенно предпочтительно последних 250, и наиболее предпочтительно последних 300 С-концевых аминокислотных остатков кластридиального нейротоксина голотоксина. Альтернативно активность связывания H_C может быть устранена/ снижена посредством мутагенеза - в качестве примера, см. VoNT/A для удобства, модификация одного или двух аминокислотных остатков (W1266 на L и Y1267 на F) в ганглиозид-связывающем кармане вызывает утрату областью H_C ее функции связывания рецептора. Аналогичные мутации можно вносить в кластридиальные пептидные компоненты не серотипа А, например, конструкцию на основе ботулинического токсина В с мутациями (W1262 на L и Y1263 на F) или ботулинического токсина Е (W1224 на L и Y1225 на F). Другие мутации активного центра достигают того же устранения активности связывания рецептора H_C, например, Y1267S в ботулиническом токсине типа А и соответствующий высококонсервативный остаток в других кластридиальных нейротоксинах. Подробное описание этой и других мутаций приведено в Rummel et al (2004) (*Molecular Microbiol.* 51:631-634), которая включена в настоящее описание в качестве ссылки.

Пептид H_C нативного кластридиального нейротоксина содержит приблизительно 400-440 аминокислотных остатков и состоит из двух функционально обособленных домена размером приблизительно 25 кДа каждый, а именно, N-концевой области (часто называемой пептидом или доменом H_{CN}) и С-концевой области (часто называемой пептидом или доменом H_{CC}). Этот факт подтверждается следующими публикациями, каждая из которых включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме: Umland TC (1997) *Nat. Struct. Biol.* 4: 788-792; Herreros J (2000) *Biochem. J.* 347: 199-204; Halpern J (1993) *J. Biol. Chem.* 268: 15, pp. 11188-11192; Rummel A (2007) *PNAS* 104: 359-364; Lacey DB (1998) *Nat. Struct. Biol.* 5: 898-902; Knapp (1998) *Am. Cryst. Assoc. Abstract Papers* 25: 90; Swaminathan and Eswaremoorthy (2000) *Nat. Struct. Biol.* 7: 1751-1759; и Rummel A (2004) *Mol. Microbiol.* 51(3), 631-643. Более того, было документально подтверждено, что С-концевая область (H_{CC}), которая составляет С-концевые 160-200 аминокислотных остатков, ответственна за связывание кластридиального нейротоксина с его естественными клеточными рецепторами, а именно, с нервными окончаниями в нервно-мышечном соединении - этот факт также подтверждается описанными выше публикациями. Таким образом, указание на протяжении настоящего описания на кластридиальную тяжелую цепь, лишенную функционального пептида H_C (или домена) тяжелой цепи, так что тяжелая цепь неспособна связываться с рецепторами клеточной поверхности, с которыми связывается нативный кластридиальный нейротоксин, означает, что кластридиальная тяжелая цепь просто лишена функционального пептида H_{CC}. Иными словами, область пептида H_{CC} может быть либо частично, либо полностью удалена или иным образом модифицирована (например, посредством общепринятой химической или протеолитической обработки) для инактивации ее нативной способности связываться с нервными окончаниями в нервно-мышечном соединении.

Таким образом, в одном варианте осуществления пептид H_N кластридиального нейротоксина по настоящему изобретению лишен части С-концевой пептидной части (H_{CC}) кластридиального нейротоксина и, таким образом, лишен функции связывания H_C нативного кластридиального нейротоксина. В качестве примера, в одном варианте осуществления удлиненный на С-конце кластридиальный пептид H_N лишен 40 С-концевых аминокислотных остатков, или 60 С-концевых аминокислотных остатков, или 80 С-концевых аминокислотных остатков, или 100 С-концевых аминокислотных остатков, или 120 С-концевых аминокислотных остатков, или 140 С-концевых аминокислотных остатков, или 150 С-концевых аминокислотных остатков, или 160 С-концевых аминокислотных остатков тяжелой цепи кластридиального нейротоксина. В другом варианте осуществления кластридиальный пептид H_N по настоящему изобретению лишен всей С-концевой пептидной части (H_{CC}) кластридиального нейротоксина и, таким образом, лишен функции связывания H_C нативного кластридиального нейротоксина. В качестве примера, в одном варианте осуществления кластридиальный пептид H_N лишен 165 С-концевых аминокислотных остатков или 170 С-концевых аминокислотных остатков, или 175 С-концевых аминокислотных остатков, или 180 С-концевых аминокислотных остатков, или 185 С-концевых аминокислотных остатков, или 190 С-концевых аминокислотных остатков, или 195 С-концевых аминокислотных остатков тяжелой цепи кластридиального нейротоксина. В качестве следующего примера кластридиальный пептид H_N по настоящему изобретению лишен эталонной последовательности кластридиального H_{CC}, выделенной из группы, состоящей из:

Ботулинического нейротоксина типа А - аминокислотные остатки (Y1111-L1296);

Ботулинического нейротоксина типа В - аминокислотные остатки (Y1098-E1291);

Ботулинического нейротоксина типа С - аминокислотные остатки (Y1112-E1291);
Ботулинического нейротоксина типа D - аминокислотные остатки (Y1099-E1276);
Ботулинического нейротоксина типа E - аминокислотные остатки (Y1086-K1252);
Ботулинического нейротоксина типа F - аминокислотные остатки (Y1106-E1274);
Ботулинического нейротоксина типа G - аминокислотные остатки (Y1106-E1297);
Столбнячного нейротоксина - аминокислотные остатки (Y1128-D1315).

Идентифицированные выше эталонные последовательности следует считать основными, поскольку может существовать небольшое варьирование в зависимости от подсеротипов.

Настоящее изобретение является пригодным для применения для многих различных типов клостридиального нейротоксина. Таким образом, в контексте настоящего изобретения, термин "клостридиальный нейротоксин" охватывает токсины, продуцируемые *C. botulinum* (ботулинический нейротоксин серотипов А, В, С1, D, E, F, G, H и X), *C. tetani* (столбнячный нейротоксин), *C. butyricum* (ботулинический нейротоксин серотипа E), и *C. baratii* (ботулинический нейротоксин серотипа F), а также модифицированные клостридиальные нейротоксины или производные, происходящие из любого из вышеуказанных. Термин "клостридиальный нейротоксин" также охватывает ботулинический нейротоксин серотипа H. Предпочтительно клостридиальный нейротоксин не является BoNT/C1.

Ботулинический нейротоксин (BoNT) продуцируется *C. botulinum* в форме крупного белкового комплекса, состоящего из самого BoNT в комплексе с рядом вспомогательных белков. В настоящее время существует девять различных классов ботулинического нейротоксина, а именно: серотипы ботулинического нейротоксина А, В, С1, D, E, F, G, H и X, все из которых обладают сходными структурами и способами действия. Различные серотипы BoNT могут различаться на основе инактивации посредством специфической нейтрализующей антисыворотки, причем такая классификация по серотипам коррелирует с процентной идентичностью последовательностей на уровне аминокислот. Белки BoNT данного серотипа далее подразделяют на различные серотипы на основе процентной идентичности аминокислотных последовательностей.

BoNT всасываются в желудочно-кишечном тракте и после проникновения в общий кровоток связывается с пресинаптической мембраной холинэргических нервных окончаний и препятствует высвобождению их нейротрансмиттера ацетилхолина. BoNT/B, BoNT/D, BoNT/F и BoNT/G расщепляют синаптобrevин/ассоциированный с везикулами белок (VAMP); BoNT/C1, BoNT/A и BoNT/E расщепляют ассоциированный с синаптосомами белок размером 25 кДа (SNAP-25); и BoNT/C1 расщепляет синтаксин. Было обнаружено, что BoNT/X расщепляет SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, Ykt6 и синтаксин I.

Столбнячный токсин продуцируется в форме одного серотипа *C. tetani*. *C. butyricum* продуцируют BoNT/E, в то время как *C. baratii* продуцируют BoNT/F.

Также подразумевается, что термин "клостридиальный нейротоксин" охватывает модифицированные клостридиальные нейротоксины и их производные, включая, но не ограничиваясь ими, нейротоксины, описанные ниже. Модифицированный клостридиальный нейротоксин или производное может содержать одну или несколько аминокислот, которые модифицированы по сравнению с нативной (немодифицированной) формой клостридиального нейротоксина, или может содержать одну или несколько встроенных аминокислот, которые не присутствуют в нативной (немодифицированной) форме клостридиального нейротоксина. В качестве примера, модифицированный клостридиальный нейротоксин может иметь модифицированные аминокислотные последовательности в одном или нескольких доменах относительно нативной (немодифицированной) последовательности клостридиального нейротоксина. Такие модификации могут модифицировать функциональные аспекты токсина, например биологическую активность или стабильность. Таким образом, в одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению представляет собой сконструированный модифицированный клостридиальный нейротоксин или сконструированное модифицированное производное клостридиального нейротоксина, или сконструированное производное клостридиального нейротоксина.

Модифицированный клостридиальный нейротоксин может иметь одну или несколько модификаций в аминокислотной последовательности тяжелой цепи (такой как модифицированный домен H_C), где указанная модифицированная тяжелая цепь связывается с нервными клетками, являющимися мишенями, с более высокой или более низкой аффинностью, чем нативный (немодифицированный) клостридиальный нейротоксин. Такие модификации в H_C-домене могут включать модификацию остатков в ганглиозид-связывающем участке H_C-домена или в связывающем белок (SV2 или синаптотагмин) участке, которая изменяет связывание с рецептором ганглиозида и/или рецептором белка нервной клетки, являющейся мишенью. Примеры таких модифицированных клостридиальных нейротоксинов описаны в WO 2006/027207 и WO 2006/114308, обе из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Модифицированный клостридиальный нейротоксин может иметь одну или несколько модификаций в аминокислотной последовательности легкой цепи, например, модификации в связывающем субстрат или каталитическом домене, которые могут изменять или модифицировать специфичность модифицированной L-цепи в отношении белка SNARE. Примеры таких модифицированных клостридиальных нейро-

токсинов описаны в WO 2010/120766 и US 2011/0318385, обе из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Модифицированный клостридиальный нейротоксин может содержать одну или несколько модификаций, которые повышают или снижают биологическую активность и/или биологическую стабильность модифицированного клостридиального нейротоксина. Например, модифицированный клостридиальный нейротоксин может содержать мотив на основе лейцина или тирозина, где указанный мотив повышает или снижает биологическую активность и/или биологическую стабильность модифицированного клостридиального нейротоксина. Подходящие мотивы на основе лейцина включают xDxxxLL (SEQ ID NO: 74), xExxxLL (SEQ ID NO: 75), xExxxIL (SEQ ID NO: 76) и xExxxLM (SEQ ID NO: 77) (где x представляет собой любую аминокислоту). Подходящие мотивы на основе тирозина включают Y-x-x-Hy (SEQ ID NO: 78) (где Hy представляет собой гидрофобную аминокислоту). Примеры модифицированных клостридиальных нейротоксинов, содержащих мотивы на основе лейцина и тирозина, описаны в WO 2002/08268, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Подразумевается, что термин "кlostридиальный нейротоксин" охватывает гибридные и химерные клостридиальные нейротоксины. Гибридный клостридиальный нейротоксин содержит по меньшей мере часть легкой цепи из одного клостридиального нейротоксина или его подтипа, и по меньшей мере часть тяжелой цепи из другого клостридиального нейротоксина или подтипа клостридиального нейротоксина. В одном варианте осуществления гибридный клостридиальный нейротоксин может содержать всю легкую цепь из одного подтипа клостридиального нейротоксина и тяжелую цепь из другого подтипа клостридиального нейротоксина. В другом варианте осуществления химерный клостридиальный нейротоксин может содержать часть (например, связывающий домен) тяжелой цепи одного подтипа клостридиального нейротоксина, причем другая часть тяжелой цепи происходит из другого подтипа клостридиального нейротоксина.

Аналогично или альтернативно, терапевтический элемент может содержать части легких цепей из различных клостридиальных нейротоксинов. Такие гибридные или химерные клостридиальные нейротоксины являются пригодными, например, в качестве средств для обеспечения терапевтической пользы таких клостридиальных нейротоксинов у пациентов, которые являются иммунологически резистентными к данному подтипу клостридиального нейротоксина, у пациентов, которые могут иметь более низкую чем средняя концентрация рецепторов к данному связывающему тяжелую цепь клостридиального нейротоксина домена, или у пациентов, которые могут иметь резистентный к протеазам вариант мембранного или везикулярного субстрата токсина (например, SNAP-25, VAMP и синтаксин). Гибридные и химерные клостридиальные нейротоксины описаны в US 8071110, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Таким образом, в одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению представляет собой сконструированный гибридный клостридиальный нейротоксин или сконструированный химерный клостридиальный нейротоксин.

В особенно предпочтительном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин представляет собой BoNT/X, содержащий по меньшей мере один домен из клостридиального нейротоксина, не являющегося BoNT/X (например, гибридный или химерный BoNT/X).

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь BoNT/X и домен H_N и H_C не BoNT/X;
- ii. Домен H_N BoNT/X и L-цепь и домен H_C не BoNT/X;
- iii. Домен H_C BoNT/X и L-цепь и H_N-домен не BoNT/X;
- iv. L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен не BoNT/X;
- v. L-цепь и H_C-домен BoNT/X и H_N-домен не BoNT/X или
- vi. H_N-домен и H_C-домен BoNT/X и L-цепь не BoNT/X.

В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен BoNT/A. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению, содержащий L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен BoNT/A, кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 6. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению, содержащий L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен BoNT/A, кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 6. Предпочтительно сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению, содержащий L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен BoNT/A, кодируется нуклеотидной последовательностью, содержащей (более предпочтительно состоящей из) SEQ ID NO: 6. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению, содержащий L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен BoNT/A, содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 7. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению, содержащий L-цепь и H_N-домен BoNT/X и H_C-домен BoNT/A, содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ

нию содержит L-цепь и H_N-домен VoNT/A и H_C-домен VoNT/B. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N-домен VoNT/A и H_C-домен VoNT/D. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N домен VoNT/A и H_C-домен VoNT/E. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N домен VoNT/A и H_C-домен VoNT/F. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N-домен VoNT/A и H_C-домен VoNT/G. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N-домен VoNT/A и H_C-домен VoNT/X. В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин по изобретению содержит L-цепь и H_N-домен VoNT/A и H_C-домен TeNT.

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь VoNT/B и H_N- и H_C-домен не VoNT/B;
- ii. H_N-домен VoNT/B и L-цепь и H_C-домен не VoNT/B;
- iii. H_C-домен VoNT/B и L-цепь и H_N-домен VoNT/B;
- iv. L-цепь и H_N-домен VoNT/B и H_C-домен не VoNT/B;
- v. L-цепь и H_C-домен VoNT/B и H_N-домен не VoNT/B; или
- vi. H_N-домен и H_C-домен VoNT/B и L-цепь не VoNT/B.

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь VoNT/D и H_N- и H_C-домен не VoNT/XD;
- ii. H_N-домен VoNT/D и L-цепь и H_C-домен не VoNT/D;
- iii. H_C-домен VoNT/D и L-цепь и H_N-домен не VoNT/D;
- iv. L-цепь и H_N-домен VoNT/D и H_C-домен не VoNT/D;
- v. L-цепь и H_C-домен VoNT/D и H_N-домен не VoNT/D; или
- vi. H_N-домен и H_C-домен VoNT/D и L-цепь не VoNT/D.

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь VoNT/E и H_N- и H_C-домен не VoNT/E;
- ii. H_N-домен VoNT/E и L-цепь и H_C-домен не VoNT/E;
- iii. H_C-домен VoNT/E и L-цепь и H_N-домен не VoNT/E;
- iv. L-цепь и H_N-домен VoNT/E и H_C-домен не VoNT/E;
- v. L-цепь и H_C-домен VoNT/E и H_N-домен не VoNT/E; или
- vi. H_N-домен и H_C-домен VoNT/E и L-цепь не VoNT/E.

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь VoNT/F и H_N и H_C-домен не VoNT/F;
- ii. H_N-домен VoNT/F и L-цепь и H_C-домен не VoNT/F;
- iii. H_C-домен VoNT/F и L-цепь и H_N-домен не VoNT/F;
- iv. L-цепь и H_N-домен VoNT/F и H_C-домен не VoNT/F;
- v. L-цепь и H_C-домен VoNT/F и H_N-домен не VoNT/F; или
- vi. H_N-домен и H_C-домен VoNT/F и L-цепь не VoNT/F.

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь VoNT/G и H_N- и H_C-домен не VoNT/G;
- ii. H_N-домен VoNT/G и L-цепь и H_C-домен не VoNT/G;
- iii. H_C-домен VoNT/G и L-цепь и H_N-домен не VoNT/G;
- iv. L-цепь и H_N-домен VoNT/G и H_C-домен не VoNT/G;
- v. L-цепь и H_C-домен VoNT/G и H_N-домен не VoNT/G; или
- vi. H_N-домен и H_C-домен VoNT/G и L-цепь не VoNT/G.

Например, в одном варианте осуществления клостридиальный нейротоксин по изобретению (содержащий экзогенную петлю активации) может содержать:

- i. L-цепь TeNT и H_N- и H_C-домен не TeNT;
- ii. H_N-домен TeNT и L-цепь и H_C-домен не TeNT;
- iii. H_C-домен TeNT и L-цепь и H_N-домен не TeNT;
- iv. L-цепь и H_N-домен TeNT и H_C-домен не TeNT;
- v. L-цепь и H_C-домен TeNT и H_N-домен не TeNT; или
- vi. H_N-домен и H_C-домен TeNT и L-цепь не TeNT.

Термин "клостридиальный нейротоксин" также может охватывать вновь открытые представители белкового семейства ботулинических нейротоксинов, экспрессируемые неклостридиальными микроорганизмами, такие как кодируемый *Enterococcus* токсин, который обладает наиболее высокую идентичность последовательности с VoNT/X, кодируемый *Weissella oryzae* токсин, называемый VoNT/Wo (NCBI

Ref Seq: WP_027699549.1), который расщепляет VAMP2 в W89-W90, кодируемый *Enterococcus faecium* токсин (GenBank: OTO22244.1), который расщепляет VAMP2 и SNAP25, и кодируемый *Chryseobacterium ripense* токсин (NCBI Ref.Seq: WP_034687872.1).

Подразумевается, что термин "кlostридиальный нейротоксин" охватывает перенацеленные кlostридиальные нейротоксины. В случае перенацеленного кlostридиального нейротоксина, кlostридиальный нейротоксин модифицируют включением экзогенного лиганда, известного как нацеливающая часть (ТМ). ТМ выбирают так, чтобы она обеспечивала специфичность связывания в отношении желаемой клетки-мишени и в качестве части процесса перенацеливания нативная связывающая часть кlostридиального нейротоксина (например, Н_С-домен или Н_{СС}-домен) может быть удалена. Технология перенацеливания описаны, например, в: EP-B-0689459; WO 1994/021300; EP-B-0939818; US 6,461,617; US 7,192,596; WO 1998/007864; EP-B-0826051; US 5,989,545; US 6,395,513; US 6,962,703; WO 1996/033273; EP-B-0996468; US 7,052,702; WO 1999/017806; EP-B-1107794; US 6,632,440; WO 2000/010598; WO 2001/21213; WO 2006/059093; WO 2000/62814; WO 2000/04926; WO 1993/15766; WO 2000/61192 и WO 1999/58571; все из которых включены в качестве ссылки в полном объеме. Таким образом, в одном варианте осуществления сконструированный кlostридиальный нейротоксин по изобретению представляет собой сконструированный перенацеленный кlostридиальный нейротоксин. Сконструированный кlostридиальный нейротоксин по настоящему изобретению может быть лишен функционального Н_С-домена кlostридиального нейротоксина и также лишен какой-либо функционально эквивалентной ТМ. Таким образом, указанные полипептиды лишены естественной связывающей функции, которой обладает кlostридиальный нейротоксин, и не способны связывать синапсомальные мембраны крысы (через кlostридиальный компонент Н_С или через какой-либо функционально эквивалентный ТМ) в анализах связывания, как описано в Shone et al. (1985) Eur. J. Biochem. 151, 75-82. В одном варианте осуществления ТМ предпочтительно не является пептидом агглютинина зародышей пшеницы (WGA).

В одном варианте осуществления сконструированный кlostридиальный нейротоксин по изобретению может включать сконструированный полипептид LH_N, описанный в настоящем описании.

В одном варианте осуществления сконструированный кlostридиальный нейротоксин может содержать сконструированный полипептид LH_N, описанный в настоящем описании, и нацеливающую часть (ТМ).

Эталонные последовательности сконструированного полипептида LH_N представлены в настоящем описании в качестве SEQ ID NO: 53-60, однако последовательность сконструированного полипептида LH_N может обладать по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 53-60. В одном варианте осуществления последовательность сконструированного полипептида LH_N может обладать по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 53-60. Предпочтительно последовательность сконструированного полипептида LH_N содержит (более предпочтительно состоит из) любой из SEQ ID NO: 53-60.

В одном варианте осуществления ТМ может содержать защитный антиген (РА) токсина сибирской язвы или его фрагмент. Эталонная последовательность РА указана в качестве SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления РА содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52, или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления РА содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52 или ее фрагментом. В других вариантах осуществления РА содержит (или состоит из) полипептидную последовательность, представленную в качестве SEQ ID NO: 52, или ее фрагмента.

Таким образом, в одном варианте осуществления сконструированный кlostридиальный нейротоксин по настоящему изобретению может содержать: нецитотоксиический домен протеазы кlostридиального нейротоксина, домен транслокации кlostридиального нейротоксина (например, LH_N кlostридиального нейротоксина), и ТМ, содержащую РА или ее фрагмент. Указанный сконструированный кlostридиальный нейротоксин содержит экзогенную петлю активации, содержащую полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1).

Таким образом, в одном варианте осуществления сконструированный кlostридиальный нейротоксин содержит РА или его фрагмент и LH_N/A, LH_N/B, LH_N/D, LH_N/E, LH_N/F, LH_N/G, LH_N/X или LH_N/TeNT, где эндогенная петля активации кlostридиального нейротоксина заменена экзогенной петлей активации, содержащей полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1).

Lys-C не является пригодным для применения с общепринятыми кlostридиальными нейротоксинами, содержащими LH_N и ТМ в виде РА, поскольку Lys-C гидролизует одну или несколько пептидных связей вне эндогенной петли активации указанного кlostридиального нейротоксина, например, было обнаружено, что Lys-C гидролизует одну или несколько пептидных связей в ТМ в виде РА.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления сконструированный кlostридиальный нейротоксин содержит РА (или его фрагмент) и:

- i. Аминокислотные остатки 1-871 SEQ ID NO: 35;
- ii. Аминокислотные остатки 1-858 SEQ ID NO: 36;
- iii. Аминокислотные остатки 1-862 SEQ ID NO: 38;
- iv. Аминокислотные остатки 1-845 SEQ ID NO: 39;

- v. Аминокислотные остатки 1-864 SEQ ID NO: 40;
- vi. Аминокислотные остатки 1-863 SEQ ID NO: 41;
- vii. Аминокислотные остатки 1-879 SEQ ID NO: 42; или
- viii. Аминокислотные остатки 1-924 SEQ ID NO: 33;

где петля активации эндогенного клостридиального нейротоксина заменена экзогенной петлей активации, содержащей полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1).

В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с полипептидом, содержащим:

- a) SEQ ID NO: 52; и
- b) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с полипептидом, содержащим:

- a) SEQ ID NO: 52; и
- b) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

Предпочтительно сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, содержащую:

- a) SEQ ID NO: 52; и
- b) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с полипептидом, содержащим:

- a) фрагмент SEQ ID NO: 52; и
- b) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

В одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с полипептидом, содержащим:

- a) фрагмент SEQ ID NO: 52; и
- b) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

Предпочтительно сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, содержащую:

- a) фрагмент SEQ ID NO: 52; и
- b) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

В одном варианте осуществления фрагмент PA может представлять собой PAd1, который находится в положении остатков 1-258 SEQ ID NO: 52. В одном варианте осуществления фрагмент PA может представлять собой PAd2, который находится в положении остатков 259-487 SEQ ID NO: 52. В одном варианте осуществления фрагмент PA может представлять собой PAd3, который находится в положении остатков 488-594 SEQ ID NO: 52. В одном варианте осуществления фрагмент PA может представлять собой PAd4, который находится в положении остатков 595-735 SEQ ID NO: 52. В других вариантах осуществления фрагмент PA может содержать любую комбинацию PAd1, PAd2, PAd3 или PAd4.

Полноразмерный PA размером 83 кДа (PA83) может протеолитически процессироваться фурином или другой фурин-подобной протеазой, в результате чего происходит удаление N-концевого фрагмента (PA20). Процессированная форма массой 63 кДа, известная как PA63, представляет собой олигомери-зующую форму PA.

В одном варианте осуществления фрагмент PA может содержать (или состоять из) один или несколько PA63, PAd3-d4, PAd2-d4 и PAd4.

В одном варианте осуществления фрагмент PA может представлять собой связывающий C-концевой рецептор домен PA или его фрагмент PA (или его вариант), который сохраняет активность связывания с ANTXR2 или связывающим ноцирецептор нейронов белком.

Настоящее изобретение также охватывает клостридиальные нейротоксины, которые имеют нена-тивный участок расщепления протеазой. В таких клостридиальных нейротоксинах нативный участок расщепления протеазой (также известный как участок активации, как описано выше) модифицирован или заменен участком расщепления протеазой, который не является нативным для данного клостриди-ального нейротоксина (т.е. экзогенный участок расщепления). Такой участок требует экзогенной протеа-

зы для расщепления, которая позволяет улучшение контроля времени и места событий расщепления. Ненативные участки расщепления протеазой, которые могут использоваться в клостридиальных нейротоксинах, включают:

TEV (вирус гравировки табака) (ENLYFQ↓G) (SEQ ID NO: 79);

Тромбин (LVPR↓GS) (SEQ ID NO: 80);

PreScission (LEVLFQ↓GP) (SEQ ID NO: 81).

Дополнительные участки расщепления протеазой включают последовательности распознавания, которые расщепляются нецитотоксической протеазой, например, легкой цепью клостридиального нейротоксина. Они включают белковые последовательности распознавания SNARE (например, SNAP-25, синтаксин, VAMP), которые расщепляются нецитотоксическими протеазами, такими как легкая цепь клостридиального нейротоксина. Клостридиальные нейротоксины, содержащие ненативные участки расщепления, описаны в US 7132259, EP 1206554-B2 и US 2007/0166332, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме. Также термин "протеаза" охватывает участок расщепления, представляющий собой интеин, который является саморасщепляющейся последовательностью. Реакция самосплайсинга контролируется, например, посредством варьирования концентрации присутствующего восстановителя.

Настоящее изобретение также охватывает клостридиальные нейротоксины, содержащие "деструктивный участок расщепления". В указанных клостридиальных нейротоксинах ненативный участок расщепления протеазой включен в клостридиальный нейротоксин в выбранном положении, так что расщепление в указанном участке снижает активность или инактивирует клостридиальный нейротоксин. Деструктивный участок расщепления протеазой может быть чувствительным к расщеплению местной протеазой в случае, когда клостридиальный нейротоксин после введения мигрирует в область, не являющуюся мишенью. Подходящие ненативные участки расщепления протеазой включают участки, описанные выше. Клостридиальные нейротоксины, содержащие деструктивный участок расщепления, описаны в WO 2010/094905 и WO 2002/044199, обе из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Сконструированные клостридиальные нейротоксины по настоящему изобретению, особенно их легкий компонент, могут быть пегилированными - это может помочь увеличить стабильность, например, длительность действия компонента легкой цепи. Пегилирование является особенно предпочтительным, когда легкая цепь содержит протеазу BoNT/A, B или C1. Пегилирование предпочтительно включает добавление ПЭГ к N-концу компонента легкой цепи. В качестве примера N-конец легкой цепи может быть удлинён на один или несколько аминокислотных остатков (например цистеин), которые могут быть одинаковыми или могут различаться. Один или несколько из указанных аминокислотных остатков могут иметь их собственную присоединенную (например, ковалентно связанную) к ним молекулу ПЭГ. Пример этой технологии описан в WO2007/104567, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Сконструированные клостридиальные нейротоксины по настоящему изобретению могут быть свободны от комплексообразующих белков, которые присутствуют во встречающемся в природе комплексе клостридиальных нейротоксинов.

Сконструированные клостридиальные нейротоксины по настоящему изобретению можно получать с использованием рекомбинантных технологий нуклеиновых кислот. Таким образом, в одном варианте осуществления сконструированный клостридиальный нейротоксин (как описано выше) представляет собой рекомбинантный сконструированный клостридиальный нейротоксин.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте (например, ДНК), содержащей последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую сконструированный клостридиальный нейротоксин, как описано выше. В одном варианте осуществления последовательность нуклеиновой кислоты получают в качестве части ДНК-вектора, содержащего промотор и терминатор.

В предпочтительном варианте осуществления вектор имеет промотор, выбранный из:

Промотор	Индукцирующий агент	Типичные условия индукции
Тас (гибридный)	IPTG	0,2 мМ (0,05-2,0 мМ)
АгаBAD	L-арабиноза	0,2% (0,002-0,4%)
Оператор T7-lac	IPTG	0,2 мМ (0,05-2,0 мМ)

В другом предпочтительном варианте осуществления вектор имеет промотор, выбранный из:

Промотор	Индукцирующий агент	Типичные условия индукции
Тас (гибридный)	IPTG	0,2 мМ (0,05-2,0 мМ)
AraBAD	L-арабиноза	0,2% (0,002-0,4%)
Оператор T7-lac	IPTG	0,2 мМ (0,05-2,0 мМ)
Оператор T5-lac	IPTG	0,2 мМ (0,05-2,0мМ)

Молекулы нуклеиновых кислот по изобретению можно получать с использованием любого подходящего процесса, известного в данной области. Таким образом, молекулы нуклеиновых кислот можно получать с использованием способов химического синтеза. Альтернативно молекулы нуклеиновых кислот по изобретению можно получать с использованием способов молекулярной биологии.

Конструкцию ДНК по настоящему изобретению предпочтительно конструируют *in silico*, а затем синтезируют общепринятыми способами синтеза ДНК.

Вышеупомянутую последовательность нуклеиновой кислоты необязательно модифицируют для использования кодонов в соответствии с предпочтением конечной экспрессирующей системы клетки-хозяина (например, *E. coli*), которую намереваются использовать.

В одном аспекте настоящее изобретение относится нуклеотидной последовательности, кодирующей сконструированный клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению. Нуклеотидная последовательность содержит последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит последовательность, обладающую по меньшей мере 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12. Предпочтительно нуклеотидная последовательность содержит (более предпочтительно состоит из) SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12.

Нуклеотидная последовательность по изобретению кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 1.

Термины "нуклеотидная последовательность" и "нуклеиновая кислота" используют в настоящем описании в качестве синонимов. Предпочтительно нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность ДНК.

Изобретение относится к способу продуцирования белка одноцепочечного (сконструированного) клостридиального нейротоксина, имеющего легкую цепь и тяжелую цепь, причем способ включает экспрессию нуклеиновой кислоты, описанной в настоящем описании, в подходящей клетке-хозяине, лизис клетки-хозяина с получением гомогената клеток-хозяев, содержащего белок одноцепочечного (сконструированного) клостридиального нейротоксина, и выделения белка одноцепочечного (сконструированного) клостридиального нейротоксина. В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу протеолитического процессинга (сконструированного) клостридиального нейротоксина по настоящему изобретению в соответствующий двухцепочечный клостридиальный нейротоксин, причем способ включает приведение (сконструированного) клостридиального нейротоксина в контакт с протеазой (предпочтительно эндопептидаза, такая как энтерокиназа или фактор Ха), тем самым получая двухцепочечный клостридиальный нейротоксин (например, где легкая цепь и тяжелая цепь соединены вместе дисульфидной связью).

Таким образом, настоящее изобретение относится к двухцепочечному клостридиальному нейротоксину, получаемый способом по изобретению.

Термин "получаемый", как используют в рамках изобретения, также охватывает термин "полученный". В одном варианте осуществления термин "получаемый" означает полученный.

Клостридиальный нейротоксин по настоящему изобретению стабильно применим в медицине или в косметике. При применении клостридиальный нейротоксин предпочтительно имеет двухцепочечную форму.

(Сконструированные) клостридиальные нейротоксины по изобретению можно использовать для предупреждения или лечения определенных медицинских или косметических заболеваний и состояний. Таким образом, в следующем аспекте настоящее изобретение относится к (сконструированному) клостридиальному нейротоксину, как описано выше, для применения в медицине.

В родственном аспекте настоящее изобретение относится к (сконструированному) клостридиальному нейротоксину, как описано выше, для применения для предупреждения заболевания или состояния, выбранного из: состояния, ассоциированного с нежелательной иммунной секрецией, страбизмом, блефароспазмом, косоглазием, дистонией (например, спастическая дистония, оромандибулярная дистония, очаговая дистония, поздняя дистония, ларингеальная дистония, дистония конечностей, цервикальная дистония), кривошеей (например, спастическая кривошея), применением в косметологии (косметике), при котором представляют интерес нарушения работоспособности клеток/мышц (посредством подавления или инактивации SNARE), нервно-мышечного нарушения или состояния подвижности глаз (например, сопутствующий страбизм, вертикальный страбизм, паралич латеральной прямой мышцы, нистагм, дистироидная миопатия), графоспазмом, блефароспазмом, бруксизмом, болезнью Вильсона, тремором,

тиками, сегментным миоклонусом, спазмами, спастичностью вследствие хронического рассеянного склероза, спастичностью, приводящей к нарушению контроля мочевого пузыря, враждебностью, спазмом в спине, ушибом или разрывом мышц, тензионными головными болями, синдромом поднимающей мышцы таза, расщепленным позвоночником, поздней дискинезией, болезнью Паркинсона, заиканием, гемифациальным спазмом, нарушением глазного яблока, церебральным параличом, очаговой спастичностью, спастическим колитом, нейрогенным мочевым пузырем, анизмусом, спастичностью конечностей, тиками, тремором, бруксизмом, анальными трещинами, ахалазией, дисфагией, слезоотделением, гипергидрозом, чрезмерным слюноотделением, чрезмерной желудочно-кишечной секрецией, мышечной болью (например, боль в результате мышечных спазмов), головной болью (например, тензионная головная боль), межбровными складками, морщинами кожи, злокачественной опухолью, нарушениями матки, урогенитальными нарушениями, урогенитально-неврологическими нарушениями, хроническим нейрогенным воспалением и нарушением гладких мышц.

Где (сконструированный) кластридиальный нейротоксин по изобретению содержит последовательность VoNT/X (или ее часть), причем указанный кластридиальный нейротоксин может быть способен к нацеливанию на другие типы секреторных клеток, отличные от нейронов, вследствие его способности расщеплять VAMP4, VAMP5 и/или Ykt6. В некоторых вариантах осуществления секреторная клетка, на которую осуществляют нацеливание, представляет собой секреторную иммунную клетку. "Секреторная иммунная клетка", как используют в рамках изобретения, относится к иммунным клеткам, которые секретируют цитокины, хемокины или антитела. Такие секреторные иммунные клетки могут представлять собой клетки врожденного иммунитета, включающие, но не ограничивающиеся ими, натуральные киллеры, тучные клетки, эозинофилы, базофилы, макрофаги, нейтрофилы и дендритные клетки. Также посредством кластридиальных нейротоксинов по настоящему изобретению можно осуществлять нацеливание на секреторные иммунные клетки, которые секретируют антитела (например, лейкоциты). Неограничивающие примеры секретирующих антитела клеток включают, но не ограничиваются ими, плазматические В-клетки, плазмоциты, плазматиты и эффекторные В-клетки. В некоторых вариантах осуществления кластридиальный нейротоксин может модулировать иммунный ответ. Таким образом, кроме того, в рамках настоящего изобретения предусматривается терапевтическое применение кластридиального нейротоксина по изобретению для лечения состояния, ассоциированного с нежелательной секрецией, предпочтительно с нежелательной иммунной секрецией. Состояния, ассоциированные с нежелательной иммунной секрецией, включают, но не ограничиваются ими: воспаление, псориаз, аллергию, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз и алкогольное заболевание поджелудочной железы.

В одном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей (сконструированный) кластридиальный нейротоксин или двухпочечный кластридиальный нейротоксин по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент, адъювант, пропеллент и/или соль.

(Сконструированные) кластридиальные нейротоксины по настоящему изобретению могут быть составлены для перорального, парентерального введения, непрерывной инфузии, ингаляции или местного применения. Композиции, пригодные для инъекции, могут иметь форму растворов, суспензий или эмульсий, или сухих порошков, которые растворяют или суспендируют в подходящем носителе перед применением.

В случае (сконструированного) кластридиального нейротоксина, который доставляют локально, (сконструированный) кластридиальный нейротоксин может быть составлен в качестве крема (например, для местного применения) или для подкожной инъекции.

Средства локальной доставки могут включать аэрозоль или другой спрей (например, небулайзер). В этом отношении, аэрозольный состав (сконструированного) кластридиального нейротоксина позволяет доставку в легкие и/или другие носовые и/или бронхиальные, или дыхательные пути.

(Сконструированные) кластридиальные нейротоксины по изобретению можно вводить пациенту посредством интратекальной или эпидуральной инъекции в позвоночный столб на уровне сегмента позвоночника, вовлеченного в иннервацию пораженного органа.

Предпочтительным путем введения является лапароскопический путь и/или локализованная, в частности внутримышечная, инъекция.

Диапазоны дозировок для введения (сконструированных) кластридиальных нейротоксинов по настоящему изобретению представляют собой диапазоны, которые вызывают желаемый терапевтический эффект. Будет понятно, что требуемый диапазон дозировок зависит от точной природы (сконструированного) кластридиального нейротоксина или композиции, пути введения, природы состава, возраста пациента, природы, степени или тяжести состояния пациента, противопоказаний, при их наличии, и мнения лечащего врача. Эти дозировки могут варьироваться с использованием стандартных эмпирических способов оптимизации.

Подходящие суточные дозировки (на кг массы тела пациента) находятся в диапазоне 0,0001-1 нг/кг, предпочтительно 0,0001-0,5 нг/кг, более предпочтительно 0,002-0,5 нг/кг, и особенно предпочтительно 0,004-0,5 нг/кг. Единичная дозировка может варьироваться от менее 1 пикограмма до 30 нг, однако, как правило, она находится в диапазоне от 0,01 до 1 нг на дозу, которую можно вводить каждые сутки или предпочтительно менее часто, например, раз в неделю или раз в шесть месяцев.

Особенно предпочтительный режим дозирования основан на 0,05 нг (сконструированного) клостридиального нейротоксина в качестве 1X дозы. В этом отношении, предпочтительные дозировки находятся в диапазоне 1X-100X (т.е. 0,05-5 нг).

Жидкие дозированные формы, как правило, получают с использованием (сконструированного) клостридиального нейротоксина и свободного от пирогенов стерильного носителя. (Сконструированный) клостридиальный нейротоксин, в зависимости от используемого носителя и концентрации, может быть либо растворен, либо суспендирован в носителе. При получении растворов (сконструированный) клостридиальный нейротоксин можно растворять в носителе, раствор при необходимости можно преобразовывать в изотонический посредством добавления хлорида натрия и стерилизовать фильтрацией через стерильный фильтр с использованием асептических способов перед заполнением стерильных флаконов или ампул и герметизации. Альтернативно, если стабильность раствора является достаточной, раствор в его закрытых контейнерах можно стерилизовать автоклавированием. Преимущественно, добавки, такие как буферные вещества, солибилизирующие вещества, стабилизирующие вещества, консерванты или бактерицидные средства, суспендирующие средства или эмульгаторы, и/или местные анестетики могут быть растворены в носителе.

Сухие порошки, которые растворяют или суспендируют в подходящем носителе перед применением можно получать путем заполнения предварительно стерилизованными ингредиентами стерильного контейнера с использованием асептического способа в стерильной зоне. Альтернативно ингредиенты могут быть растворены в подходящих контейнерах с использованием асептического способа в стерильной зоне. Затем продукт лиофилизируют и контейнеры запечатывают в асептических условиях.

Парентеральные суспензии, пригодные для внутримышечной, подкожной или внутрикожной инъекции, готовят по существу одним и тем же способом, за исключением того, что стерильные компоненты суспендируют в стерильном носителе вместо растворения, и стерилизация не может быть осуществлена посредством фильтрации. Компоненты можно выделять в стерильном состоянии или альтернативно они могут быть стерилизованы после выделения, например, посредством облучения гамма-излучением.

Преимущественно, в композицию(и) включают суспендирующее вещество, например, поливинилпирролидон, для облегчения однородного распределения компонентов.

Для введения в соответствии с настоящим изобретением может использоваться множество технологий доставки, включая инкапсулирование в микрочастицы, вирусные системы доставки или включение в аэрозоль под высоким давлением.

Предполагается, что варианты осуществления, связанные с различными способами по изобретению, могут применяться в равной степени к другим способам, клостридиальным нейротоксинам, например, сконструированным клостридиальным нейротоксинам (как в однопочечной, так и в двухпочечной форме), применениям или фармацевтическим композициям, и наоборот.

Гомология последовательностей

Для определения процентной идентичности можно использовать любой из различных способов выравнивания, включая, но не ограничиваясь ими, глобальные способы, локальные способы и гибридные способы, например, такие как способы сегментного подхода. Протоколы для определения процентной идентичности являются стандартными методиками, входящим в объем способностей специалиста в данной области. Глобальные способы выравнивают последовательности сначала до конца молекулы и определяют наилучшее выравнивание путем суммирования показателей индивидуальных пар остатков и путем применения штрафов за пропуски. Неограничивающие способы включают, например, CLUSTAL W, см., например, Julie D. Thompson et al., CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice, 22(22) *Nucleic Acids Research* 4673-4680 (1994); и итеративное уточнение, см., например, Osamu Gotoh, Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments, 264(4) *J. Mol. Biol.* 823-838 (1996). Локальные способы выравнивают последовательности посредством идентификации одного или нескольких консервативных мотивов, общих для всех из входных последовательностей. Неограничивающие способы включают, например, Match-box, см., например, Eric Depiereux and Ernest Feytmans, Match-Box: A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences, 8(5) *CABIOS* 501-509 (1992); Gibbs sampling, см., например, C. E. Lawrence et al., Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment, 262 (5131) *Science* 208-214 (1993); Align-M, см., например, Ivo Van Walle et al., Align-M - A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences, 20(9) *Bioinformatics*:1428-1435 (2004).

Таким образом, процентную идентичность последовательностей определяют общепринятыми способами. См., например, Altschul et al., *Bull. Math. Bio.* 48: 603-16, 1986 и Henikoff and Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915-19, 1992. В кратком изложении, две аминокислотных последовательности выравнивают для оптимизации показателей выравнивания с использованием штрафа за внесение делеции 10, штрафа за продолжение делеции 1 и оценочной матрицы "blosum 62", Henikoff and Henikoff (там же), как показано ниже (аминокислоты указаны посредством стандартного однобуквенного кода).

"Процентная идентичность последовательностей" между двумя или более последовательностями нуклеиновых кислот или аминокислот является функцией количества идентичных положений между последовательностями. Таким образом, % идентичность можно вычислять как количество идентичных нуклеотидов/аминокислот на общее количество нуклеотидов/аминокислот, умноженное на 100. В вычислении % идентичности последовательностей также учитывается количество пропусков и длина каждого пропуска, который необходимо вносить для оптимизации выравнивания двух или более последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процентной идентичности между двумя или более последовательностями можно проводить с использованием специальных математических алгоритмов, таких как BLAST, которые известны специалисту в данной области.

Показатели для определения идентичности последовательностей

A R N D C Q E G H I L K M F P S T W Y V

A 4
 R -1 5
 N -2 0 6
 D -2 -2 1 6
 C 0 -3 -3 -3 9
 Q -1 1 0 0 -3 5
 E -1 0 0 2 -4 2 5
 G 0 -2 0 -1 -3 -2 -2 6
 H -2 0 1 -1 -3 0 0 -2 8
 I -1 -3 -3 -3 -1 -3 -3 -4 -3 4
 L -1 -2 -3 -4 -1 -2 -3 -4 -3 2 4
 K -1 2 0 -1 -3 1 1 -2 -1 -3 -2 5
 M -1 -1 -2 -3 -1 0 -2 -3 -2 1 2 -1 5
 F -2 -3 -3 -3 -2 -3 -3 -3 -1 0 0 -3 0 6
 P -1 -2 -2 -1 -3 -1 -1 -2 -2 -3 -3 -1 -2 -4 7
 S 1 -1 1 0 -1 0 0 0 -1 -2 -2 0 -1 -2 -1 4
 T 0 -1 0 -1 -1 -1 -1 -2 -2 -1 -1 -1 -1 -2 -1 1 5
 W -3 -3 -4 -4 -2 -2 -3 -2 -2 -3 -2 -3 -1 1 -4 -3 -2 11
 Y -2 -2 -2 -3 -2 -1 -2 -3 2 -1 -1 -2 -1 3 -3 -2 -2 2 7
 V 0 -3 -3 -3 -1 -2 -2 -3 -3 3 1 -2 1 -1 -2 -2 0 -3 -1 4

Затем процентную идентичность вычисляют следующим образом:

$$\frac{\text{Общее количество идентичных совпадений}}{\text{[длина наиболее длинной последовательности плюс количество пропусков, внесенное в более длинную последовательность, для выравнивания двух последовательностей]}} \times 100$$

По существу гомологичные полипептиды характеризуются наличием одной или нескольких аминокислотных замен, делеций или вставок. Эти изменения предпочтительно являются незначительными, т.е. представляют собой консервативные аминокислотные замены (см. ниже) и другие замены, которые не оказывают значительного влияния на сворачивание и активность полипептида; небольшие делеции, как правило, от одной до приблизительно 30 аминокислот; и небольшие N- или C-концевые удлинения, такие как N-концевой остаток метионина, небольшой линкерный пептид из вплоть до приблизительно 20-25 остатков, или аффинную метку.

Консервативные аминокислотные замены

Основные: аргинин, лизин, гистидин.

Кислотные: глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота.

Полярные: глутамин, аспарагин.

Гидрофобные: лейцин, изолейцин, валин.

Ароматические: фенилаланин, триптофан, тирозин.

Небольшие: глицин, аланин, серин, треонин, метионин.

В дополнение к 20 стандартным аминокислотам, нестандартными аминокислотами (такими как 4-гидроксипролин, 6-N-метиллизин, 2-аминоизомаляновая кислота, изовалин и α-метилсерин) можно заменять аминокислотные остатки полипептидов по настоящему изобретению. Аминокислотные остатки полипептида можно заменять ограниченным количеством неконсервативных аминокислот, аминокислот, которые не кодируются генетическим кодом и не природных аминокислот. Полипептиды по настоящему изобретению также могут содержать не встречающиеся в природе аминокислотные остатки.

Не встречающиеся в природе аминокислоты включают, но не ограничиваются ими, транс-3-метилпролин, 2,4-метанопронин, цис-4-гидроксипролин, транс-4-гидроксипролин, N-метилглицин, аллотреонин, метилтреонин, гидроксиэтилцистеин, гидроксиэтилгомоцистеин, нитроглутамин, гомоглутамин, пипеколиновую кислоту, трет-лейцин, норвалин, 2-азафенилаланин, 3-азафенилаланин, 4-

азафенилаланин и 4-фторфенилаланин. В данной области известно несколько способов включения не встречающихся в природе аминокислотных остатков в белки. Например, можно использовать систему *in vitro*, где нонсенс-мутации подавляются с использованием химически аминокислотированных супрессорных тРНК. Способы синтеза аминокислот и аминокислотирования тРНК известны в данной области. Транскрипцию и трансляцию плазмид, содержащих нонсенс-мутации, проводят в бесклеточной системе, содержащей экстракт *E. coli* S30 и коммерчески доступные ферменты и другие реагенты. Белки очищают посредством хроматографии. См., например, Robertson et al., *J. Am. Chem. Soc.* 113:2722, 1991; Ellman et al., *Methods Enzymol.* 202:301, 1991; Chung et al., *Science* 259:806-9, 1993; и Chung et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:10145-9, 1993). Во втором способе трансляцию проводят в ооцитах *Xenopus* посредством микроинъекции мутантной мРНК и химически аминокислотированных супрессорных тРНК (Turcatti et al., *J. Biol. Chem.* 271:19991-8, 1996). В третьем способе клетки *E. coli* культивируют в отсутствие природной аминокислоты, подлежащей замене (например, фенилаланин) и в присутствии желаемой не встречающейся в природе аминокислоты (аминокислот) (например, 2-азафенилаланин, 3-азафенилаланин, 4-азафенилаланин или 4-фторфенилаланин). Не встречающуюся в природе аминокислоту включают в полипептид вместо ее природного аналога. См., Koide et al., *Biochem.* 33:7470-6, 1994. Встречающиеся в природе аминокислотные остатки можно конвертировать в не встречающиеся в природе формы посредством химической модификации *in vitro*. Химическую модификацию можно комбинировать с сайт-направленным мутагенезом для дальнейшего расширения диапазона замен (Wynn and Richards, *Proteins Sci.* 2:395-403, 1993).

Аминокислотные остатки полипептидов по настоящему изобретению могут быть замещены неконсервативными аминокислотами, аминокислотами, которые не кодируются генетическим кодом, не встречающимися в природе аминокислотами, и неприродными аминокислотами.

Незаменимые аминокислоты в полипептидах по настоящему изобретению можно идентифицировать с помощью методик, известных в данной области, таких как сайт-направленный мутагенез или аланин-сканирующий мутагенез (Cunningham and Wells, *Science* 244: 1081-5, 1989). Участки биологического взаимодействия также могут быть определены посредством физического анализа структуры, при определены такими способами, как ядерный магнитный резонанс, кристаллография, электрография или фотоаффинное мечение, совместно с мутацией предполагаемых аминокислот участков контакта. См., например, de Vos et al., *Science* 255:306-12, 1992; Smith et al., *J. Mol. Biol.* 224:899-904, 1992; Wlodaver et al., *FEBS Lett.* 309:59-64, 1992. Тип незаменимых аминокислот также может быть установлен посредством анализа гомологов с родственными компонентами (например, компоненты транслокации или протеазные компоненты) полипептидов по настоящему изобретению.

Множество аминокислотных замен можно вносить и тестировать с использованием известных способов мутагенеза и скрининга, таких как способы, описанные Reidhaar-Olson and Sauer (*Science* 241:53-7, 1988) или Bowie and Sauer (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2152-6, 1989). В кратком изложении, эти авторы описывают способы одновременной рандомизации двух или более положений в полипептиде, селекции функционального полипептида, а затем секвенирования подвергнутых мутагенезу полипептидов для определения спектра допустимых замен в каждом положении. Другие способы, которые можно использовать, включают фаговый дисплей (например, Lowman et al., *Biochem.* 30:10832-7, 1991; Ladner et al., патент США № 5223409; Huse, публикация WIPO WO 92/06204) и мутагенез, целенаправленно воздействующий на область (Derbyshire et al., *Gene* 46:145, 1986; Ner et al., *DNA* 7:127, 1988).

Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, обладают тем же значением, которое обычно подразумевают специалистом в области, к которой относится настоящее изобретение. В Singleton, et al., *DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY*, 20 ED., John Wiley and Sons, New York (1994), и Hale & Marham, *THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY*, Harper Perennial, NY (1991) предоставлен специалисту в данной области общий словарь многих из терминов, используемых в настоящем описании.

Настоящее изобретение не ограничивается иллюстративными способами и материалами, описанными в настоящем описании, и любые способы и материалы, сходные или эквивалентные способам, описанным в настоящем описании, можно использовать для применения на практике или тестирования вариантов осуществления изобретения. Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Если нет иных указаний, любые последовательности нуклеиновых кислот написаны слева направо в ориентации от 5' к 3'; аминокислотные последовательности написаны слева направо в ориентации от N к C, соответственно.

Заголовки, приведенные в настоящем описании, не являются ограничениями различных аспектов и вариантов осуществления настоящего изобретения.

Аминокислоты указывают в настоящем описании с использованием названия аминокислот, трехбуквенного сокращенного обозначения или однобуквенного сокращенного обозначения. Термин "белок", как используют в рамках изобретения, включает белки, полипептиды и пептиды. Как используют в рамках изобретения, термин "аминокислотная последовательность" является синонимом термина "полипептид" и/или термина "белок". В некоторых случаях термин "аминокислотная последовательность" является синонимом термина "пептид". В некоторых случаях термин "аминокислотная последовательность"

является синонимом термина "фермент". Термины "белок" и "полипептид" используют в настоящем описании взаимозаменяемо. В настоящем описании и формуле изобретения можно использовать общепринятые однобуквенные и трехбуквенные коды аминокислотных остатков. 3-буквенный код аминокислот при определении в соответствии с Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) IUPACIUB. Также понятно, что полипептид может кодироваться более чем одной нуклеотидной последовательностью вследствие вырожденности генетического кода.

На протяжении настоящего описания могут быть приведены другие определения. Перед более подробным описанием иллюстративных вариантов осуществления, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными вариантами осуществления, и они по существу могут варьироваться. Также понятно, что терминология, используемая в настоящем описании, приведена только для цели описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения определяется прилагаемой формулой изобретения.

Когда предусматривается диапазон величин, понятно, что также конкретно предусматривается каждая входящая в этот диапазон величина до десятой доли единицы, если контекст не предусматривает иное, между верхним и нижним пределами этого диапазона. Изобретение охватывает каждый меньший диапазон между какой-либо указанной величиной или входящей в него величиной в указанном диапазоне и любой другой указанной или входящей в него величиной в этом указанном диапазоне. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены или исключены из диапазона, и изобретение охватывает каждый диапазон, где любой, ни один или оба из этих пределов включены в меньшие диапазоны при условии какого-либо конкретного исключенного предела в указанном диапазоне. Когда указанный диапазон включает один или оба из пределов, также изобретение включает любой или оба из этих включенных пределов.

Необходимо отметить, что, как используют в рамках изобретения и в прилагаемой формуле изобретения, форма единственного числа включает множественное число, если контекст явно не указывает на иное. Таким образом, например, указание на "кlostридиальный нейротоксин" включает множество таких кандидатов и указание на "кlostридиальный нейротоксин" включает указание на один или несколько кlostридиальных нейротоксинов и их эквивалентов, известных специалистам в данной области, и т.д.

Публикации, описанные в настоящем описании, предоставлены только для их раскрытия до даты подачи настоящей заявки. Ничто в настоящем описании не следует истолковывать как допущение того, что такие публикации составляют уровень техники для прилагаемой формулы изобретения.

Краткое описание чертежей

Варианты осуществления изобретения описаны далее только в качестве примеров с помощью прилагаемых чертежей и примеров.

На фиг. 1 представлено сравнение белковой последовательности петли активации для всех серотипов VoNT и столбчатого токсина с двумя фланкирующими остатками цистеина, образующими дисульфидный мостик, соединяющий легкую и тяжелую цепи молекулы токсина. Участок расщепления фактора Ха (IDGR) в VoNT/C1 и VoNT/CD подчеркнут.

На фиг. 2 показано, что все четыре протестированных протеазы: трипсин (TrypZean), Lys-C, фактор Ха (FXa) и энтерокиназа (ЕК), обладают способностью расщеплять петлю активации VoNT/C1 и образовывать двухцепочечную молекулу по сравнению с контролем без обработки протеазой С. (А, В) VoNT/C1(0) (SEQ ID NO: 15), обработанный фактором Ха (FXa), энтерокиназой (ЕК) и трипсином (за период 1-16 часов), как указано, при тестировании посредством SDS-PAGE в не восстанавливающих (А) и восстанавливающих условиях (В). Аналогично, протеолитическое расщепление Lys-C создает двухцепочечные молекулы VoNT/C1 (С). Как трипсин, так и Lys-C, демонстрируют неспецифическое расщепление тяжелой цепи VoNT/C1. 1-маркер молекулярной массы (5 мкл); 2-контрольный образец (-LysC) - DTT; 3-контрольный образец (-LysC) +DTT; 4-активированный - DTT; 5-активированный +DTT.

На фиг. 3 (А) представлено расщепление VoNT/X посредством Lys-C. Образцы тестировали в условиях без восстановления и с восстановлением (+DTT). 1-маркер молекулярной массы (5 мкл); 2-контроль без протеазы; 3-LysC, 0,125 мкг/мл; 4-LysC, 0,25 мкг/мл; 5-LysC, 0,5 мкг/мл; 6-LysC, 1 мкг/мл; 7-LysC, 2 мкг/мл; 8-LysC, 4 мкг/мл; 9-контроль без протеазы +DTT; 10-LysC, 0,125 мкг/мл +DTT; 11-LysC, 0,25 мкг/мл +DTT; 12-LysC, 0,5 мкг/мл +DTT; 13-LysC, 1 мкг/мл +DTT; 14-LysC, 2 мкг/мл +DTT; 15-LysC, 4 мкг/мл +DTT; и 16-маркер молекулярной массы (5 мкл). На (В) представлено расщепление VoNT/X посредством трипсина (TrypZean), фактор Ха и энтерокиназы. Образцы тестировали в условиях без восстановления и с восстановлением (+DTT). 1-маркер молекулярной массы (5 мкл); 2-контроль без протеазы; 3-TrypZean, 0,125 мкг/мл; 4-TrypZean, 0,25 мкг/мл; 5-контроль без протеазы; 6-TrypZean, 1 мкг/мл; 7-TrypZean, 2 мкг/мл; 8-TrypZean, 4 мкг/мл; 9-фактор Ха, 5 мкг/мл; 10-энтерокиназа 0,01 мкг/мл; 11-контроль без протеазы +DTT; 12-TrypZean, 0,125 мкг/мл +DTT; 13-TrypZean, 0,25 мкг/мл +DTT; 14-контроль без протеазы +DTT; 15-TrypZean, 1 мкг/мл+DTT; 16-TrypZean, 2 мкг/мл +DTT; 17-TrypZean, 4 мкг/мл +DTT; 18-фактор Ха, 5 мкг/мл; 19-энтерокиназа, 0,01 мкг/мл; и 20-маркер молекулярной массы (5 мкл).

На фиг. 4 представлен сконструированный VoNT/X (SEQ ID NO: 5), обработанный указанными протеазами, и успешное образование двухцепочечного VoNT, о чем свидетельствует сравнение между условиями без восстановления (-DTT) и с восстановлением (+DTT). На дорожках 4-7 представлены об-

разцы при обработке. На дорожках 8-11 представлены конечные образцы после последней стадии очистки. 1-изображение нагрузки HisHP; 2-контроль -DTT -протеаза; 3-контроль +DTT - протеаза; 4-с активацией-DTT +EK; 5-с активацией+DTT +EK; 6-с активацией -DTT +FXa; 7-с активацией +DTT +FXa; 8-конечные - DTT EK активная; 9-конечные +DTT EK активная; 10-конечные -DTT FXa активный; 11-конечные +DTT FXa активный.

На фиг. 5 (А) представлен BoNT/E, протестированный с 10 мкг/мл эндопротеазы Lys-C из *Lysobacter enzymogenes* ("Lys-C") и *Pseudomonas aeruginosa* ("rLys-C") в течение 2 ч при 37°. Образцы тестировали в условиях без восстановления и с восстановлением (+TSEP). На (В) представлен BoNT/E, обработанный указанными количествами трипсина в течение 7 ч при 20°C. (С) - образец, хранившийся при -20°C. (Т) - контроль без протеазы при 20°C. Образцы тестировали в условиях с восстановлением (+DTT).

На фиг. 6 представлен сконструированный BoNT/E (SEQ ID NO: 11), обработанный указанными протеазами, и успешное образование двухцепочечного BoNT, о чем свидетельствует сравнение между условиями без восстановления (-DTT) и с восстановлением (+DTT). 1 - маркер молекулярной массы (5 мкл); 2 - контрольный образец (-EK) - DTT; 3 - контрольный образец (-EK) +DTT; 4 - с активацией (+EX) - DTT; 5 - с активацией (+EK) +DTT; 11 - маркер молекулярной массы (5 мкл); 6 - контрольный образец (-FXa) - DTT; 7 - контрольный образец (-FXa) +DTT; 8 - с активацией (+FXa) - DTT; 9 - с активацией (+FXa) +DTT.

На фиг. 7 (А) представлен сконструированный BoNT/A1C1 (SEQ ID NO: 13), обработанный протеазой фактором Xa, и последовательное образование двухцепочечного BoNT, о чем свидетельствует сравнение между условиями без восстановления (-DTT) и с восстановлением (+DTT). 1 - маркер молекулярной массы; 2 - контроль (-FXa -DTT); 3 - контроль (-FXa +DTT); 4 - с активацией (+FXa -DTT); 5 - с активацией (+FXa +DTT). На (В) представлено расщепление BoNT/A1 посредством FXa или EK через 2 часа по сравнению с положительным контролем (двухцепочечный BoNT/A1).

На фиг. 8 представлено зависимое от дозы BoNT/A1C1 и BoNT/C1 ингибирование высвобождения глутамата из первичных нейронов крысы.

На фиг. 9 представлен интактный анализ массы не восстановленного сконструированного BoNT/E (SEQ ID NO: 11), активированного энтерокиназой с указанной массой 143853 Да.

На фиг. 10 представлен анализ массы исходного вещества восстановленного сконструированного BoNT/E (SEQ ID NO: 11), активированного энтерокиназой с указанной массой 47518 Да и 96338 Да.

На фиг. 11 представлен анализ массы исходного вещества не восстановленного сконструированного BoNT/E (SEQ ID NO: 11), активированного фактором Xa с указанной массой 143850 Да.

На фиг. 2 представлен анализ массы исходного вещества восстановленного сконструированного BoNT/E (SEQ ID NO: 11), активированного фактором Xa с указанной массой 47518 Да и 96335 Да.

На фиг. 13 представлен контактирующий с LH_N/A1 участок расщепления EK, встроенный в петлю активации (SEQ ID NO: 44) и обработанный EK по сравнению с нативной петлей A1 (SEQ ID NO: 46) при обработке Lys-C. 1 - маркер молекулярной массы (5 мкл); 2 - пустой; 3 - SEQ ID NO: 44 +EK -DTT; 4 - SEQ ID NO: 44 +EK +DTT; 5 - SEQ ID NO: 44 - EK -DTT; 6-SEQ ID NO: 44 - EK +DTT; 7 - маркер молекулярной массы; 8 - SEQ ID NO: 46 - LysC -DTT; 9 - SEQ ID NO: 46 - LysC-DTT; 10 - SEQ ID NO: 46 +LysC -DTT; 11 - SEQ ID NO: 46 - LysC+DTT; 12 - SEQ ID NO: 46 +LysC +DTT и 13 - SEQ ID NO: 46 - LysC +DTT.

На фиг. 14 представлена активация сконструированная BoNT/XA (SEQ ID NO: 7) с FXa. На фиг. 14 представлена активация сконструированная BoNT/XA (SEQ ID NO: 7) с FXa.

На фиг. 15 представлена активация сконструированного BoNT/XB (SEQ ID NO: 9) посредством FXa.

Список последовательностей

Первоначальный аминокислотный остаток Met или соответствующий первоначальный кодон указан в любой из приведенных ниже SEQ ID NO, причем указанный остаток/кодон является необязательным.

SEQ ID NO: 1 (консенсусная последовательность петли активации C1)

Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys

SEQ ID NO: 2 (петля активации C1)

CHKAIDGRSLYNKTLDC

SEQ ID NO: 3 (вариант петли активации C1)

CHKAIEGRSLYNKTLDC

SEQ ID NO: 4 (нуклеотидная последовательность BoNT/X с петлей активации C1)

ATGAAACTGGAAATCAACAAATTCAACTACAACGATCCGATCGATGGCATT
ATGTTATTACCATGCGTCCGCTCGTCATAGCGATAAAATCAATAAAGGTAAGGTC
CGTTCAAAGCCTTTCAGGTGATTA AAAACATTTGGATTGTGCCGGAACGCTACAAC
TTACCAATAATACCAACGATCTGAACATTCGAGCGAACCGATTATGGAAGCAGAT
GCCATTTATAACCCGAACATCTGAATACCCGAGCGAAAAAGATGAATTTCTGCAG
GGTGTATCAAAGTGCTGGAACGCATTA AAAAGCAAACCGGAAGGTGAAAACTGCT

GGAAGTATTAGCAGCAGCATTCCGCTGCCGCTGGTTAGCAATGGTGCCTGACCCT
GAGCGATAATGAAACCATTGCATATCAAGAGAACAACAACATTGTGAGCAATCTGC
AGGCAAACCTGGTTATTTATGGTCCGGGTCCTGATATTGCAAATAATGCAACCTATG
GTCTGTATAGCACCCCGATTAGTAATGGTGAAGGTACACTGAGCGAAGTTAGCTTTA
GCCCCGTTTTATCTGAAACCGTTTGATGAAAGCTATGGCAATTATCGTAGCCTGGTGA
ATATCGTGAACAAATTCGTGAAACGTGAATTTGCACCTGATCCGGCAAGCACCCCTGA
TGCATGAACTGGTTCATGTTACCCATAATCTGTATGGTATTAGCAACCGCAACTTCT
ACTATAACTTTGACACCGGCAAAATTGAAACCAGCCGTCAGCAGAATAGCCTGATTT
TTGAAGAACTGCTGACCTTTGGTGGCATTGATAGCAAAGCAATTAGCAGCCTGATCA
TCAAGAAAATTATCGAAACCGCCAAGAACAATAACCACGCTGATTAGCGAACGC
CTGAATACCGTTACCGTTGAAAATGATCTGCTGAAATATATCAAAAACAAAATCCCG
GTTACAGGGTCGCTGGGTAACCTTTAACTGGATACCGCAGAATTCGAGAAAAAGCT
GAATACCATTCTGTTTGTGCTGAACGAAAGCAATCTGGCACAGCGTTTTAGCATTCT
GGTTCGTAAACATTACCTGAAAGAACGTCGATTGATCCGATTTATGTGAACATTCT
GGATGACAATAGCTACAGCACCCCTGGAAGGTTTTAACATTAGCAGTCAGGGTAGCA
ATGATTTCCAAGGTCAGCTGCTGGAAGCAGCTATTTTGAAAAAATTGAAAGCAAT
GCCCTGCGTGCCTTTATCAAAATTTGTCATAAAGCCATTGATGGTTCGACGCTGTAT
AACAAAACCCCTGGATTGTATTGAGGTGGAAAACAAAGACCTGTTTCTGATTAGCAA
CAAAGATAGCCTGAACGATATTAACCTGAGCGAAGAAAAAATCAAACCGGAAACC
ACCGTGTTCCTCAAAGATAAACTGCCTCCGACGATATTACGCTGAGCAATTATGAT
TTTACCGAAGCCAATAGCATTCCGAGCATTAGCCAGCAGAACATTCTGGAACGTAAT
GAAGAACTGTATGAACCGATTGCAATAGCCTGTTTGAAATCAAACCATCTATGTG
GATAAGCTGACCACCTTTCATTTTCTGGAAGCCCAGAATATTGATGAGAGCATTGAT
AGCAGCAAAAATTCGTGTTGAACTGACCGATAGCGTTGATGAAGCACTGAGCAATCC
GAATAAAGTTTATAGCCCGTTCAAGAACATGAGCAACACCATTAATAGCATTGAAA
CCGGTATTACCAGCACCTACATCTTTTATCAGTGGCTGCGTAGCATCGTGAAGATT
TTAGTGATGAAACCGGCAAAATCGACGTGATTGATAAAAAGCAGCGATACCCCTGGCA
ATTGTTCCGTATATTGGTCCGCTGCTGAATATTGGTAATGATATTCGTCATGGCGATT
TTGTGGGTGCAATTGAACTGGCAGGCATTACCGCACTGCTGGAATATGTTCCGGAAT
TTACCATTCCGATTCTGGTTGGTCTGGAAGTTATTGGTGGCGAACTGGCACGTGAAC
AGGTTGAAGCAATTGTTAATAATGCCCTGGATAAACGCGATCAGAAATGGGCAGAA
GTTTACAATATTACCAAAGCACAGTGGTGGGGCACCATTCAATTTACAGATTAATACC
CGTCTGGCCCATACCTATAAAGCCCTGAGCCGTCAGGCAAATGCCATTAATGAAT
ATGGAATTTAGCTGGCCAACTACAAAGGCAACATTGATGATAAAGCCAAGATCAA
AAACGCCATCAGCGAAACCGAAATTCTGCTGAACAAAAGCGTTGAACAGGCCATGA
AAAACACCGAGAAATTCATGATTAACTGAGCAACAGCTACCTGACCAAAGAAATG
ATTCCGAAAGTTCAGGACAACCTGAAAAACTTTGATCTGGAAACCAAAAAGACCCCT
GGACAAGTTCATCAAAGAGAAAGAAGATATCCTGGGCACCAATCTGAGCAGCAGCC
TGCGTCGTAAGTTAGCATTCTGCTGAATAAAAACATTGCCTTCGACATCAACGATA
TCCCCTTAGCGAATTTGATGATCTGATCAACCAGTACAAAAACGAGATCGAAGATT

ATGAAGTGCTGAATCTGGGTGCAGAAGATGGCAAAATCAAAGATCTGAGCGGTACA
 ACCAGCGATATCAATATTGGTTTCAGATATCGAACTGGCCGATGGTCGTGAAAATAA
 AGCGATTAAGATTAAGGCAGCGAGAACAGCACCATCAAAATTGCAATGAACAAAT
 ATCTGCGTTTTAGCGGACCGATAACTTTAGCATTAGCTTTTGGATCAAACATCCGA
 AACCGACCAATCTGCTTAATAACGGTATTGAATATACCCTGGTCGAGAACTTTAATC
 AGCGTGGTTGAAAATTAGCATCCAGGATAGCAAACTGATTTGGTATCTGCGCGATC
 ACAATAACAGCATCAAAATCGTTACACCGGATTATATTGCGTTAATGGCTGGAACC
 TGATTACCATTACAAACAATCGTAGCAAAGGCAGCATCGTGTATGTTAACGGTAGC
 AAAATTGAAGAGAAGGACATTAGCAGCATTTGGAATACCGAAGTGGATGATCCGAT
 TATCTTCCGCCTGAAAATAACCGTGATACCCAGGCATTTACCCTGCTGGATCAGTT
 TAGCATTTATCGCAAAGAACTGAACCAGAACGAAGTGGTGAAACTGTATAACTACT
 ACTTCAACAGCAACTACATTCGCGATATTTGGGGTAATCCGCTGCAGTACAACAAAA
 AATACTATCTGCAGACCCAGGACAAACCTGGTAAAGGTCTGATCCGCGAATATTGG
 AGCAGCTTTGGTTATGATTATGTGATTCTGAGCGATAGCAAGACCATTACCTTCCG
 AATAATATCCGTTATGGTGCCCTGTATAATGGTAGCAAAGTGCTGATCAAGAACAGC
 AAAAACTGGATGGTCTGGTGCGCAATAAAGATTTTCATTCAGCTGGAAATCGATGG
 CTATAATATGGGTATTAGCGCAGATCGCTTTAACGAGGATACCAACTATATTGGCAC
 CACCTATGGTACAACCCATGATCTGACCACCGATTTTGAATATTTCAGCGCCAAGA
 GAAATACCGCAATTATTGTCAGCTGAAAACCCCGTATAACATCTTTCATAAAAGCGG
 TCTGATGAGCACCGAAACCAGCAAACCGACCTTCCATGATTATCGCGATTGGGTTA
 TAGCAGCGCATGGTATTTTCAGAACTATGAAAATCTGAACCTGCGCAAACATACCA
 AAACCAACTGGTATTTTATCCCGAAAGATGAAGGTTGGGATGAAGATCTGGAAGTG
 CTGTTTCAGGGTCCGCATCATCACCACCATCACCATCATCACTGA

SEQ ID NO: 5 (полипептидная последовательность BoNT/X с петлей активации C1)

MKLEINKFNYNPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIKNIWIVPERYNF
 TNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTNSEKDEFQGVKVLERIKSKPEGEKLELISSSI
 PLPLVSNALTLSDNETIAYQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEG
 TLSEVSFSFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHEL VHVTHNL YGIS
 NRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNT
 VTVENDLLKYIKNKIPVQGR LGNFKLDTAEFEKLNLTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYL
 KERPIDIYVNLDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQQLLESSYFEKIESNALRAFIKICHKAI
 DGRSLYNKTLDCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNY
 DFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRV
 ELTDSVDEALSNPNKVYSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVID
 KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLEVIGGELAR
 EQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKM
 NMEFQLANYKGNIDDKAKIKNAISETEILLNK SVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMIPK
 VQDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPFSEFDDL
 INQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTS DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKI
 AMNKYLRFSATDNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLR

DHNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISSIWNTEVDDPIIFRLK
 NNRDTQAFLLDQFSIYRKELNQNEVVKLYNYFYNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQEQ
 DKPGKGLIREYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK
 DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTTHDLTDFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNI
 FHKSGLMSTETSKPTFHDYRDWVYSSAWYFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDE
 DLEVLFGPHHHHHHHHHH

SEQ ID NO: 6 (нуклеотидная последовательность BoNT/XA [LH_NX-H_CA] с петлей активации C1)

ATGAAACTGGAAATCAACAAATTCAACTACAACGATCCGATCGATGGCATT
 ATGTTATTACCATGCGTCCGCCTCGTCATAGCGATAAAATCAATAAAGGTAAAGGTC
 CGTTCAAAGCCTTTCAGGTGATTAACAAACATTTGGATTGTGCCGGAACGCTACAAC
 TTACCAATAATACCAACGATCTGAACATTCGAGCGAACCGATTATGGAAGCAGAT
 GCCATTTATAACCCGAACTATCTGAATACCCGAGCGAAAAAGATGAATTTCTGCAG
 GGTGTTATCAAAGTGCTGGAACGCATTAAGCAAACCGGAAGGTGAAAACTGCT
 GGAACGATTAGCAGCAGCATTCCGCTGCCGCTGGTTAGCAATGGTGCACCTGACCCT
 GAGCGATAATGAAACCATTCATATCAAGAGAACAACAACATTGTGAGCAATCTGC
 AGGCAAACCTGGTTATTTATGGTCCGGTCTGATATTGCAAATAATGCAACCTATG
 GTCTGTATAGCACCCCGATTAGTAATGGTGAAGGTACACTGAGCGAAGTTAGCTTTA
 GCCCGTTTTATCTGAAACCGTTTATGAAAGCTATGGCAATTATCGTAGCCTGGTGA
 ATATCGTGAACAAATTCGTGAAACGTGAATTTGCACCTGATCCGGCAAGCACCTGA
 TGCATGAACTGGTTCATGTTACCCATAATCTGTATGGTATTAGCAACCGCAACTTCT
 ACTATAACTTTGACACCGGCAAAATTGAAACCAGCCGTCAGCAGAATAGCCTGATTT
 TTGAAGAACTGCTGACCTTTGGTGGCATTGATAGCAAAGCAATTAGCAGCCTGATCA
 TCAAGAAAATTATCGAAACCGCCAAGAACAATAACCACGCTGATTAGCGAACGC
 CTGAATACCGTTACCGTTGAAAATGATCTGCTGAAATATATCAAAAACAAAATCCCG
 GTTCAGGGTCTGCTGGGTAACCTTTAACTGGATACCGCAGAATTCGAGAAAAAGCT
 GAATACCATTTCTGTTTGTGCTGAACGAAAGCAATCTGGCACAGCGTTTTAGCATTCT
 GGTTCGTAAACATTACCTGAAAGAACGTCCGATTGATCCGATTTATGTGAACATTCT
 GGATGACAATAGCTACAGCACCTGGAAGGTTTTAACATTAGCAGTCAGGGTAGCA
 ATGATTTTCAGGGCCAGCTGCTGGAAAGCAGCTATTTTGAAAAAATTGAATCCAATG
 CGCTGCGTGCCTTTATCAAAATTTGTCATAAAGCCATTGATGGTCGCAGCCTGTATA
 ACAAACCCCTGGATTGTATTGAAGTGAAACAAAGACCTGTTCTGATTAGCAAT
 AAAGATAGCCTGAACGATATCAACCTGAGCGAAGAAAAAATCAAACCGGAAACCA
 CCGTGTCTTCAAAGATAAACTGCCTCCGAGGATATTACCCTGAGCAATTATGATT
 TTACCGAAGCCAATAGCATTCCGAGCATTAGCCAGCAGAACATTCTGGAACGTAAT
 GAAGAAGCTGATGAACCGATTGCAATAGCCTGTTTGAAATCAAACCATCTATGTG
 GATAAGCTGACCACCTTTCATTTCTGGAAGCCAGAATATTGATGAGAGCATTGAT
 AGCAGCAAAATTCGTGTTGAACTGACCGATAGCGTTGATGAAGCACTGAGCAATCC
 GAATAAAGTTTATAGCCGTTCAAGAACATGAGCAACACCATTAATAGCATTGAAA
 CCGGTATTACCAGCACCTACATCTTTTATCAGTGGCTGCGTAGCATCGTGAAAGATT

TTAGTGATGAAACCGGCAAAATCGACGTGATTGATAAAAGCAGCGATACCCTGGCC
ATTGTTCCGTATATTGGTCCGCTGCTGAATATTGGTAATGATATTCGTCATGGCGATT
TTGTGGGTGCAATTGAACTGGCAGGCATTACCGCACTGCTGGAATATGTTCCGGAAT
TTACCATTCCGATTCTGGTTGGTCTGGAAGTTATTGGTGGCGAACTGGCACGTGAAC
AGGTTGAAGCAATTGTTAATAATGCCCTGGATAAACGCGATCAGAAATGGGCAGAA
GTTTACAATATTACCAAAGCACAGTGGTGGGGCACCATTCAATTTACAGATTAATACC
CGTCTGGCCCATACCTATAAAGCCCTGAGCCGTCAGGCAAATGCCATTAATGAAT
ATGGAATTTTCAGCTGGCCAACTACAAAGGCAACATTGATGATAAAGCCAAGATCAA
AAACGCCATCAGCGAAACCGAAATTCTGCTGAACAAAAGCGTTGAACAGGCCATGA
AAAACACCGAGAAATTCATGATTAACACTGAGCAACAGCTACCTGACCAAAGAAATG
ATCCGAAAGTTCAGGACAACCTGAAAAACTTTGATCTGGAAACCAAAAAGACCCT
GGACAAGTTCATCAAAGAGAAAGAAGATATCCTGGGCACCAATCTGAGCAGCAGCC
TGCGTCGTAAAGTTAGCATTCTGCTGAATAAAAACATTGCCTTCGACATCAACGATA
TCCCGTTTAGCGAATTTGATGATCTGATCAACCAGTACAAAACGAGATCGAAGATT
ATGAAGTGCTGAATCTGGGTGCAGAAGATGGCAAAATCAAAGATCTGAGCGGTACA
ACCAGCGATATTAACATTGGTAGCGATATCGAAATCATCAACACCAGCATTCTGAAT
CTGCGCTATGAAAGCAATCATCTGATTGATCTGAGCCGTTATGCGTCCAAAATCAAT
ATTGGCAGCAAAGTGAATTTTCGACCCGATCGATAAAAATCAGATCCAGCTGTTAAT
CTGGAAGCTCCAAAATTGAGGTGATTCTGAAAAACGCGATTGTGTACAATAGCAT
GTATGAGAATTTCTCAACCAGCTTCTGGATTTCGATTCCGAAATACTTTAACAGCAT
CAGCCTGAACAACGAGTATAACCATTATCAACTGCATGGAAAACAATAGCGGTTGGA
AAGTGAGCCTGAATTATGGTGAAATTATCTGGACCCTGCAGGATACCCAAGAAATC
AAACAGCGTGTGTGTTCAAATACAGCCAGATGATTAACATCAGCGATTACATTAAC
CGCTGGATCTTTGTTACCATTACCAACAATCGCCTGAATAACAGCAAGATCTATATT
AACGGTCGTCTGATTGACCAGAAACCGATTAGTAATCTGGGTAATATTCATGCCAGC
AACACATCATGTTCAAACCTGGATGGTTGTCGTGATACCCATCGTTATATTTGGATC
AAGTATTTAACCTGTTTGATAAAGAACTGAACGAAAAAGAAATTAAGGATCTGTA
TGATAACCAGTCCAATAGCGGCATCCTGAAGGATTTTTGGGGTGATTATCTGCAGTA
TGACAAACCGTATTATATGCTGAACCTGTACGATCCGAACAAATATGTGGATGTGAA
TAATGTGGGTATCCGTGGCTATATGTATCTGAAAGGTCCGCGTGGTAGCGTTATGAC
CACCAACATTTATCTGAATAGCAGCCTGTATCGTGGCACCAAATTCATCATCAAAAA
ATACGCCAGCGGCAACAAAGATAATATTGTGCGTAATAATGACCGCGTGTATATCA
ATGTGGTGGTGAAGAATAAAGAATATCGTCTGGCAACCAATGCAAGCCAGGCAGGC
GTTGAAAAAATCTGAGCGCACTGGAAATCCCGGATGTGGGTAATCTGAGCCAGGT
TGTTGTTATGAAAAGCAAAAATGATCAGGGCATACCAACAAGTGCAAAAATGAATC
TGCAGGACAATAACGGCAACGACATTGGTTTTATTGGCTTTCACCAGTTTAAACAACA
TTGCCAAACTGGTTGCGAGCAATTGGTATAATCGTCAGATTGAACGTAGCAGTCGTA
CCCTGGGTTGTAGCTGGGAATTTATCCGGTTGATGATGGTTGGGGTGAACGTCCGC
TGCATCATCACCACCATCACCATCACCACCATTA

SEQ ID NO: 7 (полипептидная последовательность BoNT/XA [LH_NX-H_CA] с петлей

активации C1)

MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIKNIWIVPERYNF
 TNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPEKDEFQGVKVLERIKSKPEGEKLELISSSI
 PLPLVSNALTLSDNETIAYQENNNIVSNLQANLVYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEG
 TLSEVSFSFYLPFDESIGNYRSLVNIWNKFKREFAPDPASTLMHEL VHVTHNLYGIS
 NRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKIIEAKNNYTTLISERLNT
 VTVENDLLKYIKNKIPVQGRGLGNFKLDTAEFEKKNLTLFVLNESNLAQRFSILVRKHYL
 KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGLLESSYFEKIESNALRAFIKICHKAI
 DGRSLYNKTLDCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNY
 DFTEANSIPSISQQNILERNEEL YEPINSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRV
 ELTDSVDEALSNPNKVYSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFSETGKIDVID
 KSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLEVIGGELAR
 EQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWWGTIHLQINRLAHTYKALSRQANAIKM
 NMEFQLANYKGNIDDKAKIKNAISETTEILLNKSVQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPK
 VQDNLKNFDLETKKTLDFIKKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPSEFDDL
 INQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTSDINIGSDIEIINTSILNLRYESNHLIDLSRYA
 SKINIGSKVNFDPIDKNQIQLFNLESSKIEVILKNAIVYNSMYENFSTSFWIRIPKYFNSISL
 NNEYTIINCMENNSGWK VSLNYGEIHWTLQDTQEIKQRVVFVFKYSQMINISDYINRWIFVTI
 TNNRLNNSKIYINGRLIDQKPISNLGNIHASNNIMFKLDGCRDTHR YIWIKYFNLFDKELN
 EKEIKDLYDNQSNNGILKDFWGDYLYQYDKPYMLNLYDPNKYVDVNNV GIRGYMYLK
 GPRGSVMTTNIYLNSSL YRGTKFIKKYASGNKDNIVRNDRVYINVVVKKEYRLATN
 ASQAGVEKILSALEIPDVGNLSQVVVMKSKNDQGITNKCKMNLQDNNNGNDIGFIGFHQF
 NNIACL VASNWYNRQIERSRRTLGCSEWEIFVDDGWERPLHHHHHHHHHHH

SEQ ID NO: 8 (нуклеотидная последовательность BoNT/XB [LH_NX-H_CB] с петлей

активации C1)

ATGAAACTGGAAATCAACAAATCAACTACAACGATCCGATCGATGGCATT
 ATGTTATTACCATGCGTCCGCCTCGTCATAGCGATAAAATCAATAAAGGTAAAGGTC
 CGTTCAAAGCCTTTCAGGTGATTA AAAACATTTGGATTGTGCCGGAACGCTACAAC
 TTACCAATAATACCAACGATCTGAACATTCGAGCGAACCGATTATGGAAGCAGAT
 GCCATTTATAACCCGAACTATCTGAATACCCGAGCGAAAAAGATGAATTTCTGCAG
 GGTGTTATCAAAGTGCTGGAACGCATTA AAAGCAAACCGGAAGGTGAAAACTGCT
 GGAACGATGATGACAGCAGCATTCCGCTGCCGCTGGTTAGCAATGGTGCACCTGACCT
 GAGCGATAATGAAACCATTCATATCAAGAGAACAACAACATTGTGAGCAATCTGC
 AGGCAAACCTGGTTATTTATGGTCCGGTCTGATATTGCAAATAATGCAACCTATG
 GTCTGTATAGACCCCGATTAGTAATGGTGAAGGTACACTGAGCGAAGTTAGCTTTA
 GCCCGTTTTATCTGAAACCGTTTGATGAAAGCTATGGCAATTATCGTAGCCTGGTGA
 ATATCGTGAACAAATTCGTGAAACGTGAATTTGCACCTGATCCGGCAAGCACCTGA
 TGCATGAACTGGTTCATGTTACCCATAATCTGTATGGTATTAGCAACCGCAACTTCT
 ACTATAACTTTGACACCGGCAAAATGAAACCGCCGTCAGCAGAATAGCCTGATTT
 TTGAAGAACTGCTGACCTTTGGTGGCATTGATAGCAAAGCAATTAGCAGCCTGATCA

TCAAGAAAATTATCGAAACCGCCAAGAACAACCTATACCACGCTGATTAGCGAACGC
CTGAATACCGTTACCGTTGAAAATGATCTGCTGAAATATATCAAAAACAAAATCCCG
GTTACGGGTCGTCTGGGTAACCTTAAACTGGATACCGCAGAATTCGAGAAAAAGCT
GAATACCATTCTGTTTGTGCTGAACGAAAGCAATCTGGCACAGCGTTTTAGCATTCT
GGTTCGTAACATTACCTGAAAGAACGTCGGATTGATCCGATTTATGTGAACATTCT
GGATGACAATAGCTACAGCACCCCTGGAAGGTTTTAACATTAGCAGTCAGGGTAGCA
ATGATTTTCAGGGCCAGCTGCTGGAAAGCAGCTATTTTGAAAAAATTGAATCCAATG
CGCTGCGTGCCTTTATCAAAAATTTGTCATAAAGCCATTGATGGTTCGAGCCTGTATA
ACAAAACCCTGGATTGTATTGAAGTGAAAAACAAAGACCTGTTCTGATTAGCAAT
AAAGATAGCCTGAACGATATCAACCTGAGCGAAGAAAAAATCAAACCGGAAACCA
CCGTGTTCTTCAAAGATAAACTGCCTCCGCAGGATATTACCCTGAGCAATTATGATT
TTACCGAAGCCAATAGCATTCCGAGCATTAGCCAGCAGAACATTCTGGAACGTAAT
GAAGAACTGTATGAACCGATTTCGCAATAGCCTGTTTGAAATCAAACCATCTATGTG
GATAAGCTGACCACCTTTCATTTTCTGGAAGCCAGAATATTGATGAGAGCATTGAT
AGCAGCAAAAATTCGTGTTGAACTGACCGATAGCGTTGATGAAGCACTGAGCAATCC
GAATAAAGTTTATAGCCCGTTCAAGAACATGAGCAACACCATTAATAGCATTGAAA
CCGGTATTACCAGCACCTACATCTTTTATCAGTGGCTGCGTAGCATCGTGAAAGATT
TTAGTGATGAAACCGGCAAAATCGACGTGATTGATAAAAGCAGCGATACCCTGGCC
ATTGTTCCGTATATTGGTCCGCTGCTGAATATTGGTAATGATATTTCGTCATGGCGATT
TTGTGGGTGCAATTGAACTGGCAGGCATTACCGCACTGCTGGAATATGTTCCGGAAT
TTACCATTCCGATTCTGGTTGGTCTGGAAGTTATTGGTGGCGAACTGGCACGTGAAC
AGGTTGAAGCAATTGTTAATAATGCCCTGGATAAACGCGATCAGAAATGGGCAGAA
GTTTACAATATTACCAAAGCACAGTGGTGGGGCACCATTCATTTACAGATTAATACC
CGTCTGGCCCATACCTATAAAGCCCTGAGCCGTCAGGCAAATGCCATTAATGAAT
ATGGAATTTTCAGCTGGCCAACTACAAAGGCAACATTGATGATAAAGCCAAGATCAA
AAACGCCATCAGCGAAACCGAAATTCGCTGAACAAAAGCGTTGAACAGGCCATGA
AAAACACCGAGAAATTCATGATTAAACTGAGCAACAGCTACCTGACCAAAGAAATG
ATTCCGAAAGTTCAGGACAACCTGAAAACTTTGATCTGGAAACCAAAAAGACCCT
GGACAAGTTCATCAAAGAGAAAGAAATATCCTGGGCACCAATCTGAGCAGCAGCC
TGCGTCGTAAGTTAGCATTCTGCTGAATAAAAACATTGCCTTCGACATCAACGATA
TCCCGTTTAGCGAATTTGATGATCTGATCAACCAGTACAAAACGAGATCGAAGATT
ATGAAGTGCTGAATCTGGGTGCAGAAGATGGCAAAATCAAAGATCTGAGCGGTACA
ACCAGCGATATTAACATTGGTAGCGATATCGAAATCCTGAACAACATTATTCTGAAC
CTGCGCTATAAAGATAACAACCTGATTGATCTGAGTGGCTATGGTGCAAAAGTTGA
AGTTTATGATGGTGTGGAACCTGAACGACAAAAACCAGTTCAAACTGACCAGCAGCG
CAAATTCAAAAATTCGCGTTACCCAGAACCAGAACATCATTTTTAACAGCGTGTTC
TGGATTTACAGCGTGAGCTTTTGGATTTCGATTCCGAAATATAAGAACGACGGCATCC
AGAACTATATCCACAATGAATATAACCATCATCAACTGCATGAAGAATAACAGCGGT
TGAAAATTAGCATCCGTGGCAATCGTATTATTTGGACCCTGATCGATATTAATGGC
AAAACCAAGAGCGTGTTTTTTCAGTATAACATCCGTGAAGATATCAGCGAATACAT

CAACCGTTGGTTTTTTGTGACCATTACCAACAATCTGAACAACGCCAAAATCTACAT
 TAACGGCAAACACTGGAAAGCAACACCGATATCAAAGATATTCGTGAAGTGATTGCCA
 ACGGCGAGATTATCTTTAAACTGGATGGTGATATTGATCGCACCCAGTTTATTTGGA
 TGAAATACTTCAGCATCTTCAACACCGAACTGAGCCAGAGCAATATTGAAGAACGC
 TATAAAATCCAGAGCTACAGCGAGTATCTGAAAGACTTTTGGGGTAATCCGCTGATG
 TACAACAAAGAATACTACATGTTTAATGCCGGTAACAAAAACAGCTATATCAAACCT
 GAAAAAGGATAGTCCGGTGGGTGAAATTCTGACCCGTAGCAAATATAACCAGAATA
 GCAAGTATATCAACTATCGCGATCTGTACATCGGCGAGAAATTTATCATTGCTCGTA
 AAAGCAACTCCCAGAGCATTAAACGATGATATTGTGCGCAAAGAGGATTACATCTAC
 CTGGATTTTTTCAACCTGAATCAAGAGTGGCGTGTGTACACCTATAAGTACTTCAAA
 AAAGAAGAAATGAAACTGTTTCTGGCACCGATCTATGATAGCGACGAATTTTACAA
 TACCATTAGATTAAAGAATATGATGAACAGCCGACCTATAGCTGTCAGCTGCTGTT
 TAAAAAGGATGAAGAAAGCACGGATGAAATTGGCCTGATTGGTATCCATCGTTTTT
 ATGAAAGCGGCATCGTGTTCGAAGAGTACAAAGATTATTTCTGCATCAGCAAATGG
 TATCTTAAAGAGGTGAAACGCAAACCGTATAATCTGAAACTGGGTTGCAATTGGCA
 GTTCATCCCGAAAGATGAAGGTTGGACCGAACATCATCACCACCATCACCATCATCA
 TCACTGA

SEQ ID NO: 9 (полипептидная последовательность BoNT/XB [LH_NX-H_CB] с петлей активации C1)

MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSKINKGKGPFKAFQVIKNIWIVPERYNF
 TNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTNPSEKDEFLLQGVKVLERIKSKPEGEKLELISSSI
 PLPLVSNALTLSDNETIAYQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEG
 TLSEVSFSFYLPFDESIGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHELHVHVTNLYGIS
 NNFYFNFDTKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAIISSLIKKIIEAKNNYTTLISERLNT
 VTVENDLLKYIKNKIPVQRLGNFKLDTAEFEKKNLTLFVLNESNLAQRFSILVRKHYL
 KERPIDPIYVNILDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSYFEKIESNALRAFIKICHKAI
 DGRSLYNKTLDCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNY
 DFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRV
 ELTDSVDEALSNPNKVYSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFSDETGKIDVID
 KSSDTLAIVPYIGPLLNIENDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLVIGGELAR
 EQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAICKM
 NMEFQLANYKGNIDDKAKIKNAISETIILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYTKEMIPK
 VQDNLKNFDLETKKTLDFIKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPSEFDDL
 INQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTSDINIGSDIEILNNIILNRYKDNNLIDLSGY
 GAKVEVYDGVELNDKNQFKLTSSANSKIRVTQNQNIIFNSVFLDFSVFWIRIPKYKNDG
 IQNYIHNEYTIINCMKNNSGWKISIRGNRIIWLIDINGKTKSVFFEYNIREDISEYINRWF
 VTITNNLNNAKIYINGKLESNTDIKDIREVIANGEIIFKLDGIDRTQFIWMKYFSIFNTELS
 QSNIEERYKIQSYSEYKDFWGNPLMYNKEYYMFNAGNKNSYIKLKKDSPVGEILTRSK
 YNQNSKYINYRDLYIGEKFIIRKSNSSQINDDIVRKEDYIYLDFFNLNQEWRVYTYKYF
 KKEEMKFLAPIYDSDEFYNTIQIKEYDEQPTYSCQLLFKKDEESTDEIGLIGIHRFYESGI

VFEEYKDYFCISKWYLKEVKRKPYNLKLGCNWQFIPKDEGWTEHHHHHHHHHH

SEQ ID NO: 10 (нуклеотидная последовательность ВоNT/E с петлей активации C1)

atgccgaaaatcaactcttcaactacaacgcccggftaacgaccgtaccatcctgtatatcaaacgggtggtgccaggagtt
ctacaaatcttcaacatcatgaaaaacatctggatcatcccggaacgtaacgftatcgggtaccaccccgaggactccaccgcccgcacctc
tctgaaaaacgggtgactcttctactacgacccgaactcctccagctcgtacgaagaaaaagaccgttctgaaaatcgtfaccaaaatcttc
aacggtatcaacaacaactcgtctggtggtatcctgctggaagaactgtctaaagtaaccggtacctgggtaacgacaacccccggaca
accagttccacatcggtgacgcttctgctggtgaaatcaaatctctaacggtctcaggacatcctgctgccgaacgftatcatcgggtgct
gaaccggacgttccgaaaccaactcttcaacatctctcgtgtaacaactacatgccgttaaccacggttccggttctatcgtatcgtfacc
ttctcctccggaataactcttccggttcaacgacaacagcatgaacgagttcatccaggaccggctctgaccctgatgcaccaactgatctattc
tctgcacggctctgacgggtcctaaagggtatcaccaccaataaccatcaccagaacagaaccggtgatcaccacaactccgtggtacc
aacatcgagaggttctgaccttccggtggtacccgactgaacatcatcactcgtcagcttaacgacatctacaccaactcgtggtgac
tacaataaaatcgcttcaactgtctaaagttcaggttctaacccgctgctgaaccggtacaagacgtttcgaagtaataacggtctgga
caagacgcttctggtatctactctgtaacatcaaaaattcaacgacatctcaaaaaactgtactcttaccgagttcgacctggcgacca
aatccaggttaaatccgctcagacctacatcggtcagtaacaacttcaactgtctaacctgctgaacgactctatcaaacatctctgaa
ggftacaacatcaacaactgaaagtaactccggtggtcagaacgtaacctgaaccgctatcatcaccggatcaccggctcgtggtct
ggftaaaaaatcatccggttcTGCCACAAAGCGATTGATGGCCGCTCTCTCTATAACAAAACGCT
GGATTGCatcgaaatcaacaacggtgaactgttctcgttctctgaaaactcttacaacgacgacaacatcaacccccgaaagaa
atcgacgacaccgttaccttaacaacaactcgaaaacgacctggaccagggtatcctgaactcaactctgaatctgctccgggtctgct
gacgaaaaactgaacctgacctccagaacgacgcttacatccgaatacactctaacggtacctctgacatcgaacagcagcagctga
acgaaactgaacgcttctctactcctgacgctcagaaggtccggaaggtgaaaacaacgtaacctgacctctctatcagaccgctctgct
ggaaacagccgaaaatctacactctctctctctgagttcatcaaacgtaacaacaccggttcaggctgctctgttctggttctgattcagca
gggtctggtgactcaccaccgaagctaacagaatctaccggtgacaaaatcgtgacatctctatcgttctcctgacatcggctggtctc
tgaacatcggtaacgaagctcagaaggttaactcaaaagacgctctggaactgctgggtgctggtatcctgctgggtcgaaccggaact
gctgatccgacctcctggtttccacatcaaatcttctcgggttctctgacaacaaaaaaagttatcaagctatcaacaacgctctga
aagaacgtgacgaaaaatggaagaagttactcttcatcgttctcaactggatgacaaaaatcaacaccagttcaacaacgtaaaagaa
agatgtaccaggtctccagaaccggttaacgctatcaaaacatcctgaatctaaatacaactcttacacctggaagaaaaaacgaa
ctgaccaacaatacagatcaaacagatcgaaaacgaaactgaaccagaagttctatcgtatgaacaacatcgaccgttctcgtaccga
atctctatctctacgtgatgaaactcatcaacgaagtaaaatcaacaactgcgtgaatacgcgaaaacgtaaaacctacctgctgaaact
acatcatccagcaggttctatctgggtgaaatcagcaggaactgaactctatggtfaccgacaccctgaacaactctatccggttcaact
gtcttctacaccgacgacaaaatctGATCTCTTACTTCAACAAATTCTTTAAAcgATTAAGAGTTC
ATCGGTTctgaatATGCGGTACAAAAATGATAAAAtatGTCGATACTTCTGGATATgatAGCA
ATATCAACATTAACGGCGACGTGTATAAATATccgACAAATAAAAACCAGTTTGGGA
TATATAACGACAAGctgTCGGAGGTCAATattTCTCAAAACGACtatATCattTACGATAATa
aaTATAAAAACCTTAGCATTAGTtttGGGTTcgtATACCTAATtatGACAATaaaattGTAAAT
GTGAATAACGAGTATACCATTATAAACTGTATGcgcGACAATAACAGTGGTTGGAAG
GTATCGctgAACATAATGAGATTATCTGGACCctgcagGATAATgcaGGTATAAACCAGA
AACTGGCTTTTAACTATGGAACGCAAAATGGGATCTCAGATTACATTaataaaTGGattttt
GTTaccATTACGAACGATcgcTTAGGCGACTCAAACTTTATATTAATggcAAATctgATAG
ATCAGAAATCAATCTTAAATTTGGGCAATATTCATGTCTCTgatAACATCTTGTTCAG
ATCGTTAATTGCAGTTACACTcgtTATATTGGCATTCTGTTACTTTAATAATCTTCgataaaG

AActgGACGAGACGGAAATCagACTCTGTATTCAAACGAGCCCAATACTAATATATTG
 AAAGATTTTTGGGGTAACTATCTTTTATATGATAAAGAATACTATCTCCTGaatGTATT
 GAAGCCAAACAATTTTCATAGATAGACGCAAGGATAGCACATTAAGTATCAACAATA
 TCAGATCTACTATActgtaGCAAATCGCCTcTACTCCggtATTAAAGTGAAGATTcagCGG
 GTTAATAACTCCAGTACCAATGATAATCTGGTCCGTAAGAACGATCAGGTATACATC
 aatTTCGTCGCGAGCAAAACTcatCTCTTCCCGCTTACGCCgatACAGCTACGACAAACA
 AGGAAAAAACATAAAAAATTTCCAGCTCCGGAACAGATTCAATCAAGTAGTTGTA
 ATGAACTCTGTGGGTaatAATTGTACGATGAACTTTaagAATAACAATGGGAACAATatt
 GGACTTTTGGGCTTcAAAGCCGACACAGTGGTGGCGTCCACCTGGTATTACACGcacA
 TGcggGACCATACGAATTCGAACGGTTGCTTCTGGAACCTTATCTCGGAagaCACGGG
 TGGCAAGAAAAA

SEQ ID NO: 11 (полипептидная последовательность BoNT/E с петлей активации C1)

MPKINSFNYPVNDRTILYIKPGGCQEFYKSFNIMKNIWIIPERNVIGTTPQDFHP
 PTLKNGDSSYYDPNYLQSDEEKDRFLKIVTKIFNRINNNLSGILLEELSKANPYLGND
 NTPDNQFHIGDASAVEIKFSNGSQDILLPNVIMGAEPDLFETNSSNISLRNNYMPSNHGF
 GSIAIVTFSPEYSFRFNDNSMNEFIQDPALTLMHQLIYSLHGLYGAKGITTKYTITQKQNP
 LITNIRGTNIEEFLTFGGTDLNIITSAQSNDIYTNLLADYKKIASKLSKVQVSNPLNPKYD
 VFEAKYGLDKDASGIYSVNINKFNDIFKKLYSFTEFDLTKFQVKCRQTYIGQYKYFKLS
 NLLNDSIYNISEGYNNLKVNFRGQANLNPRITPITGRGLVKKIIRFCHKAIIDGRSLYN
KTLDCIEINNGELFFVASENSYNDDNINTPKCIDDTVTSNNNYENDLDQVILNFNSESAPG
 LSDEKLNLTIQNDAYIPKYDSNGTSDIEQHDVNELNVFFYLDAQVPEGENNVLTSID
 TALLEQPKIYTFSSFINNVNKPVQAALFVSWIQQVLVDFTEANQKSTVDKIADISIVV
 PYIGLALNIGNEAQKGNFKDALELLGAGILLEFEPELLIPTILVFTIKSFLGSSDNKKNKVIK
 AINNALKERDEKWKEVYSFIVSNWMTKINTQFNKRKEQMYQALQNQVNAIKTPIESKY
 NSYTLLEEKNELTNKYDIKQIENELNQKVSIAMNNIDRFLTESSISYLMKLINEVKINKLRE
 YDENVKTYLLNYIIQHGSILGESQELNSMVTDTLNSIPFKLSSYTDKILISYFNKFFK
 RIKSSSVLNMRYKNDKYVDTSGYDSNININGDVYKYPTNKNQFGIYNDKLSEVNISQND
 YIIYDNKYKNFSISFWVRIPNYDNKIVNVNNEYTIINCMRDNNSGWKVSLSLHNHEIHWTLQ
 DNAGINQKLAFNNGANGISDYINKWIFVTITNDRLGDSKLYINGNLIDQKSILNLGNIH
 VSDNILFKIVNCSYTRYIGIRYFNIFDKELDETEIQTLYSNEPNTNILKDFWGNLYLLYDKE
 YLLNVLKPNNFIDRRKDSTLSINNIRSTILLANRLYSGIKVKIQRVNNSSTNDNLVRKND
 QVYINFAVASKTHLFLYADTATTNKEKTIKISSSGNRFNQVVMNSVGNCTMNFKN
 NGNNIGLLGFKADTVVASTWYYTHMRDHTNSNGCFWNFISEEHGWQEK

SEQ ID NO: 12 (нуклеотидная последовательность BoNT/A1C1 с петлей активации

C1)

ATGCCATTCGTCAACAAGCAATTCAACTACAAAGACCCAGTCAACGGCGTCG
 ACATCGCATACATCAAGATTCCGAACGCCGGTCAAATGCAGCCGGTTAAGGCTTTTA
 AGATCCACAACAAGATTTGGGTTATCCCGGAGCGTGACACCTCACGAACCCGGAA
 GAAGGCGATCTGAACCCGCCACCGGAAGCGAAGCAAGTCCCTGTCAGCTACTACGA
 TTCGACGTACCTGAGCACGGATAACGAAAAAGATAACTACCTGAAAGGTGTGACCA

AGCTGTTCTGAACGTATCTACAGCACGGATCTGGGTCGCATGCTGCTGACTAGCATTG
TTCGCGGTATCCCGTTCTGGGGTGGTAGCACGATTGACACCGAACTGAAGGTTATCG
ACACTAACTGCATTAACGTTATTCAACCGGATGGTAGCTATCGTAGCGAAGAGCTGA
ATCTGGTCATCATTGGCCCGAGCGCAGACATTATCCAATTCGAGTGCAAGAGCTTTG
GTCACGAGGTTCTGAATCTGACCCGCAATGGCTATGGTAGCACCCAGTACATTCGTT
TTTCGCCGGATTTTACCTTCGGCTTTGAAGAGAGCCTGGAGGTTGATACCAATCCGT
TGCTGGGTGCGGGCAAATTCGCTACCGATCCGGCTGTCACGCTGGCCCATgAACTGA
TCcACGCAGGCCACCGCTGTACGGCATTGCCATCAACCCAAACCGTGTGTTCAAGG
TTAATACGAATGCATACTACGAGATGAGCGGCCTGGAAGTCAGCTTCGAAGAACTG
CGCACCTTCGGTGGCCATGACGCTAAATTCATTGACAGCTTGCAAGAGAATGAGTTC
CGTCTGTACTACTATAACAAATTCAAAGACATTGCAAGCACGTTGAACAAGGCCAA
AAGCATCGTTGGTACTACCGCGTCGTTGCAGTATATGAAGAATGTGTTTAAAGAGAA
GTACCTGCTGTCCGAGGATACCTCCGGCAAGTTTAGCGTTGATAAGCTGAAGTTTGA
CAAAGTGTACAAGATGCTGACCGAGATTTACACCGAGGACAACCTTTGTGAAATTTCT
CAAAGTGTGAATCGTAAAACCTATCTGAATTTTGACAAAGCGGTTTTCAAGATTAA
CATCGTGCCGAAGGTGAACTACACCATCTATGACGGTTTTAACCTGCGTAACACCAA
CCTGGCGGGCAACTTTAACGGTCAGAATACGGAAATCAACAACATGAATTTACGA
AGTTGAAGAACTTCACGGGTCTGTTGAGTTCATAAGCTGCTGTGCCACAAAGCGA
TTGATGGCCGCTCTCTCTATAACAAAACGCTGGATTGCATTAAGGTAAACAATTGGG
ATCTGTTCTTTTCGCCATCCGAAGATAATTTTACCAACGACCTGAACAAGGGTGAAG
AAATCACAGCGATACGAATATTGAAGCAGCGGAAGAGAATATCAGCCTGGATCTG
ATCCAGCAGTACTATCTGACCTTTAACTTCGACAATGAACCGGAGAACATTAGCATT
GAGAATCTGAGCAGCGACATTATCGGTCAGCTGGAAGTATGCCGAATATCGAACG
TTCCCGAACGGCAAAAAGTACGAGCTGGACAAGTACACTATGTTCCATTACCTGCG
TGCACAGGAGTTTGAACACGGTAAAAGCCGTATCGCGCTGACCAACAGCGTTAACG
AGGCCCTGCTGAACCCGAGCCGTGTCTATACCTTCTCAGCAGCGACTATGTAAAGA
AAGTGAACAAAGCCACTGAGGCCGCGATGTTTCTGGGCTGGGTGGAACAGCTGGTA
TATGACTTCACGGACGAGACGAGCGAAGTGAGCACTACCGACAAAATTGCTGATAT
TACCATCATTATCCCGTATATTGGTCCGGCACTGAACATTGGCAACATGCTGTACAA
AGACGATTTTGTGGGTGCCCTGATCTTCTCCGGTGCCGTGATTCTGCTGGAGTTCATT
CCGGAGATTGCGATCCCGGTGTTGGGTACCTTCGCGCTGGTGTCTACATCGCGAAT
AAGGTTCTGACGGTTCAGACCATCGATAACGCGCTGTCGAAACGTAATGAAAAATG
GGACGAGGTTTACAAATACATTGTTACGAATTGGCTGGCGAAAGTCAATACCCAGA
TCGACCTGATCCGTAAGAAAATGAAAGAGGCGCTGGAGAATCAGGCGGAGGCCACC
AAAGCAATTATCAACTACCAATACAACCAGTACACGGAAGAAGAGAAGAATAACAT
TAACTTCAATATCGATGATTTGAGCAGCAAGCTGAATGAATCTATCAACAAAGCGAT
GATCAATATCAACAAGTTTTTGAATCAGTGTAGCGTTTCGTACCTGATGAATAGCAT
GATTCGATGCGTCAAACGTCTGGAGGACTTCGACGCCAGCCTGAAAGATGCGTT
GCTGAAATACATTTACGACAATCGTGGTACGCTGATTGGCCAAGTTGACCGCTTGAA
AGACAAAGTTAACAATACCCTGAGCACCGACATCCCATTTCAACTGAGCAAGTATG

TTGATAATCAACGTCTGTTGAGCACTTTCACCGAGTATATCAAAAACATTAATGACA
 GCAAAATTCTGAGCCTGCAGAATCGTAAGAATACGCTGGTAGATACCAGTGGATAT
 AATGCGGAAGTCTCAGAAGAGGGTGTGTACAGCTGAACCCGATCTTTCCGTTCTGA
 CTTTAAACTGGGGTCTAGTGGTGAAGATCGCGGTAAAGTGATCGTTACCCAAAACG
 AGAACATTGTGTATAACAGCATGTACGAGAGTTTCTCAATTTCTTTCTGGATTTCGA
 TCAATAAATGGGTTTCTAATTTGCCTGGCTATACCATCATTGATAGCGTCAAAAACA
 ACTCGGGCTGGTTCGATTGGCATTATTAGCAACTTCTGGTGTTTACCCTGAAACAGA
 ATGAGGATTTCGGAACAGAGCATTAACTTCTCCTACGACATCAGCAACAATGCACCA
 GGGTATAACAAATGGTTCTTCGTAACGGTGACGAACAATATGATGGGCAATATGAA
 AATCTACATTAACGGGAAACTTATCGACACCATTAAAGTGAAAGAGCTTACTGGGA
 TCAATTTTAGTAAAACCATTACCTTTGAGATCAACAAAATTCCGGACACGGGTCTGA
 TTACCTCCGATTTCGGATAATATCAATATGTGGATTTCGCGACTTTTATATCTTCGCCAA
 AGAAGTTGATGGCAAAGATATCAACATTTTGTTAATCCCTGCAGTATACCAATGT
 CGTTAAGGACTATTGGGGCAATGATCTCCGCTACAATAAAGAATACTACATGGTTAA
 CATCGACTATCTCAATCGCTACATGTATGCTAACTCGCGTCAAATTGTGTTTAAACAC
 ACGTCGTAACAACAACGATTTTAAACGAAGGTTATAAAAATCATTATCAAACGGATCC
 GCGGCAATACGAACGATACTCGTGTTCTGGCGGTGACATTCTGTATTTTCGACATGA
 CGATTAATAATAAAGCGTACAATCTGTTTCATGAAGAACGAAACCATGTACGCCGAT
 AACCATTCCACTGAAGATATCTACGCAATCGGACTTCGCGAACAGACCAAAGACAT
 TAACGACAACATCATCTTTCAGATTCAACCGATGAATAATACCTACTACTATGCCTC
 CCAGATCTTCAAAGTAATTTCAACGGCGAAAACATTTTCAGGCATTGCTCAATCGG
 CACTTATCGGTTCCGGTTAGGTGGTATTGGTATCGTCACAACACTACCTTGTTCCACA
 GTGAAACAAGGCAACTATGCATCGCTCTTAGAAAGCACATCTACGCATTGGGGTTTT
 GTGCCAGTCAGTGAATAA

SEQ ID NO: 13 (полипептидная последовательность BoNT/A1C1 с петлей активации C1)

MPFVNKQFNYKDPVNGVDIAIYKIPNAGQMOPVKAFKIHNKIWWVIPERDFTNPE
 EGDLNPPPEAKQVPVSYDSTYLDNEKDNLYLKGVTCLFERIYSTDLGRMLLTSIVRGI
 PFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGYSRSEELNLVIIGPSADIIQFECKSFGHEVLNLR
 NGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESELDVDTNPLLGAGKFAVDPAVTLAHELIAHGRLYGIAIN
 PNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSEELRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASL
 NKAKSIVGTTASLQYMKNVFKYLLSEDTSGKFSVDKLFKDKLYKMLTEIYTEDNFV
 KFFKVLNRKTYLNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTNINMNFT
 KLKNFTGLFEFYKLLCHKAIIDGRSLYNKTLDCIKVNNWDLFFSPSEDNFTNDLNKGEEIT
 SDTNIEAAEENISLDLIQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIGQLELMPNIERFPNGKKYEL
 DKYTMFHYLRAQEFHKGKSRIALTNSVNEALLNPSRVYTFSSDYVKKVNKATEAAMF
 LGWVEQLVYDFDTESEVSTTDKIADITIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILL
 EFIPEIAIPVLGTFALVSYIANKVLTVQTIDNALSQRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQI
 DLIRKKMKEALENQAEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININ
 KFLNQCSVSYLMNSMIPYGVKRLDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNN

TLSTDIPFQLSKYVDNQRLSTFTEYIKNINDSKILSLQNRKNTLVDTSGYNAEVSEEGDV
 QLNPIFPDFKLGSSGEDRGKVIVTQENENIVNSMYESFSISFWIRINKWVSNLPGYTIIDS
 VKNNSGWSIGIISNFLVFTLKQNEDESEQSINFSYDISNNAPGYNKWFFVTVNNMMGNM
 KIYINGKLIDTIKVKELTGINFSKTITFEINKIPDTGLITSDSDNINMWIRDFYIFAKELDGK
 DINILFNSLQYTNVVKDYWGNDLRYNKEYYMNIDYLNRYMYANSRQIVFNTRRNNN
 DFNEGYKIIIKRIRGNTNDTRVRGGDILYFDMTINNKAYNLFMKNETMYADNHSTEDIY
 AIGLREQTKDINDNIIFQIQPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGICSIGTYRFLGGDWYR
 HNYLVPTVKQGNYSALLESTSTHWGFVPVSE

SEQ ID NO: 14 (нуклеотидная последовательность BoNT/C1(0) (эндогенативная))

ATGCCGATCACGATTAATAATTTCAACTATAGCGATCCGGTGGACAATAAGA
 ATATTCTGTATCTGGATACTCATCTGAATACGCTGGCTAACGAACCGGAGAAAGCGT
 TCCGCATCACAGGCAACATCTGGGTTATTTCCCGATCGCTTTTCACGCAACAGCAACC
 CTAATCTGAACAAACCTCCTCGTGTCACCAGTCCTAAATCCGGTTATTACGACCCAA
 ACTATCTGAGTACGGATAGCGATAAAGATCCCTTTCTGAAAGAGATCATTAAGCTGT
 TCAAACGCATTAACCTCGCGAAATTGGGGAAGAGCTGATCTATCGGCTTTTCGACAG
 ATATCCCGTTCCAGGTAACAATAATACCCCGATTAATACTTTGACTTTGATGTTG
 ATTTCAATTCTGTGGATGTGAAAACCGCTCAAGGCAATAATTGGGTGAAAACCTGGT
 AGCATTAAACCGAGTGTAATTATCACAGGTCCCGTGAGAACATCATCGACCCGGA
 AACCTCTACCTTCAAGCTGACGAACAACACGTTTGCTGCACAGGAAGGGTTTGGTGC
 CCTGTCAATCATTTCCATCTCACCGCGTTTCATGTTAACCTACTCCAATGCCACAAAT
 GATGTTGGCGAAGGACGTTTTAGCAAATCAGAATTTTGCATGGACCAATTCTCATT
 CTGATGggCacGCTGAACaATGCGATGCACAACCTTGATGGCATTGCTATTCCAAACG
 ATCAAACCATAGCTCCGTTACCAGTAATATCTTCTATAGCCAGTATAATGTCAAAT
 TGGAGTATGCCGAAATTTACGCCTTTGGAGGCCCGACCATTGACCTGATTCCGAAAT
 CTGCACGCAAATACTTCGAAGAAAAGGCGTTAGATTACTATCGCAGCATCGCGAAA
 CGCCTGAACTCGATTACCACGGCCAATCCGTCGTCGTTCAACAAATACATTGGTGAA
 TATAAACAGAACTGATTTCGAAATATCGGTTTGTCTAGAAAAGCTCTGGTGAAGTG
 ACTGTAAACCGCAACAAATTTGTGCAACTCTACAACGAGTTGACCCAAATCTTTACC
 GAGTTTAACTACGCAAAGATCTATAACGTACAGAACCGCAAGATTTATCTTAGCAAT
 GTATACACACCGGTTACTGCGAACATCTTAGACGACAATGTGTATGATATTCAGAAT
 GGCTTTAACATCCCGAAATCAAATCTGAACGTTCTGTTTATGGGCCAGAACCTGAGT
 CGTAATCCAGCACTGCGTAAAGTGAACCCGAAAATATGCTCTACTTGTTTACCAAA
 TTTTGCCACAAAGCGATTGATGGCCGCTCTCTCTATAACAAAACGCTGGATTGTCGT
 GAGTTACTTGTGAAGAACACTGATTTACCGTTTATTGGGGATATCTCCGACGTGAAA
 ACCGATATCTTCTGCGCAAAGACATTAATGAAGAAACGGAAGTCATCTATTACCCC
 GACAATGTGAGCGTTGATCAGGTCATTTTATCGAAGAACACCTCCGAACATGGTCAG
 TTGGATTGCTGTACCCTAGCATTGACTCGGAGAGTGAAATCCTTCCGGGCGAAAAT
 CAAGTGTTTTACGACAACCGTACCCAAAATGTTGATTATTTGAATTCTTATTACTACC
 TGGAATCTCAGAAATTGAGCGACAATGTGGAAGATTTACGTTACACGCTCCATTG
 AGGAAGCGCTGGATAATAGCGCGAAAGTGTATACGTATTTCCCTACCTTGGCGAAT

AAAGTAAATGCTGGTGTCCAGGGAGGCTTATTTCTGATGTGGGCGAATGATGTGGTA
GAAGATTTTACGACCAATATTTTGCCTAAGGACACCTTAGATAAAAATTAGCGATGTT
AGCGCCATCATCCCCTATATTGGCCCAGCACTGAATATCTCGAACTCTGTGCGTCGC
GGAAACTTCACCGAAGCATTGCGGTGACCGGGGTTACTATTCTGTTGGAAGCCTTT
CCGGAGTTTACTATTCCGGCGCTGGGTGCGTTTGTGATTTATTCGAAAGTACAAGAA
CGCAATGAAATTATCAAAACCATCGATAATTGCCTGGAACAACGCATTAACGCTG
GAAGGATTCTTATGAATGGATGATGGGCACCTGGTTATCCCGTATTATCACACAGTT
TAACAACATCTCGTATCAGATGTACGATTCCTGAACCTACCAAGCAGGGGCGATCA
AAGCCAAGATCGACTTAGAATAACAAGAAATATTCAGGTAGCGATAAAGAGAATATT
AAAAGCCAGTTGAAAACCTGAAGAACTCTCTGGATGTCAAAATTTTCAGAGGCTAT
GAACAACATTAACAAATTTATCCGCGAATGTAGCGTCACGTATCTGTTAAAAACAT
GCTCCCAGAAAGTGATTGATGAGCTCAACGAGTTTGATCGCAACACAAAGGCCAAAC
TGATTAACCTGATTGATAGTCACAATATTATTTAGTCGGTGAAGTTGACAAGCTGA
AGGCTAAGGTCAATAACAGCTTTCAGAACACTATTCCGTTTAATATTTCTCCTATAC
GAACAATAGTCTGCTGAAAGACATTATCAACGAATACTTCAACAATATTAATGACA
GCAAAATTCTGAGCCTGCAGAATCGTAAGAATACGCTGGTAGATACCAGTGGATAT
AATGCGGAAGTCTCAGAAGAGGGTGATGTACAGCTGAACCCGATCTTCCGTTTGA
CTTAAACTGGGGTCTAGTGGTGAAGATCGCGGTAAAGTGATCGTTACCCAAAACG
AGAACATTGTGTATAACAGCATGTACGAGAGTTTCTCAATTTCTTCTGGATTTCGCA
TCAATAAATGGGTTTCTAATTTGCCTGGCTATACCATCATTGATAGCGTCAAAAACA
ACTCGGGCTGGTTCGATTGGCATTATTAGCAACTTTCTGGTGTTTACCCTGAAACAGA
ATGAGGATTTCGGAACAGAGCATTAACTTCTCCTACGACATCAGCAACAATGCACCA
GGGTATAACAAATGGTTCTTCGTAACGGTGACGAACAATATGATGGGCAATATGAA
AATCTACATTAACGGGAAACTTATCGACACCATTAAAGTGAAAGAGCTTACTGGGA
TCAATTTTAGTAAAACCATTACCTTTGAGATCAACAAAATTCCGGACACGGGTCTGA
TTACCTCCGATTCGGATAATATCAATATGTGGATTCGCGACTTTTATATCTTCGCCAA
AGAACTTGATGGCAAAGATATCAACATTTTGTGTTAATCCCTGCAGTATACCAATGT
CGTTAAGGACTATTGGGGCAATGATCTCCGCTACAATAAAGAATACTACATGGTTAA
CATCGACTATCTCAATCGCTACATGTATGCTAACTCGCGTCAAATTGTGTTTAAACAC
ACGTCGTAACAACAACGATTTTAAACGAAGGTTATAAAATCATTATCAAACGGATCC
GCGGCAATACGAACGATACTCGTGTTCGTGGCGGTGACATTCTGTATTTCGACATGA
CGATTAATAATAAAGCGTACAATCTGTTCATGAAGAACGAAACCATGTACGCCGAT
AACCATTCCACTGAAGATATCTACGCAATCGGACTTCGCGAACAGACCAAAGACAT
TAACGACAACATCATCTTTCAGATTCAACCGATGAATAATACCTACTACTATGCCTC
CCAGATCTTCAAAGTAATTTCAACGGCGAAAACATTTTCAGGCATTTGCTCAATCGG
CACTTATCGGTTCCGGTTAGGTGGTGATTGGTATCGTCACAACCTTGTTCACACA
GTGAAACAAGGCAACTATGCATCGCTCTTAGAAAGCACATCTACGCATTGGGGTTTT
GTGCCAGTCAGTGAAtaatg

SEQ ID NO: 15 (полипептидная последовательность BoNT/C1(0) (эндогенативная))
MPITINNFNYS DPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSNP

NLNKPPRVTSKSGYYDPNYLSTDSKDPFLKEIKLFRKINSREIGEELIYRLSTDIPFPGN
 NNTPIINTDFDFDVFNSVDVKTRQGNWVKTGSIINPSVIITGPRENIIDPETSTFKLTNNTF
 AAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRFSKSEFCMDPILMGTLLNAMHNLGYI
 AIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEYAEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYRSLAKR
 LNSITTANPSSFNKYIGEYKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNIA
 KIYNVQNRKIYLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRK
 VNPENMLYLFTFKCHKAIIDGRSLYNKTLDCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLRKIDIN
 EETEVIYYPDNVSDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQVFYDNRTQNVDY
 LNSYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPTLANKVNAGVQGGFLMW
 ANDVVEDFTTNILRKDTLTKISDVSAIIPYIGPALNISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAF
 PEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIITIDNCLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNINIS
 YQMYDSLNYQAGAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLNKSLDVKISEAMNNINKFI
 RECSVTYLFGKMLPKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNII VGEVDKLIKAVNNSFQNT
 IPFNISYTNNSLLKDIINEYFNNINDSKILSLQNRKNTLVDTSGYNAEVSEEGDVQLNPIF
 PFDFKLGSSGEDRGKVIIVTQENIVYNSMYESFSISFWIRINKWVSNLPGYTIIDSVKNNS
 GWSIGIISNFLVFTLKQNEDESEQSINFSYDISNAPGYNKWFFVTVTNNMMGNMKIYING
 KLIDTIKVKELTGINFSKTITFEINKIPDTGLITSDSDNINMWIRDFYIFAKELDGKIDINILFN
 SLQYTNVVKDYWGNDLRYNKEYYMNIDYLNRYMYANSRQIVFNTRNNDFNEGY
 KIIKIRIRGNTNDTRVRGGDILYFDMTINKAYNLFMKNETMYADNHSTEDIYAIGLREQ
 TKDINDNIIFQIPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGICSIGTYRFRLGGDWYRHNYLVPT
 VKQGNYSALLESTSTHWGFVPVSE

SEQ ID NO: 16 (нуклеотидная последовательность BoNT/C1)

GTGGACAATAAGAATATTCTGTATCTGGATACTCATCTGAATACGCTGGCTA
 ACGAACCGGAGAAAAGCGTTCCGCATCACAGGCAACATCTGGGTTATTCCCGATCGC
 TTTTCACGCAACAGCAACCCTAATCTGAACAAACCTCCTCGTGTCACCAGTCCATAAA
 TCCGGTTATTACGACCCAACTATCTGAGTACGGATAGCGATAAAGATCCCTTTCTG
 AAAGAGATCATTAAGCTGTTCAAACGCATTAACCTCTCGCGAAATTGGGGAAGAGCT
 GATCTATCGGCTTTTCGACAGATATCCCCTCCAGGTAACAATAATACCCCGATTAA
 TACTTTCGACTTTGATGTTGATTTCAATTCTGTGGATGTGAAAACGCGTCAAGGCAA
 TAATTGGGTGAAAACCTGGTAGCATTAACCCGAGTGTAATTATCACAGGTCCCCGTA
 GAACATCATCGACCCGAAACCTCTACCTCAAGCTGACGAACAACACGTTTGCTGC
 ACAGGAAGGGTTTGGTGCCCTGTCAATCATTCCATCTCACCGCGTTTCATGTTAAC
 CTACTIONAATGCCACAAATGATGTTGGCGAAGGACGTTTTAGCAAATCAGAATTTG
 CATGGACCAATTCTCATTCTGATGCACGAGCTGAACCATGCGATGCACAACCTTGTA
 TGGCATTGCTATTCCAAACGATCAAACCATTAGCTCCGTTACCAGTAATATCTTCTAT
 AGCCAGTATAATGTCAAATTGGAGTATGCCGAAATTTACGCCTTTGGAGGCCCGACC
 ATTGACCTGATTCCGAAATCTGCACGCAAATACTTCAAGAAAAGGCGTTAGATTAC
 TATCGCAGCATCGCGAAACGCCTGAACTCGATTACCACGGCCAATCCGTCGTCGTT
 AACAAATACATTGGTGAATATAAACAGAACTGATTCGCAAATATCGGTTTGTGCGTA
 GAAAGCTCTGGTGAAGTACTGTAAACCGCAACAAATTTGTCAACTCTACAACGA

GTTGACCCAAATCTTTACCGAGTTTAACTACGCAAAGATCTATAACGTACAGAACCG
CAAGATTTATCTTAGCAATGTATACACACCCGGTACTGCGAACATCTTAGACGACAA
TGTGTATGATATTCAGAATGGCTTAAACATCCCCGAAATCAAATCTGAACGTTCTGTT
TATGGGCCAGAACCTGAGTCGTAATCCAGCACTGCGTAAAGTGAACCCGGAAAATA
TGCTCTACTTGTTTACCAAATTTTGCCACAAAGCGATTGATGGCCGCTCTCTCTATAA
CAAACGCTGGATTGTCGTGAGTTACTTGTGAAGAACAACACTGATTACCGTTCATTGG
GGATATCTCCGACGTGAAAACCGATATCTTCCTGCGCAAAGACATTAATGAAGAAA
CGGAAGTCATCTATTACCCCGACAATGTGAGCGTTGATCAGGTCATTTTATCGAAGA
ACACCTCCGAACATGGTCAGTTGGATTTGCTGTACCCTAGCATTGACTCGGAGAGTG
AAATCCTTCCGGGCGAAAATCAAGTGTTTTACGACAACCGTACCCAAAATGTTGATT
ATTTGAATTCTTATTACTACCTGGAATCTCAGAAATTGAGCGACAATGTGGAAGATT
TCACGTTACACGCTCCATTGAGGAAGCGCTGGATAATAGCGCGAAAGTGTATACG
TATTTCCCTACCTTGCGAATAAAGTAAATGCTGGTGTCCAGGGAGGCTTATTTCTG
ATGTGGGCGAATGATGTGGTAGAAGATTTTACGACCAATATTTTGGCTAAGGACACC
TTAGATAAAATTAGCGATGTTAGCGCCATCATCCCCTATATTGGCCAGCACTGAAT
ATCTCGAACTCTGTGCGTCGCGGAAACTTCACCGAAGCATTGCGGTGACCGGGGTT
ACTATTCTGTTGGAAGCCTTTCGGAGTTTACTATTCCGGCGCTGGGTGCGTTTGTGA
TTTATTCGAAAGTACAAGAACGCAATGAAATTATCAAAACCATCGATAATTGCCTGG
AACACGCATTAACGCTGGAAGGATTCTTATGAATGGATGATGGGCACCTGGTTA
TCCCGTATTATCACACAGTTTAAACAACATCTCGTATCAGATGTACGATTCACTGAAC
TACCAAGCAGGGGCGATCAAAGCCAAGATCGACTTAGAATACAAGAAATATTCAGG
TAGCGATAAAGAGAATATTA AAAAGCCAGTTGAAAACCTGAAGA ACTCTCTGGATG
TCAAAATTT CAGAGGCTATGAACAACATTAACAAATTTATCCGCGAATGTAGCGTCA
CGTATCTGTTTAAAAACATGCTCCC GAAAGTGATTGATGAGCTCAACGAGTTTGATC
GCAACACAAAGGCCAAACTGATTAACCTGATTGATAGTCACAATATTATTTTAGTCG
GTGAAGTTGACAAGCTGAAGGCTAAGGTCAATAACAGCTTTCAGAACACTATTCCG
TTTAATATTTTCTCCTATACGAACAATAGTCTGCTGAAAAGACATTATCAACGAATAC
TTCAACAATATTAATGACAGCAAAATTCTGAGCCTGCAGAATCGTAAGAATACGCT
GGTAGATAACAGTGGATATAATGCGGAAGTCTCAGAAGAGGGTGATGTACAGCTGA
ACCCGATCTTTCGTTTCGACTTTAAACTGGGGTCTAGTGGTGAAGATCGCGGTA AAG
TGATCGTTACCCAAAACGAGAACATTGTGTATAACAGCATGTACGAGAGTTTCTCAA
TTTCTTTCTGGATTTCGCATCAATAAATGGGTTTCTAATTTGCCTGGCTATACCATCAT
TGATAGCGTCAAAAACA ACTCGGGCTGGTCGATTGGCATTATTAGCAACTTTCTGGT
GTTTACCCTGAAACAGAATGAGGATTCGGAACAGAGCATTAACTTCTCCTACGACAT
CAGCAACAATGCACCAGGGTATAACA AATGGTTCTTCGTAACGGTGACGAACAATA
TGATGGGCAATATGAAAATCTACATTAACGGGAAACTTATCGACACCATTAAAGTG
AAAGAGCTTACTGGGATCAATTTTAGTAAAACCATTACCTTTGAGATCAACAAAATT
CCGGACACGGGTCTGATTACCTCCGATTCCGATAATATCAATATGTGGATTTCGCGAC
TTTTATATCTTCGCCAAAGAACTTGATGGCAAAGATATCAACATTTTGTTTAATCCC
TGCAGTATACCAATGTCGTTAAGGACTATTGGGGCAATGATCTCCGCTACAATAAAG

AATACTACATGGTTAACATCGACTATCTCAATCGCTACATGTATGCTAACTCGCGTC
 AAATTGTGTTTAAACACACGTCGTAACAACAACGATTTTAAACGAAGGTTATAAAATCA
 TTATCAAACGGATCCGCGGCAATACGAACGATACTCGTGTTCGTGGCGGTGACATTC
 TGTATTTTCGACATGACGATTAATAATAAAGCGTACAATCTGTTTCATGAAGAACGAAA
 CCATGTACGCCGATAACCATCCACTGAAGATATCTACGCAATCGGACTTCGCGAAC
 AGACCAAAGACATTAACGACAACATCATCTTTCAGATTCAACCGATGAATAATACCT
 ACTACTATGCCTCCAGATCTTCAAAAGTAATTTCAACGGCGAAAACATTTTCAGGCA
 TTTGCTCAATCGGCACTTATCGGTTCCGGTTAGGTGGTGATTGGTATCGTCACAACT
 ACCTTGTCCACAGTGAACAAGGCAACTATGCATCGCTCTTAGAAAGCACATCTA
 CGCATTGGGGTTTTGTGCCAGTCAGTGAAtaa

SEQ ID NO: 17 (полипептидная последовательность BoNT/C1)

MPITINNFNYSVPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSNP
 NLNKPPRVTSKSGYYDPNYLSTDSKDPFLKEIKLFRKINSREIGEELIYRLSTDIPFPGN
 NNTPIITFDVDFVDFNSVDVKTRQGNNWVKTSINPSVIITGPRENIDPETSTFKLTNNTF
 AAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRFSKSEFCMDPILMHELNHAMHNLGYI
 AIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEYAEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYRSLAKR
 LNSITTANPSSFNKYIGEYKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYA
 KIYNVQNRKIYLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLRSNPALRK
 VNPENMLYLFTKFKHKAIDGRSLYNKTLDCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLRKDIN
 EETEVIYYPDNVSDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQVFYDNRTQNVYD
 LNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPTLANKVNAGVQGGFLMW
 ANDVVEDFTTNILRKDTLTKISDVSAIPYIGPALNISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAF
 PEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIHKIDNCLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNS
 YQMYDSLNYQAGAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDKISEAMNNINKFI
 RECSVTYLTKNMLPKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNII VGEVDKLLKAVNNSFQNT
 IPFNISYTNNSLLKDIINEYFNNINDSKILSLQNRKNTLVDTSGYNAEVSEEGDVQLNPIF
 PFDFKLGSSGEDRGK VIVTQENIVYNSMYESFSISFWIRINKWVSNLPGYTIIDSVKNNS
 GWSIGIISNFLVFTLKQNEDESEQSINFSYDISNAPGYNKWFFVTVTNNMMGMNKIYING
 KLIDTIKVKELTGINFSTITFEINKIPDTGLITSDSDNINMWIRDFYIFAKELDGKDNILFN
 SLQYTNVVKDYWGNDLRYNKEYYMNIDYLNRYMYANSRQIVFNTRRRNNDFNEGY
 KIIKRIKRGNTNDTRVRGGDILYFDMTINNKAYNLFMKNETMYADNHSTEDIYAIGLREQ
 TKDINDNIIFQIQPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGICSIGTYRFRLGGDWYRHNYLVPT
 VKQGNYSALLESTSTHWGFVPVSE

SEQ ID NO: 18 (участок расщепления энтерокиназой и фактором Ха)

IDGR

SEQ ID NO: 19 (вариант участка расщепления энтерокиназой и фактором Ха)

IEGR

SEQ ID NO: 20 (петля активации BoNT/X)

CPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVSYPCSLNLC

SEQ ID NO: 21 (петля активации BoNT/A1 и A6)

CVRGIITSKTKSLDKGYNKALNDLC

SEQ ID NO: 22 (BoNT/B2, петля активации B3 и B6)

CKSVRAPGIC

SEQ ID NO: 23 (петля активации BoNT/D)

CLRLTKNSRDDSTC

SEQ ID NO: 24 (петля активации BoNT/E1-E5, E9 и E12)

CKNIVSVKGIRKSIC

SEQ ID NO: 25 (петля активации BoNT/F1 и F6)

CKSVIPRKGTKAPPRLC

SEQ ID NO: 26 (петля активации BoNT/F2 и F3)

CKSIIPRKGTKQSPSLC

SEQ ID NO: 27 (петля активации BoNT/F4)

CKSIIPRKGTKAPPRLC

SEQ ID NO: 28 (петля активации BoNT/F5)

CLNSSFKKNTKKPLC

SEQ ID NO: 29 (петля активации BoNT/F7)

CKSIVSKKGTKNSLC

SEQ ID NO: 30 (петля активации TeNT)

CKKIIPPTNIRENLYNRTASLTDLGGELC

SEQ ID NO: 31 (петля активации BoNT/G)

CKPVMYKNTGKSEQC

SEQ ID NO: 32 (нуклеотидная последовательность BoNT/X-10HT дикого типа)

ATGAAACTGGAAATCAACAAATTCAACTACAACGATCCGATCGATGGCATT
 ATGTTATTACCATGCGTCCGCCTCGTCATAGCGATAAAATCAATAAAGGTAAAGGTC
 CGTTCAAAGCCTTTTCAGGTGATTA AAAACATTTGGATTGTGCCGGAACGCTACAAC
 TTACCAATAATACCAACGATCTGAACATTCGAGCGAACCGATTATGGAAGCAGAT
 GCCATTTATAACCCGAACSTATCTGAATACCCGAGCGAAAAAGATGAATTTCTGCAG
 GGTGTTATCAAAGTGCTGGAACGCATTA AAAAGCAAACCGGAAGGTGAAAACTGCT
 GGAAC TGATTAGCAGCAGCATTCCGCTGCCGCTGGTTAGCAATGGTGC ACTGACCCCT
 GAGCGATAATGAAACCATTCATATCAAGAGAACAACAACATTGTGAGCAATCTGC
 AGGCAAACCTGGTTATTTATGGTCCGGGTCCTGATATTGCAAATAATGCAACCTATG
 GTCTGTATAGCACCCCGATTAGTAATGGTGAAGGTACACTGAGCGAAGTTAGCTTTA
 GCCCGTTTTATCTGAAACCGTTTGATGAAAGCTATGGCAATTATCGTAGCCTGGTGA
 ATATCGTGAACAAATTCGTGAAACGTGAATTTGCACCTGATCCGGCAAGCACCCCTGA
 TGCATGAACTGGTTCATGTTACCCATAATCTGTATGGTATTAGCAACCGCAACTTCT
 ACTATAACTTTGACACCGGCAAAATTGAAACCAGCCGTCAGCAGAATAGCCTGATTT
 TTGAAGAACTGCTGACCTTTGGTGGCATTGATAGCAAAGCAATTAGCAGCCTGATCA
 TCAAGAAAATTATCGAAACCGCCAAGAACAACATAACCACGCTGATTAGCGAACGC
 CTGAATACCGTTACCGTTGAAAATGATCTGCTGAAATATATCAAAAACAAAATCCCG
 GTTCAGGGTCTGCTGGGTAACCTTTAAACTGGATACCGCAGAATTCGAGAAAAAGCT

GAATACCATTCTGTTTGTGCTGAACGAAAGCAATCTGGCACAGCGTTTTAGCATTCT
GGTTCGTAAACATTACCTGAAAGAACGTCCGATTGATCCGATTTATGTGAACATTCT
GGATGACAATAGCTACAGCACCCCTGGAAGGTTTTAACATTAGCAGTCAGGGTAGCA
ATGATTTCCAAGGTCAGCTGCTGGAAAGCAGCTATTTTGAAAAAATTGAAAGCAAT
GCCCTGCGTGCCTTCATTAATAATCTGTCCGCGTAATGGTCTGCTGTATAATGCCATTT
ATCGCAACAGCAAAAACCTACCTGAACAACATTGATCTGGAAGATAAAAAGACCACG
AGCAAAACCAATGTTAGCTATCCGTGTAGCCTGCTGAATGGTTGTATTGAAGTTGAA
AACAAAGACCTGTTCCCTGATTAGCAACAAAGATAGCCTGAACGATATTAACCTGAG
CGAAGAAAAAATCAAACCGGAAACCACCGTGTCTTCAAAGATAAACTGCCTCCGC
AGGATATTACGCTGAGCAATTATGATTTTACCGAAGCCAATAGCATTCCGAGCATT
GCCAGCAGAACATTCTGGAACGTAATGAAGAACTGTATGAACCGATTCCGAATAGC
CTGTTTGAAATCAAACCATCTATGTGGATAAGCTGACCACCTTTCATTTTCTGGAA
GCCCAGAATATTGATGAGAGCATTGATAGCAGCAAAATTCGTGTTGAACTGACCGA
TAGCGTTGATGAAGCACTGAGCAATCCGAATAAAGTTTATAGCCCCTCAAGAACA
TGAGCAACACCATTAATAGCATTGAAACCGGTATTACCAGCACCTACATCTTTTATC
AGTGGCTGCGTAGCATCGTGAAAGATTTTAGTGATGAAACCGGCAAAATCGACGTG
ATTGATAAAAGCAGCGATACCCTGGCAATTGTTCCGTATATTGGTCCGCTGCTGAAT
ATTGGTAATGATATTCGTCATGGCGATTTTGTGGGTGCAATTGAACTGGCAGGCATT
ACCGCACTGCTGGAATATGTTCCGGAATTTACCATTCCGATTCTGGTTGGTCTGGAA
GTTATTGGTGGCGAACTGGCACGTGAACAGGTTGAAGCAATTGTTAATAATGCCCTG
GATAAACGCGATCAGAAATGGGCAGAAGTTTACAATATTACCAAAGCACAGTGGTG
GGGCACCATTCAATACAGATTAATACCCGTCTGGCCCATACCTATAAAGCCCTGAG
CCGTACGGCAAAATGCCATTAATAATGAATATGGAATTTACAGCTGGCCAACTACAAAG
GCAACATCGATGATAAAGCCAAAATCAAAAACGCCATCAGCGAAACCGAAATCCTG
CTGAACAAAAGCGTTGAACAGGCAATGAAAAACACCGAGAAATTCATGATCAAAC
GAGCAACAGCTATCTGACCAAAGAAATGATTCCGAAAGTGCAGGATAACCTGAAAA
ATTTGATCTGGAACCAAGAAAACCTGGACAAATTTATCAAAGAGAAAGAGGAC
ATTCTGGGCACCAATCTGAGCAGCAGCCTGCGTCGTAAAGTTAGCATTCTGCTGAAT
AAAAACATTGCCCTTCGACATCAACGATATCCCGTTTAGCGAATTTGATGATCTGATC
AACCAGTACAAAAACGAGATCGAAGATTATGAAGTGCTGAATCTGGGTGCAGAAGA
TGGGAAAATCAAAGATCTGAGCGGTACAACCAGCGATATCAATATTGGTTCAGATA
TCGAACTGGCCGATGGTCTGAAAATAAAGCCATTAAGATTAAGGCAGCGAGAAC
AGCACCATCAAAATTGCAATGAACAAATATCTGCGTTTTAGCGCGACCGATAACTTT
AGCATTAGCTTTTGGATCAAACATCCGAAACCGACCAATCTGCTTAATAACGGTATT
GAATATACCCTGGTCGAGAACTTTAATCAGCGTGGTTGGAAAATTAGCATCCAGGAT
AGCAAACCTGATTTGGTATCTGCGCGATCACAAACAGCATCAAAATCGTTACACCG
GATTATATTGCGTTTAATGGCTGGAACCTGATTACCATTACAAACAATCGTAGCAAA
GGCAGCATTGTGTATGTGAACGGTAGCAAAATTGAAGAGAAGGATATTAGCAGCAT
CTGGAATACCGAAGTGGATGATCCGATTATCTTTCGCTGAAAAACAATCGCGATAC
CCAGGCGTTTACCCTGCTGGATCAGTTTAGCATTATCGGAAAGAACTGAACCAGAA

CGAAGTGGTGAAACTGTATAACTACTACTTCAACAGCAACTACATTTCGCGATATTTG
 GGGTAATCCGCTGCAGTACAACAAAAATACTATCTGCAGACCCAGGACAAACCTG
 GTAAAGGTCTGATCCGCGAATATTGGAGCAGCTTTGGTTATGATTATGTGATTCTGA
 GCGATAGCAAGACGATTACCTTTCCGAATAATATCCGTTATGGTGCCCTGTATAACG
 GCAGCAAAGTTCTGATCAAAAATAGCAAAAACTGGATGGTCTGGTGCGCAATAAA
 GATTCATTACAGCTGGAAATCGATGGCTATAATATGGGTATTAGCGCAGATCGCTTT
 AACGAGGATACCAACTATATTGGCACCACCTATGGTACAACCCATGATCTGACCACC
 GATTTTGAAATTATTACAGCGCCAAGAGAAATACCGCAATTATTGTCAGCTGAAAACC
 CCGTATAACATCTTTCATAAAAGCGGTCTGATGAGCACCGAAACCAGCAAACCGAC
 CTTTCATGATTATCGTGACTGGGTTTATAGCAGCGCATGGTATTTTCAGAACTATGA
 AAATCTGAACCTGCGCAAACATACCAAAAACCAACTGGTATTTTATCCCGAAAGATG
 AAGGTTGGGATGAAGATCTTGAAGTTCGTTTTCAGGGTCCGCATCATCACCACCATC
 ACCATCATCATCAC

SEQ ID NO: 33 (полипептидная последовательность BoN1/X)

MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIKNIWIVPERYNF
 TNNT
 NDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPEKDEFLQGVIKVLERIKSKPEGEKLELISS
 IP
 LPLVSNALTLSDNETIAYQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPIS
 NGE
 TLSEVSFSPFYLPFDESIGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHELHVHVN
 LYSIS
 NRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKIETAKNNYTTLIS
 E
 RLNTVTVENDLLKYIKNKIPVQGR LGNFKLDTAEFKKNLILFVLNESLAQRF
 SILVR
 KHYLKERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGQLLESSYFEKIESNALR
 AFI
 KICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNIDLEDKKTTSKTNVSYPCSLNLCIEVENKDL
 FLISN
 KDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEE
 LY
 EPIRNSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS
 PF
 KNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSSDTLAIVPYIGPLL
 NI
 GNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALD
 KRD
 QKWADEVYNITKAQWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYK
 GNIDDKAK

IKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKVQDNLKNFDLETK
 KTLDK
 FIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVL
 NL
 GAEDGKIKDLSGTTSDINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSA
 DNF
 SISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRDHNNSIKIVTP
 DYI
 AFNGWNLITITNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISSIWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAF
 TLL
 DQFSIYRKELNQNEVVKLYNYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKG
 LIREYWS
 SFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKLDGLVRNKDFIQLEIDG
 YNMG
 ISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMS
 TETS
 KPTFHDIRDWVYSSAWYFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED
SEQ ID NO: 34 (полипептидная последовательность ВоNT/X-10HT дикого типа)
 MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSKINKGKGPFAFQVIKNIWIVPERYNF
 TNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPSEKDEFLOQVIKVLERIKSKPEGEKLELISSSI
 PLPLVSNLALTLSDNETIAYQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEG
 TLSEVSFSPFYLPFDESYGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHEL VHVTHNLYGIS
 NNFYFNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKIIEAKNNYTTLISERLNT
 VTVENDLLKYIKNIPVQGRGLGNFKLDTAEFEKKNLTLFVLNESNLAQRFSILVRKHYL
 KERPIDPIYVNLDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGGQLLESSYFEKIESNALRAFIKICPRNG
 LLYNAIYRNSKNYLNNDLEDKKTTSKTNVSYPCSLNNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDIN
 LSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPURNSLFEIKT
 IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYSPFKNMSNTINSIETGI
 TSTYIFYQWLRISIVKDFSDETGKIDVIDKSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELA
 GITALLEYVPEFTIPILVGLVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW
 GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIKMNMEFQLANYKGNIDDKAIKNAISETEILLNKS
 VEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKVQDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSS
 SLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTTSDI
 NIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSA TDNFSISFWIKHPKPTNLLNNGI
 EYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRDHNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNRSKGSIV
 YVNGSKIEEKDISSIWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAF TLLDQFSIYRKELNQNEVVKLYN
 YFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSFGYDYVILSDSKTITFPN
 NIRYGALYNGSKVLIKNSKLDGLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGT
 THDLTTDFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMS TETSKPTFHDIRDWVYSSAWYF
 QNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDEDLEVLFFQGPHHHHHHHHHHH

SEQ ID NO: 35 (BoNT/A - UniProt P10845)

MPFVNKQFNKYKDPVNGVDIA YIKIPNVGQM QPVKAFKIHNKI WVIPERDTFTNPE
 EGDLN
 PPPEAKQVPVSYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLGRMLLTSIVRGIP
 FWGG
 STIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSADIIQFECKSFGHEVLNLTRN
 GY
 GSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLL GAGKFATDPAVTLAHELHAGHRLYGLA
 INPN
 RVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEELRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIAS
 TLNKA
 KSIVGTTASLQYMKNVFKEKYLLEDTSKGKFSVDKLFKDKLYKMLTEIYTEDNF
 VKFFKV
 LNRKTYLNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNT EINNMFNFT
 KLKNFT
 GLFEFYKLLCVRGIITSKTKSLDKGYNKALNDLCIKVNNWDLFFSPSEDNFTNDL
 NKGEE
 ITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIGQLELMPNIERFPN
 G
 KKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLNPSRVYTFSSDYVKKV
 NKATEA
 AMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADITIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGAL
 IFSG
 AVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIANKVLT VQTIDNALS KRNEKWDEVYKYIVTN
 WLAK
 VNTQIDLIRKKMKEALENQAEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNE
 SINKA
 MININKFLNQCSVSYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVD
 RLKDK
 VNNTLSTDIPFQLSKYVDNQRLLS TFTEYIKNIINTSILNLRYESNHLIDL SRYASKI
 NI
 GSKVNFDPIDKNQIQLFNLESSKIEVILKNAIVYNSMYENFSTSFWIRIPKYFNSISL
 NN
 EYTIINCMENNSGWKVSLNYGEIHWTLQDTQEIKQRVVF KYSQMINISDYINRWIF
 VTIT
 NNRLNNSKIYINGRLIDQKPISNLGNIHASNNIMFKLDGCRDTHRYIWIKYFNLFD
 KELN
 EKEIKDLYDNQSN SGILKDFWGDYLYQYDKPYMLNLYDPNKYVDVNNV GIRGY
 MYLKGPR
 GSVMTTNIYLNSSLYRGTKFIIKKYASGNKDNIVRNDRVYINVVVKNKEYRLA

TNASQA
 GVEKILSALEIPDVGNLSQVVVMKSKNDQGITNKCKMNLQDNNGNDIGFIGFHQ
 FNNIAK
 LVASNWYNRQIERSRRTLGCSEWEIFVDDGWERPL
SEQ ID NO: 36 (BoNT/B - UniProt P10844)
 MPVTINNFNYNDPIDNNNIIMMEPPFARGTGRYYKAFKITDRIWIIPERYTFGYKP
 EDFN
 KSSGIFNRDVCEYYDPDYLTNDKKNIFLQTMIKLFNRIKSKPLGEKLEMIINGIP
 YLG
 DRRVPLEEFNTNIASVTVNKLISNPGEVERKKGIFANLIIFGPGPVLNENETIDIGIQ
 NH
 FASREGFGGIMQMFCPEYVSFNNVQENKGASIFNRRGYFSDPALILMHელი
 LHGLY
 GIKVDDLPIVPNEKKFFMQSTDAIQAEELYTFGGQDPSIITPSTDKSIYDKVLQNFR
 GIV
 DRLNKVLCISDPNININIYKNKFKDKYKFVEDSEGKYSIDVESFDKLYKSLMFGF
 TETN
 IAENYKIKTRASYFSDSLPPVKIKNLLDNEIYTIEEGFNISDKDMEKEYRGQNKAIN
 KQA
 YEEISKEHLAVYKIQMCKSVKAPGICIDVDNEDLFFIADKNSFSDDLKSKNERIEYN
 TQSN
 YIENDFPINELILDIDLISKIELPSENTESLTDFNVDVPVYEKQPAIKKIFTDENTIFQ
 Y
 LYSQTFPLDIRDISLTSSFDDALLFSNKVYSFFSMDYIKTANKVVEAGLFAGWVK
 QIVND
 FVIEANKSNTMDKIADISLIVPYIGLALNVGNETAKGNFENAFEIAGASILLEFIPEL
 LI
 PVVGAFLESYIDNKNKIIKTIDNALTKRNEKWSDMYGLIVAQWLSTVNTQFYTI
 KEGMY
 KALNYQAQALEEIIKRYRYNIYSEKEKSNINIDFNDINSKLNEGINQAIDNINNFING
 CSV
 SYLMKKMIPLAVEKLLDFDNTLKKNLLNYIDENKLYLIGSAEYEKSKVNKYLKTI
 MPFDL
 SIYTNDTILIEFMFNKYNSEILNNILNLRKYDNNLIDLSGYGAKVEVYDGVELNDK
 NQFK
 LTSSANSKIRVTQNQNIIFNSVFLDFSVSFWIRIPKYKNDGIQNYIHNEYTIINCMK
 NNS
 GWKISIRGNRIIWLIDINGKTKSVFFEYNIREDISEYINRWFFVTITNNLNNAKIYI
 NG
 KLESNTDIKDIREVIANGEIIFKLDGDIDRTQFIWMKYFSIFNTELSQSNIERYKIQ

SY
 SEYLKDFWGNPLMYNKEYYMFNAGNKNSYIKLKKDSPVGEILTRSKYNQNSKYI
 NYRDLY
 IGEKFIIRRKSNSQSINDDIVRKEDIYILDFFNLNQEWVRVYTYKYFKKEEEKLFLA
 PISD
 SDEFYNTIQIKEYDEQPTYSCQLLFKKDEESTDEIGLIGIHRFYESGIVFEEYKDYF
 CIS
 KWYLKEVKRKPYNLKLGCNWQFIPKDEGWTE
SEQ ID NO: 37 (BoNT/C - UniProt P18640)
 MPITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSNP
 NLNK
 PPRVTSKSGYYDPNYLSTSDKDPFLKEIILFKRINSREIGEELIYRLSTDIPFPG
 NN
 NTPINTFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGPRENIIDPETSTFKLTN
 NTF
 AAQEGFGALSIIISPRFMLTYSNATNDVGEGRFSKSEFCMDPILILMHELNHAMH
 NLYG
 IAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEYAEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDY
 RSI
 AKRLNSITTANPSSFNKYIGEYKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELT
 QIFTE
 FNYAKIYNVQNRKIYLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNL
 SRNPA
 LRKVN PENMLYLFTKFCHK AIDGRSLYNKTLDCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTD
 IFLRK
 DINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQVFYDNR
 TQN
 VDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPTLANKVNAGVQ
 GGLFLM
 WANDVVEDFTTNILRKDTLTKISDVSAIIPYIGPALNISNSVRRGNFTEAFVTVG
 TILL
 EAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDNCLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRI
 ITQF
 NNISYQMYDSLNYQAGAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEA
 MNNIN
 KFIRESVTYL FKNMLPKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNILVGEVDKLLKAKV
 NNSF
 QNTIPFNIFSYTNN SLLKDIINEYFNNINDSKILSLQNRKNTLVDTSYNAEVSEEG
 DVQ
 LNPIFPDFKLGSSGEDRGKVIVTQENENIVYNSMYESFSISFWIRINKWVSNLPGYT

IID
 SVKNNSGWSIGIISNFLVFTLKQNEDESEQSINFSDYDISNAPGYNKWFFVTVTNN
 MMGNM
 KIYINGKLIDTIKVKELTGINFSKTITFEINKIPDTGLITSDSDNINMWIRDFYIFAKE
 L
 DGKDINILFNSLQYTNVVKDYWGNDLRYNKEYYMVNIDYLNRYMYANSRQIVF
 NTRRNNN
 DFNEGYKIIIKRIRGNTNDTRVRGGDILYFDMTINNKAYNLFMKNETMYADNHS
 TEDIYA
 IGLREQTKDINDNIIFIQIPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGICSIGTYRFRLGGD
 WYR
 HNYLVPTVKQGNYSALLESTSTHWGFVPVSE
SEQ ID NO: 38 (BoNT/D - UniProt P19321)
 MTWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDTNP
 SLSK
 PPRPTSKYQSYDPSYLSTDEQKDTFLKGIKLFKRINERDIGKKLINYL VVGSPFM
 GDS
 STPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGPLNILDYASLTLQGQ
 QSN
 PSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVLGKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQ
 LYG
 INIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGNVQFEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHY
 KDI
 AKRLNNINKTIPSSWISNIDKYKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTN
 VMSE
 VVYSSQYNVKNRTHYFSRHYPVFANILDDNIYTIRDGFNLTKNGFNIENSGQNIIE
 RNPA
 LQKLSSESVDLFTKVCLRLTKNSRDDSTCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKII
 TDE
 TNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKY
 VDYL
 NSYYYLESQKLSNNVENITLTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFL
 Nwane
 VVEDFTTNIMKKDTLTKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLN
 EGFP
 EFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQF
 NHIN
 YQMYDSL SYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNN
 INKFIR
 ECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIIIVGEVDRLKAKVNESF

ENTM
 PFNIFSYTNNLLKDIINEYFNSINDSKILSLQNKKNALVDTSGYNAEVRVGDNVQ
 LNTI
 YTNDFKLSSSGDKIIVNLNNNILYSAYIENSSVSFWIKISKDLTNSHNEYTIINSIEQ
 NS
 GWKLCIRNGNIEWILQDVNRKYKSLIFDYSELSHTGYTNKWFFVTITNNIMGYM
 KLYIN
 GELKQSQKIEDLDEVKLDKTIVFGIDENIDENQMLWIRDFNIFSKELSNEDINIVYE
 GQI
 LRNVIKDYWGNPLKFDTEYYIINDNYIDRYIAPESNVLVLVQYPDRSKLYTGNPIT
 IKS
 SDKNPYSRILNGDNILHMLYNSRKYMIIRDTDTIYATQGGECSONCVYALKLQS
 NLGNY
 GIGIFSIKNIVSKNKYCSQIFSSFRENTMLLADIYKPWRFSFKNAYTPVAVTNYET
 KLLS
 TSSFWKFISRDPGWVE
SEQ ID NO: 39 (BoNT/E - UniProt Q00496)
 MPKINSFNNDPVNDRITILYIKPGGCQEFYKSFNIMKNIWIIPERNVIGTTPQDFHP
 PTS
 LKNGDSSYYDPNYLQSDEEKDRFLKIVTKIFNRINNLSGGILLEELSKANPYLGN
 DNT
 DNQFHIGDASAVEIKFSNGSQDILLPNVIIMGAEPDLFETNSSNISLRNNYMPSNH
 RFGS
 IAIVTF SPEYSFRFNDNCMNEFIQDPAL TLMHELHLSLHGLYGAKGITTKYTITQK
 QNPL
 ITNIRGTNIEEFLTFGGTDLNIITSAQSNDIYTNLLADYKKIASKLSKVQVSNPLLNP
 YK
 DVFEAKYGLDKDASGIYSVNINKFNDIFKCLYSFTEFDLRTKFQVKCRQTYIGQY
 KYFKL
 SNLLNDSIYNISEGYNINNLKVNFRGQANLNPRIITPITGRGLVKKIIRFCKNIVSV
 KG
 IRKSICIEINNGELFFVASENSYNDNINTPKEIDDTVTSNNNYENDLDQVILNFNS
 ESA
 PGLSDEKLNLTIQNDAYIPKYDSNGTSDIEQHVDVNELNVFFYLDAQKVPEGENNV
 NLTSS
 IDTALLEQPKIYTFSSSEFINNVNKPVQAALFVSWIQQLVDFTTTEANQKSTVDKI
 ADIS
 IVVPYIGLALNIGNEAQKGNFKDALELLGAGILLEFEPELLIPTILVFTIKSFLGSSD
 NK
 NKVIKAINNALKERDEKWKEVYSFIVSNWMTKINTQFNKRKEQMYQALQNQVN

AIKTIE
 SKYNSYTLLEEKNELTNKYDIKQIENELNQKVSIAMNNIDRFLTESSISYLMKIINEV
 KIN
 KLREYDENVKTYLLNYIIQHGSILGESQQELNSMVTDTLNSIPFKLSSYTDDKILI
 SYF
 NKFFKRIKSSSVLNMRYKNDKYVDTSGYDSNININGDVYKYPTNKNQFGIYNDK
 LSEVNI
 SQNDYIIYDNKYKNFSISFWVRIPNYDNKIVNVNNEYTIINCMRDNNSGWKVS LN
 HNEII
 WTFEDNRGINQKLAFNYGNANGISDYINKWIFVTITNDRLGDSKLYINGNLIDQK
 SILNL
 GNIHVSDNILFKIVNCSYTRYIGIRYFNIFDKELDETEIQTLYSNEPNTNILKDFWG
 NYL
 LYDKEYYLLNVLKPNNFIDRRKDSTLSINNIRSTILLANRLYSGIKVKIQRVNNSST
 NDN
 LVRKNDQVYINFVASKTHLFLYADTATTNKEKTIKISSSGNRFNQVVMNSVG
 NCTMNF
 KNNNGNIGLLGFKADTVVASTWYYTHMRDHTNSNGCFWNFISEEHGWQEK
SEQ ID NO: 40 (BoNT/F - UniProt A7GBG3)
 MPVVINSFNYPVNDTILYMQIPYEEKSKKYYKAFEIMRNVWIIPERTIGTDP
 SDFD
 PPASLENGSSAYYDPNYLTTDAEKDRYLKTTIKLFRINSNPAGEVLLQEISYAKP
 YLGN
 EHTPINEFHPVTRTTSVNIKSSSTNVKSSIILNLLVLGAGPDIFENSSYPVRKLMDSG
 GVV
 DPSNDGFGSINIVTFSPEYEYTFNDISGGYNSSTESFIADPAISLAHELIALHGLYG
 AR
 GVTYKETIKVKQAPLMIAEKPIRLEEFLTFGGQDLNIITSAMKEKIYNNLLANYEK
 IATR
 LSRVNSAPPEYDINEYKDYFQWKYGLDKNADGSYTVNENKFNEIYKKLYSFTEI
 DLANKF
 KVKCRNTYFIKYGFLKVPNLLDDDIYTVSEGFNIGNLAVNNRGQNIKLNPKIIDS I
 PDKG
 LVEKIVKFCKSVIPRKGTKAPPRLCIRVNNRELFVASESSYNENDINTPKEIDDTT
 NLN
 NNYRNNLDEVILDYNSETIPQISNQLNNTLVQDDSYVPRYDSNGTSEIEEHNVD
 LNVFF
 YLHAQKVPEGETNISLTSSIDTALSEESQVYTFSSSEFINTINKPVHAALFISWINQV
 IR
 DFTTEATQKSTFDKIADISLVVPYVGLALNIGNEVQKENFKEAFELLGAGILLEFV

PELL
 IPTILVFTIKSFIGSSENKNKIIKAINNSLMERETKWKEIYSWIVSNWLTRINTQFNK
 RK
 EQMYQALQNQVDAIKTVIEYKYNNYTSDERNRLESEYNINNIREELNKKVSLAM
 ENIERF
 ITESSIFYLMKLINEAKVSKLREYDEGVKEYLLDYISEHRSILGNSVQELNDLVTST
 LNN
 SIPFELSSYTNDKILILYFNKLYKKIKDNSILDMRYENNKFIDISGYGSNISINGDVY
 IY
 STNRNQFGIYSSKPSEVNIAQNNDIYNGRYQNF SISFWVRIPKYFNKVNLNNEYTI
 IDC
 IRNNNSGWKISLNYNKIIWTLQDTAGNNQKLVFNQYTMISISDYINKWIFVTITNN
 RLG
 SRIYINGNLIDEKSSISNLGDIHVSDNILFKIVGCNDTRYVGIRYFKVFDTELKTEIE
 TL
 YSDEPDPSILKDFWGNLYLKNRYLLNLLRTRDKSITQNSNFLNINQQRGVYQKP
 NIFSN
 TRLYTGVEVIIRKNGSTDISNTDNFVRKNDLAYINVVDRDVEYRLYADISIAKPEK
 IIKL
 IRTSNSNSLQIIVMDSIGNNCTMNFQNNNGGNIGLLGFHSNNLVASSWYYNNI
 RKNTS
 SNGCFWSFISKEHWQEN
SEQ ID NO: 41 (BoNT/G - UniProt Q60393)
 MPVNIKXFNYNDPINDDIIMMEPFNDPDPGPGTYKAFRIIDRIWIVPERFTYGFQP
 DQFN
 ASTGVFSKDVYEYDPTYLKTDAEKDKFLKTMIKLFNRINSKPSGQRLLDMIVD
 AIPYLG
 NASTPPDKFAANVANVSINKKIIQPGAEDQIKGLMTNLIIFGPGPVLSDNFTDSMI
 MNGH
 SPISEGFARMIRFCPSCLNVFNQENKDTISFRRAYFADPALTLMHELIHVL
 HGLY
 GIKISNLPITPNTKEFFMQHSDPVQAEELYTFGGHDPSPVISPSTDMNIYNKALQNF
 QDIA
 NRLNIVSSAQGSGIDISLYKQIYKNKYDFVEDPNGKYSVDKDKFDKLYKALMFG
 FTETNL
 AGEYGIKTRYSYFSEYLPPIKTEKLLDNTIYTQNEGFNIASKNLKTEFNGQNKAVN
 KEAY
 EEISLEHLVIYRIAMCKPVMYKNTGKSEQCIIVNNEDLFFIANKDSFSKDLAKAETI
 AYN
 TQNNTIENNF SIDQLILDNDLSSGIDLPNENTEPFTNFDDIDIPVYIKQSALKKIFVD

GD
 SLFEYLHAQTFPSNIENLQLTNSLNDALRNNNKVYFFFSTNLVEKANTVVGASLF
 VNWVK
 GVIDDFTSESTQKSTIDKVSIVSIIPYIGPALNVGNETAKENFKNAFEIGGAAILM
 EFI
 PELIVPIVGFFTLLESYVGNKGHIIMTISNALKKRDQKWTDMYGLIVSQWLSTVNT
 QFYTI
 KERMYNALNNQSQAEKIHEDQYNNRYSEEDKMNINIDFNDIDFKLNQSINLAINNI
 DDFI
 NQCSISYLMNRMIPLAVKCLKDFDDNLKRDLLLEYIDTNELYLLDEVNILKSKVNR
 HLKDS
 IPFDLSLYTKDTILIQVFNNYISNISSNAILSLSYRGGRLIDSSGYGATMNVGSDVIF
 ND
 IGNUQFKLNSENSENITAHQSKFVVYDSMFDNFSINFWVRTPKYNNNDIQTYLQ
 NEYTH
 SCIKNDSGWKVSIKGNRIIWTLIDVNAKSKSIFFEYSIKDNISDYINKWFSITITNDR
 LG
 NANIYINGSLKKSEKILNLDNRINSSNDIDFKLINCTDTTKFVWIKDFNIFGRELNAT
 EVS
 SLYWIQSSTNTLKDFWGNPLRYDTQYYLNFQGMQNIYIKYFSKASMGETAPRTN
 FNNAAI
 NYQNLYLGLRFIIKKASNSRNINNDNIVREGDYIYLNIDNISDESRYVYVLVNSKEI
 QTQ
 LFLAPINDDPTFYDVLQIKKYYEKTTCYNCQILCEKDTKTFGLFGIGKFKDYGYV
 WDTYD
 NYFCISQWYLRRRISENINKLRLGNCNWQFIPVDEGWTE
SEQ ID NO: 42 (TeNT - UniProt P04958)
 MPITINFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPE
 DFN
 PPSSLIEGASEYDPNYLRTDSDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIP
 YLGN
 SYSLLDKFDTNSNSVSNLLEQDPSGATTKSAMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVL
 RVDN
 KNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQDPALLMHLEI
 HVLH
 GLYGMQVSSHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLN
 DYK
 AIANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQKQYQFDKDSNGQYIVNEDKFKILYNSIM
 YGFTE
 IELGKKFNIKTRLSYFSMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKQNM

RVNT
NAFRNVDGSGLVSKLIGLCKKIIPPTNIRENLNRTASLTDLGGELCIKIKNEDLTF
IAE
KNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIDVYNLQSKITLPNDRTTPVTKGIP
YAP
EYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFP
SVI
SKVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGY
EGN
FIGALETGTVLLLEIPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVY
K
LVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDAIKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEI
NNLKN
KLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKNILMQYIKAN
SKFIG
ITELKKLESKINKVFSTPIPFYSK NLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDI
S
GFNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESEVIVHKAMDIEYNDMFNNFTVSWF
LRVPK
VSASHLEQYGTNEYSIISSMKKHLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITF
RDLP
DKFNAYLANKWVFITITNDRLSSANLYINGVLMGSAEITGLGAIREDNNTLKL
RCNNN
NQYVSIDKFRIFCKALNPKEIEKLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDTEYYLIPVASS
KDV
QLKNITDYMILTAPSYTNGKLNIIYRRLYNGLKFIKRYTPNNEIDSFVKS GDFI
KLYV
SYNNNEHIVGYPKDGNFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQ
LKLYDD
KNASLGLVGTHNGQIGNDPNRDILIASNWFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWT
ND

SEQ ID NO: 43 (нуклеотидная последовательность LH_N/A1 с участком расщепления

EK)

ATGGAGTTCGTTAACAACAGTTCAACTATAAAGACCCAGTTAACGGTGTG
ACATTGCTTACATCAAAATCCCGAACGCTGGCCAGATGCAGCCGGTAAAGGCATC
AAAATCCACAACAAAATCTGGGTATCCCGAACGTGATACCTTTACTAACCCGGA
AGAAGGTGACCTGAACCCGCCACCGGAAGCGAAACAGGTGCCGGTATCTTACTATG
ACTCCACCTACCTGTCTACCGATAACGAAAAGGACAACCTGAAAGGTGTTACTA
AACTGTTTCGAGCGTATTTACTCCACCGACCTGGGCCGTATGCTGCTGACTAGCATCG
TTCGCGGTATCCCGTTCTGGGGCGGTTCTACCATCGATACCGAACTGAAAGTAATCG

ACACTAACTGCATCAACGTTATTCAGCCGGACGGTTCCTATCGTTCCGAAGAACTGA
ACCTGGTGATCATCGGCCCGTCTGCTGATATCATCCAGTTCGAGTGTAAGAGCTTTG
GTCACGAAGTTCTGAACCTCACCCGTAACGGCTACGGTTCCTACTCAGTACATCCGTT
TCTCTCCGGACTTCACCTTCGGTTTTGAAGAATCCCTGGAAGTAGACACGAACCCAC
TGCTGGGCGCTGGTAAATTCGCAACTGATCCTGCGGTTACCCTGGCTCACGAACTGA
TTCATGCAGGCCACCGCCTGTACGGTATCGCCATCAATCCGAACCGTGTCTTCAAAG
TTAACACCAACGCGTATTACGAGATGTCCGGTCTGGAAGTTAGCTTCGAAGAACTGC
GTACTTTTGGCGGTACGACGCTAAATTCATCGACTCTCTGCAAGAAAACGAGTTCC
GTCTGTACTACTATAACAAGTTCAAAGATATCGCATCCACCCTGAACAAAGCGAAAT
CCATCGTGGGTACCACTGCTTCTCTCCAGTACATGAAGAACGTTTTTAAAGAAAAT
ACCTGCTCAGCGAAGACACCTCCGGCAAATTCCTGTAGACAAGTTGAAATTCGATA
AACTTTACAAAATGCTGACTGAAATTTACACCGAAGACAACCTTCGTTAAGTTCTTTA
AAGTTCTGAACCGCAAACCTATCTGAACTTCGACAAGGCAGTATTCAAATCAAC
ATCGTGCCGAAAGTTAACTACACTATCTACGATGGTTTTAACCTGCGTAACACCAAC
CTGGCTGCTAATTTTAAACGGCCAGAACACGGAAATCAACAACATGAACTTCACAAA
ACTGAAAACTTCACTGGTCTGTTTCGAGTTTTACAAGCTGCTGTGCgtcgacggcatcattacct
ccaaaactaatctgacgatgacgataaaaacaagcgctgaacctgcagTGTATCAAGGTTAACTGGGATT
TATTCTCAGCCCGAGTGAAGACAACCTTACCAACGACCTGAACAAAGGTGAAGAA
ATCACCTCAGATACTAACATCGAAGCAGCCGAAGAAAACATCTCGCTGGACCTGAT
CCAGCAGTACTACCTGACCTTTAATTCGACAACGAGCCGAAAACATTTCTATCGA
AAACCTGAGCTCTGATATCATCGGCCAGCTGGAACCTGATGCCGAACATCGAACGTTT
CCCAAACGGTAAAAAGTACGAGCTGGACAAATATACCATGTTCCACTACCTGCGCG
CGCAGGAATTTGAACACGGCAAATCCCGTATCGCACTGACTAACTCCGTTAACGAA
GCTCTGCTCAACCCGTCCCGTGTATACACCTTCTTCTCTAGCGACTACGTGAAAAAG
GTCAACAAAGCGACTGAAGCTGCAATGTTCTTGGGTTGGGTTGAACAGCTTGTTTTAT
GATTTTACCGACGAGACGTCCGAAGTATCTACTACCGACAAAATTGCGGATATCACT
ATCATCATCCCGTACATCGGTCCGGCTCTGAACATTGGCAACATGCTGTACAAAGAC
GACTTCGTTGGCGCACTGATCTTCTCCGGTGCAGGTGATCCTGCTGGAGTTCATCCCG
GAAATCGCCATCCCGTACTGGGCACCTTTGCTCTGGTTTCTTACATTGCAAACAAG
GTTCTGACTGTACAAACCATCGACAACGCGCTGAGCAAACGTAACGAAAAATGGGA
TGAAGTTTACAAAATATATCGTGACCAACTGGCTGGCTAAGGTTAATACTCAGATCGA
CCTCATCCGCAAAAAAATGAAAGAAGCACTGGAAAACCAGGCGGAAGCTACCAAG
GCAATCATTAACCTACCAGTACAACAGTACACCGAGGAAGAAAAACAACATCAA
CTTCAACATCGACGATCTGTCTCTAAACTGAACGAATCCATCAACAAGCTATGAT
CAACATCAACAAGTTCCTGAACCAAGTCTGTAAGCTATCTGATGAACTCCATGAT
CCCGTACGGTGTTAAACGTCTGGAGGACTTCGATGCGTCTCTGAAAGACGCCCTGCT
GAAATACATTTACGACAACCGTGGCACTCTGATCGGTGAGGTTGATCGTCTGAAGGA
CAAAGTGAACAATACCTTATCGACCGACATCCCTTTTCAGCTCAGTAAATATGTGCA
TAACCAACGCCTTTTGTCCACTCTAGAAGCAccatcatcacCACCATCACCATCACCAT

SEQ ID NO: 44 (полипептидная последовательность LH_N/A1 с участком

расщепления ЕК)

MEFVNKQFNKYKDPVNGVDIAIYKIPNAGQMOPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTNPE
EGDLNPPPEAKQVPVSYDYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFEIYSTDLGRMLLTSIVRGI
PFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGYSRSEELNLVIIGPSADIIQFECKSFGHEVLNLTR
NGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGAGKFATDPAVTLAHELIIHAGHRLYGI
AINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEELRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTL
NKAKSIVGTTASLQYMKNVFKKEYLLSEDTSGKFSVDKLFKDKLYKMLTEIYTEDNFV
KFFKVLNRKTYLNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTTEINNMNFT
KLKNFTGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIKVNNDLFFSPSEDNFTN
DLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIEENLSSDIIGQLELMPNIERF
PNGKKEYLTKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLNPSRVYTFSSDYVKKVN
KATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADITIIPIYIGPALNIGNMLYKDDFVGA
LIFSGAVILLEFIPIAIPVLGTFALVSYIANKVLTVQITDNALSKRNEKWDEVYKYIVTN
WLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQAEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLN
SINKAMININKFLNQCSVSYLMNSMIPYGVKRLDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQV
DRLKDKVNNLSTDIPQLSKYVDNQRLSTLEAHHHHHHHHHH

SEQ ID NO: 45 (нуклеотидная последовательность ВоNT с нативной петлей A1)

ATGAAACTGGAAATCAACAAATTCAACTACAACGATCCGATCGATGGCATT
ATGTTATTACCATGCGTCCGCCTCGTCATAGCGATAAAATCAATAAAGGTAAAGGTC
CGTTCAAAGCCTTTCAGGTGATTAATAAACATTTGGATTGTGCCGGAACGCTACA
ACTTTACCAATAATACCAACGATCTGAACATTCGAGCGAACCGATTATGGAAGCAG
ATGCCATTTATAACCCGAACTATCTGAATACCCGAGCGAAAAAGATGAATTTCTGC
AGGTTGTTATCAAAGTGCTGGAACGCATTAAGCAAAACCGGAAGGTGAAAAACTG
CTGGAACGATGATGAGCAGCATTCCGCTGCCGCTGGTTAGCAATGGTGCACCTG
ACCCCTGAGCGATAATGAAACCATTCATATCAAGAGAACAACAACATTGTGAGCA
ATCTGCAGGCAAACCTGGTTATTTATGGTCCGGGTCCTGATATTGCAAATAATG
CAACCTATGCTGTATAGCACCCCGATTAGTAATGGTGAAGGTACACTGAGCGAAG
TTAGCTTTAGCCGTTTTATCTGAAACCGTTTGTATGAAAGCTATGGCAATTATCG
TAGCCTGGTGAATATCGTGAACAAATTCGTGAAACGTGAATTTGCACCTGATCCG
GCAAGCACCCCTGATGTCATGAACTGGTTCATGTTACCCATAATCTGTATGGTAT
TAGCAACCGCAACTTCTACTATAACTTTGACACCGGCAAATTTGAAACCAGCCGTC
AGCAGAATAGCCTGATTTTGAAGAAGCTGCTGACCTTTGGTGGCATTGATAGCAA
AGCAATTAGCAGCCTGATCATCAAGAAAATTATCGAAACCGCCAAGAACAACATA
ACCACGCTGATTAGCGAACGCCTGAATACCGTTACCGTTGAAAATGATCTGCTGAA
ATATATCAAAAACAAAATCCCGGTTACAGGGTCTGGTAACTTTAACTGGATACCG
CAGAAATTCGAGAAAAAGCTGAATACCATTCTGTTTGTGCTGAACGAAAGCAAT
CTGGCACAGCGTTTTAGCATTCTGGTTCGTAACATTACCTGAAAGAAGCTCCGAT
TGATCCGATTTATGTGAACATTCTGGATGACAATAGCTACAGCACCCCTGGAAGG
TTTTAACATTAGCAGTCAGGGTAGCATGATTTCCAAGGTCAGCTGCTGAAAGCAG
CTATTTTGA AAAAATTGAAAGCAATGCCCTGCGTGCTTCATTAATAATCTGTCCG
CGTAATGGTCTGCTGTATAATGCCATTT

ATCGCAACAGCAAAAATCTGGAAGTTCTGTTTCAGGGTCCGCATCATCACCACCATC
ACCATCATCATCACCTGGAAGTGTTATTTTCAGGGACCGTATCTGAATAACATTGATC
TGGAAGATAAAAAGACCACGAGCAAAACCAATGTTAGCTATCCGTGTAGCCTGCTG
AATGGTTGTATTGAAGTTGAAAACAAAGACCTGTTCTGATTAGCAACAAAGATAG
CCTGAACGATATTAACCTGAGCGAAGAAAAAATCAAACCGGAAACCACCGTGTCT
TCAAAGATAAACTGCCTCCGCAGGATATTACGCTGAGCAATTATGATTTTACCGAAG
CCAATAGCATTCCGAGCATTAGCCAGCAGAACATTCTGGAACGTAATGAAGAACTG
TATGAACCGATTTCGCAATAGCCTGTTTGAAATCAAACCATCTATGTGGATAAGCTG
ACCACCTTTTCATTTTCTGGAAGCCCAGAATATTGATGAGAGCATTGATAGCAGCAA
ATTCGTGTTGAACTGACCGATAGCGTTGATGAAGCACTGAGCAATCCGAATAAAGTT
TATAGCCC GTTCAAGAACATGAGCAACACCATTAATAGCATTGAAACCGGTATTACC
AGCACCTACATCTTTTATCAGTGGCTGCGTAGCATCGTGAAAGATTTTATGTGATGAA
ACCGGCAAAAATCGACGTGATTGATAAAAGCAGCGATACCCTGGCAATTGTTCCGTA
TATTGGTCCGCTGCTGAATATTGGTAATGATATTTCGTCATGGCGATTTTGTGGGTGC
AATTGAACTGGCAGGCATTACCGCACTGCTGGAATATGTTCCGGAATTTACCATTCC
GATTCTGGTTGGTCTGGAAGTGATTGGTGGCGAACTGGCACGTGAACAGGTTGAAG
CAATTGTTAATAATGCCCTGGATAAACCGGATCAGAAATGGGCAGAAGTTTACAAT
ATTACCAAAGCACAGTGGTGGGGCACCATTCAATTTACAGATTAATACCCGTCTGGCC
CATACCTATAAAGCCCTGAGCCGTCAGGCAAATGCCATTAATAATGAATATGGAATTT
CAGCTGGCCAACTACAAAGGCAACATTGATGATAAAGCCAAGATCAAAAACGCCAT
CAGCGAAACCGAAATTCTGCTGAACAAAAGCGTTGAACAGGCCATGAAAAACACCG
AGAAATTCATGATTAACTGAGCAACAGCTACCTGACCAAAGAAATGATTCCGAAA
GTTTCAGGACAACCTGAAAACTTTGACCTGGAAACCAAAAAAACCTGGACAAGTT
CATCAAAGAGAAAGAAGATATCCTGGGCACCAATCTGAGCAGCAGCCTGCGTCGTA
AAGTTAGCATTTCGCTGAATAAAAAACATTGCCCTTCGACATCAACGATATCCCGTTA
GCGAATTTGATGATCTGATCAACCAGTACAAAACGAGATCGAAGATTATGAAGTG
CTGAATCTGGGTGCAGAAGATGGCAAAATCAAAGATCTGAGCGGTACAACCAGCGA
TATCAATATTGGTTTCAGATATCGAACTGGCCGATGGTTCGTGAAAAATAAAGCCATTAA
GATTAAGGCAGCGAGAACAGCACCATCAAAATTGCAATGAACAAATATCTGCGTT
TTAGCGCCACCGATAACTTTAGCATTAGCTTTTGGATCAAACATCCGAAACCGACCA
ATCTGCTTAATAACGGTATTGAATATACCCTGGTTCGAGAACTTTAATCAGCGTGGTT
GGAAAATTAGCATCCAGGATAGCAAACCTGATTTGGTATCTGCGCGATCACAATAAC
AGCATCAAAATCGTTACACCGGATTATATTGCGTTTAAATGGCTGGAACCTGATCACC
ATTACGAATAATCGTAGCAAAGGCAGCATCGTGTATGTGAATGGTAGCAAAATTGA
AGAGAAGGACATTAGCAGCATTGGAATACCGAAGTGGATGATCCGATTATCTTCC
GCCTGAAAAATAACCGTGATACCCAGGCATTTACCCTGCTGGATCAGTTTAGCATT
ATCGGAAAGAACTGAACCAGAACGAAGTGGTGAAACTGTATAACTACTACTCAAC
AGCAACTACATTCGCGATATTTGGGGTAATCCGCTGCAGTACAACAAAAATACTAT
CTGCAGACCCAGGACAAACCTGGTAAAGGTCTGATCCGCGAATATTGGAGCAGCTT
TGTTATGATTATGTGATTCTGAGCGATAGCAAGACGATTACCTTTCCGAACAATAT

CCGTTATGGTGCCCTGTATAACGGTAGCAAAGTTCTGATCAAGAACAGCAAGAAAT
 TAGATGGTCTGGTGCACAATAAAGATTTTCATTCAGCTGGAAATCGATGGCTATAATA
 TGGGTATTAGCGCAGATCGCTTTAACGAGGATACCAACTATATTGGCACCACCTATG
 GTACAACCCATGATCTGACCACCGATTTTCAAATTATTCAGCGCCAAGAGAAATACC
 GCAATTATTGTCAGCTGAAAACCCCGTATAACATCTTTCATAAAAAGCGGTCTGATGA
 GCACCGAAACCAGCAAACCGACCTTCCATGATTATCGCGATTGGGTTTATAGCAGCG
 CATGGTATTTTCAGAACTATGAAAATCTGAACCTGCGCAAACATACCAAAAACCAACT
 GGTATTTTATCCCGAAAGATGAAGGTTGGGACGAAGAT

SEQ ID NO: 46 (полипептидная последовательность BoNT с нативной петлей A1)

MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSKINKGKGPFAFQVIKNIWIVPERYNF
 TNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTNSEKDEFLOGVIKVLERIKSKPEGEKLELISSSI
 PLPLVSNALTLSDNETIAYQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEG
 TLSEVSFSPFYLPFDESYGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHELHVHVNLYGIS
 NRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKHETAKNNYTTLISERLNT
 VTVENDLLKYIKNKIPVQGRGLGNFKLDTAEFEKLNLTILFVLNESNLAQRFSILVRKHLY
 KERPIDPIYVNLDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSYFEKIESNALRAFIKICPRNG
 LLYNAIYRNSKNLEVLFGPHHHHHHHHHHLEVLFGPYLNNIDLEDKKTTSKTNVSYP
 CSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNYDFTEAN
 SIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSV
 DEALSNPNKVYSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFDSEDTGKIDVIDKSSDTL
 AIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLEVIGGELAREQVEAI
 VNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWWGTIHLQINTRAHTYKALSRQANAIKMNMEFQL
 ANYKGNIDDKAIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKVQDNL
 KNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPSEFDDLINQYK
 NEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTSINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNK
 YLRFSATDNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRDHN
 SIKIVTPDYIAFNGWNLITITNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISSIWNTVEVDDPIIFRLKNNRD
 TQAFLLDQFSIYRKELNQNEVVKLYNYYFNISNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPG
 KGLIREYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNKDFIQ
 LEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTDFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHK
 SGLMSTETSKPTFHDYRDWVYSSAWYFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED

SEQ ID NO: 47 (полипептидная последовательность трипсина)

MHPLLILAFVGAAVAFPSDDDDKIVGGYTCAENSVPYQVSLNAGYHFCGGSLIN
 DQWVVSAAHCYQYHIQVRLGEYNIDVLEGGEQFIDASKIIRHPKYSSWTLDNDILLIKLS
 TPAVINARVSTLALPSACASGSTECLISGWNTLSSGVNYPDLLQCLEAPLLSHADCEAS
 YPGEITNNMICAGFLEGGKDSQGDSSGPVACNGQLQGIVSWGYGCAQKKGKPGVYTK
 VCNYVDWIQETIAANS

SEQ ID NO: 48 (полипептидная последовательность Lys-C)

G V S G S C N I D V V C P E G N G H R D V I R S V A A Y S K Q G T M W C T G S
 L V N N S A N D K K M Y F L T A N H C G M T T A A I A S S M V V Y W N Y Q N S T C R

APGSSSSGANGDGLAQSQTGAVVRATNAASDFTLLELNTAAN
 PAYNLFWAGWDRRDQNFAGATAIHHPNVAEKRISHSTVATEIS
 GYNGATGTSHLHVFWQASGGVTEPGSSGSPISPEKRVLGQLH
 211GGPSSCSATGADRSDYYGRVFTSWTGGGTSATRLSDWLDAAG
 GTGAQFIDGLDSTGTPPV

SEQ ID NO: 49 (полипептидная последовательность легкой цепи энтерокиназы)

IVGGSDSREGAWPWVVALYFDDQVCGASLVSRDWLVSAAHCVYGRNMEPSK
 WKAVLGLH

MASNLTSPQIETRLIDQIVINRHYNKRRKNNDIAMMHLEMKVNYTDYIQICLPE
 ENQVF

PPGRICSIAGWGALIQGSTADVLEADVPLLSNEKCQQQMPEYNITENMVCAG
 YDAGGV

DSCQGDSSGGPLMCQENNRWLLAGVTSFGYQCALPNRPGVYARVPRFTEWIOSF
 LH

SEQ ID NO: 50 (полипептидная последовательность тяжелой цепи фактора Ха)

IVGGRDCAEGECPWQALLVNEENEGFCGGTILNEFYVLTAANCLHQAKRFTVRV
 GDRNTEQEEGNEMANEVEMTVKHSRFVKETYDFDIAVLRKTPIRFRNVAPACLPEKD
 WAEATLMTQKTGIVSGFGRTHEKGRLSSTLKMLEVPHYVDRSTCKLSSSFITPNMFCAG
 YDTQPEDACQGDSSGPHVTRFKDTYFVTGIVSWGEGCARKGKFGVYTKVSNFLKWIDK
 IMKARAGAAGSRGHSEAPATWTVPPPLPL

SEQ ID NO: 51 (полипептидная последовательность легкой цепи фактора Ха)

ANSFLEEVKQGNLERECLEEEACSLLEEAREVFEDAEQTDEFWSKYKDGQCEGHP
 CLNQGHCKDGIGDYTCTCAEGFEGKNCFEFSTREICSLDNGGCDQFCREERSEVRCSEAH
 GYVLGDDSKSCVSTERFPCGKFTQGRS

SEQ ID NO: 52 (полипептидная последовательность защитного антигена токсина
 сибирской язвы - NCBI Ref Seq: NP_052806)

1 mkkrrkvlipl malstilvss tgnleviqae vkqenrllne sessaqgllg yyfsdlnfqa
 61 pmvvtsttg dlsipssese nipsenqyfq saiwsgfikv kksdeytfat sadnhvtmwv
 121 ddqevinkas nsnkirlekg rlyqikiqyq renptekgld fklywtásqn kkevisssnl
 181 qlpelkqkss nsrkkrstsa gptvpdrndnd gipdsleveg ytvdvknkrt flspwisnih
 241 ekkgltkyks spekwtasd pysdfekvtg ridknvspea rhplvaaypi vhdmeniil
 301 sknedqstqn tdsqtrtisk ntstsrthts evhgnaevha sffdiggsvs agfsnsnsst
 361 vaidhsisla gertwaetmg lntadtarl n aniryvntgt apiyvnlppt slvlgkntl
 421 atikakenql sqilapnyy psknlapial naqddfsstp itmynqfle lektkqlrld
 481 tdqvygniat ynfengrvrv dtgsnwsevl pqigettari ifngkdlnlv erriaavnps
 541 dplettkpdm tlkealkiaf gfnepngnlq yqgkditefd fnfdqqtáqn iknqlaelna
 601 tniyvtldki klnakmnili rdkrfhydrn niavgadesv vkeahrevin ssteglllni
 661 dkdirkilsg yiveiedteg lkevindryd mlnisslrqd gktfidfkky ndkplyisn
 721 pnykvnvyav tkentiinps engdtstngi kkilifskky yeig

SEQ ID NO: 53 (LH_v/A с петлей активации C1)

MPFVNKQFNYPVNGVDIAYIKIPNVGQMOPVKAFKIHNKIWVIPERDFTNPE
 EGDLN

PPPEAKQVPVSYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFEIYSTDLGRMLLTSIVRGIP
 FWGG

STIDTELKVIDTNCINVIQPDGYSRSEELNLVIIGPSADIIQFECKSFGHEVLNLTRN
 GY
 GSTQYIRFSPDFTFGFEESELEVDNPLLGGAGKFATDPAVTLAHELHAGHRLYGIA
 INPN
 RVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEELRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIAS
 TLNKA
 KSIVGTTASLQYMKNVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLFKDKLYKMLTEIYTEDNF
 VKFFKV
 LNRKTYLNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTTEINNMNFT
 KLKNFT
 GLFEFYKLLCHKAIDGRSLYNKTLDCIKVNNWDLFFSPSEDNFTNDLNKGEE
 ITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIGQLELMPNIERFPN
 G
 KKYELDKYTMFHYLRAQEFHKGSRIALTNSVNEALLNPSRVYTFSSDYVKKV
 NKATEA
 AMFLGWVEQLVYDFDETSEVSTTDKIADITIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGAL
 IFSG
 AVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIANKVLTVQTIDNALSQRNEKWDEVYKYIVTN
 WLAK
 VNTQIDLIRKKMKEALENQAEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLENE
 SINKA
 MININKFLNQCSVSYLMNSMIPYGVKRLLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVD
 RLKDK
 VNNTLSTDIPFQLSKYVDNQRLSTFTEYIK
SEQ ID NO: 54 (LH_N/B с петлей активации C1)
 MPVTINNFNYNDPIDNNNIIMMEPPFARGTGRYYKAFKITDRIWIIPERYTFGYKP
 EDFN
 KSSGIFNRDVCEYYDPDYLNNTDKNIFLQTMIKLFNRIKSKPLGEKLEMIINGIP
 YLG
 DRRVPLEEFNTNIASVTVNKLISNPGEVERKKGIFANLIIFGPGPVLNENETIDIGIQ
 NH
 FASREGFGGIMQMFCPEYVSFNNVQENKGASIFNRRGYFSDPALILMHELIHV
 LHGLY
 GIKVDDLPIVPNEKKFFMQSTDAIQAEELYTFGGQDPSIITPSTDKSIYDKVLQNFR
 GIV
 DRLNKVLCISDPNININIKNFKDKYKFVEDSEGKYSIDVESFDKLYKSLMFGF
 TETN
 IAENYKIKTRASYSDSLPPVKIKNLLDNEIYTIEEGFNISDKDMEKEYRGQNKAIN
 KQA
 YEEISKEHLAVYKIQMCHKAIDGRSLYNKTLDCIDVDNEDLFFIADKNSFSDDL

KNERIEYNTQSNYIENDFPINELILDIDLISKIELPSENTESLTDNFVDVPVYEKQPAIKKIF
 TDENTIFQY
 LYSQTFPLDIRDISLTSSFDDALLFSNKVYSFFSMDYIKTANKVVEAGLFAGWVK
 QIVND
 FVIEANKSNTMDKIADISLIVPYIGLALNVGNETAKGNFENAFEIAGASILLEFIPEL
 LI
 PVVGAFLLSYIDNKNKIIKTIDNALTKRNEKWSDMYGLIVAQWLSTVNTQFYTI
 KEGMY
 KALNYQAQALEEIIKRYRNIYSEKEKSNINIDFNDINSKLEGINQAIDNINNFING
 CSV
 SYLMKKMIPLAVEKLLDFDNTLKKNLLNYIDENKLYLIGSAEYKSKVNKYLKI
 MPFDL
 SIYTNDTILIEFMFNKYN
SEQ ID NO: 55 (LH_N/D с петлей активации C1)
 MTWPVKDFNYSQVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDTNP
 SLSK
 PPRPTSKYQSYDPSYLDSTDEQKDTFLKGIKLFKRINERDIGKKLINYL VVGSPFM
 GDS
 STPEDTFDFTRHTTNAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGPLNILDYASLTLQGG
 QSN
 PSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVLGKSIFCNDPVIALMHELTHSLHQ
 LYG
 INIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGNVQFEELYTFGLDVEIIPQIERSQLREKALGHY
 KDI
 AKRLNNINKTIPSSWISNIDKYKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVIDKFNLSYDLTN
 VMSE
 VVYSSQYNVKNRTHYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTKNGFNIENSGQIE
 RNPA
 LQKLSSESVDLFTKVCHKA **IDGR**SLYNKTLDCIKVKNNRNPYVADKDSISQEIF
 ENKIITDE
 TNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKY
 VDYL
 NSYYYLESQKLSNNVENITLTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFL
 Nwane
 VVEDFTTINIMKKDITLTKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFL
 EGFP
 EFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQF
 NHIN
 YQMYDSL SYQADAIAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNN
 INKFIR

ECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRKTTELINLIDSHNILVGEVDRLKAKVNESF
ENTM
PFNIFSYTNNSELLKDIINEYFN
SEQ ID NO: 56 (LH_N/E с петлей активации C1)
MPKINSFNYPVNDRTILYIKPGGCQEFYKSFNIMKNIWIIPERNVIGTTPQDFHP
PTS
LKNGDSSYYDPNYLQSDEEKDRFLKIVTKIFNRINNNLSGGILLEELSKANPYLGN
DNTP
DNQFHIGDASAVEIKFSNGSQDILLPNVIIMGAEPDLFETNSSNISLRNNYMPSNH
RFGS
IAIVTFSPEYSFRFNDNCMNEFIQDPAL TLMHELIHSLHGLYGAKGITTKYTITQK
QNPL
ITNIRGTNIEEFLTFGGTDLNIITSAQSNDIYTNNLADYKKIASKLSKVQVSNPLLNP
YK
DVFEAKYGLDKDASGIYSVNINKFNDIFKKLYSFTEFDLRTKFQVKCRQTYIGQY
KYFKL
SNLLNDSIYNISEGYNINNLKVNFRGQANLNPRIITPITGRGLVKKIIRF
CHKA**IDGR**SLYNKTLDCIEINNGELFFVASENSYNDDNINTPKEIDDTVTSNNNYENDLD
QVILNFNSEAPGLSDEKLNLTIQNDAYIPKYDSNGTSDIEQHDVNELNVFFYLDAQKVP
EGENNVNLTSS
IDTALLEQPKIYTFSSSEFINNVNKPVQAALFVSWIQQVLVDFTEANQKSTVDKI
ADIS
IVVPYIGLALNIGNEAQKGNFKDALELLGAGILLEFPELLIPTILVFTIKSFLGSSD
NK
NKVIKAINNALKERDEKWKVEVYSFIVSNWMTKINTQFNKRKEQMYQALQNQVN
AIKTIE
SKYNSYTL EEKNELTNKYDIKQIENELNQKVSAMNNIDRFLTESSISYLMKIINEV
KIN
KLREYDENVKTYLLNYIIQHGSILGESQQELNSMVTDTLNN SIPFKLSSYTDDKILI
SYF
NKFFK
SEQ ID NO: 57 (LH_N/F с петлей активации C1)
MPVVINSFNYPVNDRTILYMQIPYEEKSKKYYKAFEIMRNVWIIPERNVIGTTPQDFHP
SDFD
PPASLENGSSAYYDPNYLTTDAEKDRYLKTTIKLFRINSNPAGEVLLQEISYAKP
YLG
EHTPINEFHPVTRTTSVNIKSSSTNVKSSIIILNLLVLGAGPDIFENSSYPVRKLMDSG
GVY
DPSNDGFGSINIVTFSPEYEYTFNDISGGYNSSTESFIADPAISLAHELIHALHGLYG
AR

GVTYKETIKVKQAPLMIAEKPIRLEEFLTFGGQDLNIITSAMKEKIYNLLANYEK
 IATR
 LSRVNSAPPEYDINEYKDYFQWKYGLDKNADGSYTVNENKFNEIYKKLYSFTEI
 DLANKF
 KVKCRNTYFIKYGFLKVPNLLDDDIYTVSEGFNIGNLAVNNRGQNIKLNPKIIDS
 PDKG
 LVEKIVKFCHKA**IDGR**SLYNKTLDCIRVNNRELFVASESSYNENDINTPKIIDD
 TNLN
 NNYRNNLDEVILDYNSETIPQISNQTNLTLVQDDSYVPRYDSNGTSEIEEHNVD
 LNVFF
 YLHAQKVPEGETNISLTSSIDTALSEESQVYTFSSFEFINTINKPVHAALFISWINQV
 IR
 DFTTEATQKSTFDKIADISLVVPYVGLALNIGNEVQKENFKEAFELLGAGILLEFV
 PELL
 IPTILVFTIKSFIGSSENKNKIIKAINNSLMERETKWKEIYSWIVSNWLTRINTQFNK
 RK
 EQMYQALQNQVDAIKTVIEYKYNNTSDERNRLESEYNINNIREELNKKVSLAM
 ENIERF
 ITESIFYLMKLINEAKVSKLREYDEGVKEYLLDYISEHRSILGNSVQELNDLVTST
 LNN
 SIPFELSSYTNDKILILYFNKLYK
SEQ ID NO: 58 (LH_N/G с петлей активации C1)
 MPVNIKXFNYNDPINDDIIMMEPFNDPGPGTYKAFRIIDRIWIVPERFTYGFQP
 DQFN
 ASTGVFSKDVYEYYDPTYLKTDAEKDKFLKTMIKLFNRINSKPSGQRLLDMIVD
 AIPYLG
 NASTPPDKFAANVANVSINKKIIQPGAEDQIKGLMTNLIIFGPGPVLSDNFTDSMI
 MNGH
 SPISEFGGARMIRFCPSCLNVFNQENKDTISFSRRAYFADPALTLMHELHVL
 HGLY
 GIKISNLPITPNTKEFFMQHSDPVQAEELYTFGGHDPSVISPSTDMNIYNKALQNF
 QDIA
 NRLNIVSSAQGSGIDISLYKQIYKNKYDFVEDPNGKYSVDKDKFDKLYKALMFG
 FTETNL
 AGEYGIKTRYSYFSEYLPPIKTEKLLDNTIYTQNEGFNIASKNLKTEFNGQNKA
 VNK
 KEAY
 EEISLEHLVIYRIAMCHKA**IDGR**SLYNKTLDCIIVNNEDLFFIANKDSFSKDLAKA
 ETIAYN
 TQNNTIENNFSIDQLILDNDLSSGIDLPNENTEPFTNFDDIDIPVYIKQSALKKIFVD
 GD

SLFEYLHAQTFPSNIENLQLTNSLNDALRNNNKVYTFSTNLVEKANTVVGASLF
 VNWVK
 GVIDDFTSESTQKSTIDKVS DVSIIPYIGPALNVGNETAKENFKNAFEIGGAAILM
 EFI
 PELIVPIVGFFTLESYVGNKGHIIMTISNALKKRDQKWTDMYGLIVSQWLSTVNT
 QFYTI
 KERMYNAL.NNQSQAIEKIFEDQYNRYSEEDKMNINIDFNDIDFKI.NQSINLA INNT
 DDFI
 NQCSISYLMNRMIPLAVKCLKDFDDNLKRDLLLEYIDTNEL YLLDEVNILKSKVNR
 HLKDS
 IPFDLSLYTKDTILIQVFNNYIS
SEQ ID NO: 59 (LH_N/TeNT с петлей активации C1)
 MPITINNFYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPE
 DFN
 PPSLIEGASEYYDPNYLRTDSDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIP
 YLGN
 SYLLDKFDTNSNSVSFNLEQDPSGATTKSAMLNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVL
 RVDN
 KNYFPCRDFGFSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQDPALLMHელი
 HVLH
 GLYGMQVSSHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKT LN
 DYK
 AIANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQKQYQFDKDSNGQYIVNEDKFQILYNSIM
 YGFTE
 IELGKKFNIKTRLSYFSMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNM
 RVNT
 NAFRNVDGSGLVSKLIGLCHKA **IDGR**SLYNKTLDCIKIKNEDLTFIAE
 KNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPNDRTPVTKGIP
 YAP
 EYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFP
 SVI
 SKVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGY
 EGN
 FIGALETTGVVLLLEYIPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVY
 K
 LVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDAIKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEI
 >NNLKN
 KLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKNILMQYIKAN
 SKFIG
 ITELKKLESKINKVFSTPIPFYSKLNDCWVDNEEDIDV

SEQ ID NO: 60 (LH_N/X с петлей активации C1)

MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSKINKGKGFPAFQVIKNIWIVPERYNFTNNT
 NDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPSEKDEFQGVIKVLERIKSKPEGEKLELLEISSIP
 LPLVSNAGALTLSNETIAYQENNNIVSNLQANLVYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEG
 TLSEVSFSFPYKPFDESYGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHELHVHTHNL YGIS
 NRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKIETAKNNYTTLISE
 RLNTVTVENDLLKYIKNKIPVQGRGLGNFKLDTAEFEKKNLTLFVLNESNLAQRFSILVR
 KHYLKERPIDPIYVNLDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQQLLESSYFEKIESNALRAFI
 KICHKA**IDGR**SLYNKTLDCIEVENKDLFLISN
 KDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELY
 EPIRNSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYSPF
 KNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLSIVKDFSEDTGKIDVIDKSSDTLAIVPYIGPLLNI
 GNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLVIGGELAREQVEAIVNNALDKRD
 QKWAEVYNITKAQWWGTIHLQINTRLAHTYKALSQRQANAIKMNMEFQLANYKGNIDD
 КАК
 IKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKVQDNLKNFDLETKKTLDK
 FIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLN
 GAEDGKIKDLSGTTSDINIGSDIE

Примеры

Материалы и способы.

Материалы.

5 мл HiTrap Butyl HP (GE#: 28411005)

5 мл HiTrap Q HP (GE#: 17-1154-01)

5-мл колонка HiTrap Phenyl HP (GE# 17-5195-01)

колонка СHT типа II (Biorad# 7324756)

ТрупZean (Sigma# T3568)

Lys-C (Sigma# 000000011047825001)

Энтерокиназа, легкая цепь (NEB#P8070)

Фактор Ха (NEB#P8010)

колонка ACQUITY UPLC Protein BEH C4 (Waters# 186004495)

Очистка белка.

Для экспрессии белков использовали BL21 (DE3) или NiCo (DE3) (NEB) E. coli. Как правило, бактерии культивировали при 37°C до индукции, температуру снижали до 16°C и экспрессию индуцировали 1 mM IPTG в течение ночи.

BoNT/AC с петлей C1 (SEQ ID NO: 13).

Бактериальный осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (50 mM Tris-HCl pH 8) посредством обработки ультразвуком и очищали центрифугированием. Концентрацию сульфата аммония доводили до 1,3 M и белок-мишень иммобилизовывали с использованием смолы Butyl HP (GE). Фракции, содержащие белок-мишень, обессоливали и наносили на смолу Q HP (GE). Очищенный белок активировали в течение ночи при 4°C посредством 6 мкг/1 мг фактора Ха BoNT (NEB) с последующей очисткой с использованием смолы Phenyl HP (GE).

BoNT/E с петлей C1 (SEQ ID NO: 11).

Бактериальные осадки разрушали в лизирующем буфере (100 mM фосфат натрия pH 7,8; 100 mM NaCl) посредством обработки ультразвуком и очищали центрифугированием. Концентрацию сульфата аммония доводили до 1,25 M и белок-мишень иммобилизовывали с использованием смолы Butyl HP (GE). Фракции, содержащие белок-мишень, обессоливали и наносили на смолу Q HP (GE). Очищенный белок активировали в течение ночи при 4°C посредством либо 5 мкг/1 мг фактора Ха (NEB) BoNT или 80 Е/мл энтерокиназы (NEB), с последующей очисткой с использованием смолы СHT типа II (Biorad).

BoNT/X (SEQ ID NO: 5).

Бактериальные осадки разрушали лизирующим буфером (50 mM Tris-HCl pH 8, 500 mM NaCl) посредством обработки ультразвуком и очищали центрифугированием. Белок-мишень улавливали с использованием колонки HiTrap HP (GE). Фракции, содержащие белок-мишень, обессоливали и наносили на смолу Q HP (GE). Очищенный белок активировали в течение ночи при 4°C посредством либо 5 мкг/1 мг фактора Ха (NEB) BoNT, либо 80 Е/1 мг энтерокиназы (NEB) BoNT, с последующей очисткой с использованием 1-мл колонки HiTrap (GE).

LC/MS.

В образцах проводили замену буфера на 50 mM бикарбонат аммония перед анализом. Образцы представляли собой либо интактный белок, либо восстановленный посредством инкубации с 10 mM DTT в течение 30 минут при 37°C. Образцы тестировали с использованием системы Waters Acquity H-Class

UPLC System в комбинации с масс-спектрометром Waters Xevo G2-XS QToF.

Подвижная фаза А 0,1% муравьиная кислота в воде

Подвижная фаза В 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле

Колонка: ACQUITY UPLC Protein BEH C4 (Waters)

Пример 1.

Петля активации VoNT/C1 может расщепляться множеством протеаз.

Неактивный VoNT/C1 (0) (SEQ ID NO: 15) инкубировали с набором протеаз: трипсин, Lys-C, энтерокиназа и фактор Ха. Все протеазы продемонстрировали расщепление в петле активации. VoNT/C1 (0) (SEQ ID NO: 15) расщепляли энтерокиназой (ЕК) или фактором Ха (FXa) в течение ночи при 4°C и 25°C. Кроме того, VoNT/C1 (0) расщепляли трипсином в течение 16 ч при 20°C (фиг. 2А, В). Все три протеазы могут расщеплять петлю активации VoNT/C1 и образовывать двухцепочечную молекулу по сравнению с контролем без обработки протеазой. Однако дополнительные продукты расщепления были заметны после расщеплением трипсином и Lys-C.

Пример 2.

Охарактеризация и улучшение протеолитической активации VoNT/X.

Частично очищенный VoNT/X-10HT дикого типа (SEQ ID NO: 34) инкубировали в течение ночи при 4°C с возрастающими количествами трипсина (TrypZean) и Lys-C, а также фактора Ха (FXa) и энтерокиназы (ЕК).

На фиг. 3 показано, что VoNT/X дикого типа деградировался посредством как Lys-C (фиг. 3А), так и трипсина (фиг. 3В, дорожки 12-13 и 15-17). Примечательно, что FXa и ЕК были неспособны активировать белок в двухцепочечной форме (фиг. 3В, дорожки 18 и 19, соответственно).

В попытках улучшить активацию VoNT/X, петлю активации VoNT/X заменяли петлей активации VoNT/C1 (SEQ ID NO: 2) с получением сконструированного белка VoNT SEQ ID NO: 5. Сконструированный VoNT очищали с использованием нескольких стадий хроматографии и обрабатывали энтерокиназой (ЕК) или фактором Ха (FXa) для подтверждения того, что присутствие петли VoNT/C позволяло продуцирование двухцепочечной молекулы. Неожиданно, на фиг. 4 показано, что ЕК и FXa специфически расщепляют сконструированным VoNT/X в двухцепочечной форме.

Пример 3.

Охарактеризация и улучшение протеолитической активации VoNT/E.

VoNT/E дикого типа расщепляли Lys-C и трипсином (TrypZean). На фиг. 5А показано, что Lys-C не точно расщепляет/деградирует VoNT/E. Обработка трипсином приводила к укорочению VoNT/E, что означает, что требовалась дополнительная стадия очистки для отделения полноразмерного белка от продукта укорочения (фиг. 5В).

В попытках улучшить активацию VoNT/E петлю активации VoNT/E заменяли на петлю активации VoNT/C1 (SEQ ID NO: 2) с получением сконструированного белка VoNT SEQ ID NO: 11. Сконструированный VoNT очищали с использованием нескольких стадий хроматографии и обрабатывали энтерокиназой (ЕК) или фактором Ха (FXa) для подтверждения того, что присутствие петли VoNT/C позволяло продуцирование двухцепочечной молекулы. На фиг. 6 показано, что ЕК и FXa неожиданно специфически расщепляют сконструированный VoNT/E на двухцепочечную форму.

Пример 4.

Протеолитическая активация химеры VoNT/A1C1.

Петлю VoNT/C вносили в химеру VoNT/A1C1 (LH_N/A1 с H_C-доменом C1) для облегчения протеолитической активации белка. Петлю активации VoNT/A1 VoNT/A1C1 заменяли петлей VoNT/C1 с получением сконструированного белка VoNT SEQ ID NO: 13. Сконструированный VoNT очищали с использованием нескольких стадий хроматографии и обрабатывали фактором Ха (FXa) для подтверждения того, что присутствие петли VoNT/C позволяло продуцирование двухцепочечной молекулы. На фиг. 7А показано, что FXa специфически расщепляет сконструированный VoNT/A1C1 на двухцепочечную форму. Для целей сравнения Met VoNT/A1 дикого типа (коммерчески доступный от Metabiolabs A1080116), содержащий петлю активации A1, инкубировали с FXa и ЕК. На фиг. 7В показано, что FXa не расщепляет петлю активации A1, в то время как ЕК расщепляет только с минимальной активностью, и как FXa, так и ЕК приводит к образованию дополнительных ненадлежащих продуктов расщепления (продуктов деградации).

Пример 5.

VoNT, содержащие петлю C1, сохраняют активность расщепления SNARE

Первичные кортикальные нейроны крысы обрабатывали в течение 24 ч посредством VoNT/A1C1 (SEQ ID NO: 13) согласно примеру 4, содержащего петлю активации VoNT/C1 и очищенный рекомбинантный VoNT/C1 (SEQ ID NO: 17). SNARE-зависимое высвобождение глутамата из клеток, стимулированных хлоридом калия, измеряли после инкубации (фиг. 8). Эти данные подтверждают активность кластридиальных нейротоксинов, модифицированных включением петли активации VoNT/C1.

Пример 6.

Фактор Ха и энтерокиназа расщепляют петлю активации VoNT/C в том же участке IDGR↓SL.

Очищенный VoNT/E, содержащий петлю VoNT/C1 (SEQ ID NO: 11) активировали протеазами либо

энтерокиназой, либо фактором Ха, и инкубировали с 10 мМ DTT для восстановления дисульфидных мостиков и разделения легкой и тяжелой цепей. Анализ посредством жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии массы интактного белка проводили на образцах сконструированного BoNT/E с восстановлением и без восстановления (SEQ ID NO: 11) для картирования участков расщепления обеих протеаз. Обе протеазы расщепляли BoNT/E с образованием легкой и тяжелой цепей одного размера, что указывает на то, что как энтерокиназа, так и фактор Ха осуществляет расщепление в одном и том же участке (табл. 1).

Таблица 1

Сравнение спрогнозированных и измеренных масс сконструированного BoNT/E (SEQ ID NO: 11) после расщепления участка IDGR↓SL в С-петле. Масса тяжелой цепи указывает на расщепление в заданном участке как посредством, так и фактора Ха

	Спрогнозированная теоретическая масса [Да]	Наблюдаемая масса после расщепления ЕК [Да]	Наблюдаемая масса после расщепления FХа [Да]
интактная молекула	143952	143853 (фиг.9)	143850 (фиг.11)
Легкая цепь	47633	47518 (фиг.10)	47518 (фиг.12)
Тяжелая цепь	96337	96338 (фиг.10)	96335 (фиг.12)

Сравнительный пример 7.

Вставка участка распознавания протеазой в эндогенную петлю.

Петля активации BoNT/C1 является единственной петлей активации BoNT, которая содержит встречающийся в природе участок расщепления для специфической протеазы FХа (и неожиданно ЕК) (см. фиг. 1). Все другие петли расщепляют неспецифическими протеазами, такими как трипсин или Lys-C. Расщепление посредством Lys-C и трипсина часто приводит к нежелательному укорочению белка, поскольку участок расщепления определяется доступностью протеазы, а не конкретной последовательностью распознавания.

Природные петли активации из различных серотипов эволюционировали, чтобы обеспечить доступность для протеазы и процессировать токсин в двухцепочечную форму посредством Clostridium. Без связи с теорией полагают, что мутация этих петель с образованием участка распознавания протеазой может приводить к конформационным изменениям, которые могут негативно влиять на эффективность расщепления.

Для тестирования этой гипотезы полипептид, имеющий легкую цепь и домен транслокации BoNT/A1 (LH_N/A1), модифицировали включением последовательности распознавания протеазой ЕК DDDDK (SEQ ID NO: 44). Эффективность протеолитического расщепления модифицированного LH_N/A1 посредством ЕК оценивали и сравнивали с расщеплением петли активации A1 дикого типа посредством Lys-C (следует отметить, что благодаря отсутствию участков распознавания ЕК в петле дикого типа не является возможным прямое сравнение с использованием ЕК). На фиг. 13 показано, что расщепление модифицированной петли является значительно менее эффективным, чем расщепление петли дикого типа.

Пример 8.

Протеолитическая активация химеры BoNT/XA.

Получали химеру BoNT/XA, содержащую легкую цепь и домен транслокации BoNT/X, связывающий домен BoNT/A1, и петлю активации BoNT/C1 (SEQ ID NO: 7). На фиг. 14 показано, что после активации посредством FХа продуцировалась двухцепочечная сконструированная химера BoNT/XA.

Пример 9.

Протеолитическая активация химеры BoNT/XB.

Получали химеру BoNT/XB, содержащую легкую цепь и домен транслокации BoNT/X, связывающий домен BoNT/B, и петлю активации BoNT/C1 (SEQ ID NO: 9). На фиг. 15 показано, что после активации FХа продуцировалась двухцепочечная форма сконструированной химеры BoNT/XB.

Все публикации, упомянутые в приведенном выше описании, включены в настоящее описание в качестве ссылки. Различные модификации и изменения описанных способов и систем по настоящему изобретению станут очевидными специалистам в данной области без отклонения от объема и сущности настоящего изобретения. Хотя настоящее изобретение описано применительно к конкретным предпочтительным вариантам осуществления, следует понимать, что заявленное изобретение не должно чрезмерно ограничиваться такими конкретными вариантами осуществления. Действительно, подразумевается, что различные модификации описанных способов осуществления изобретения, которые являются очевидными в области биохимии и биотехнологии или родственных областях, входят в объем прилагаемой ниже формулы изобретения.

Перечень последовательностей

<110> ИПСЕН БИОФАРМ ЛИМИТЕД

<120> КЛОСТРИДИАЛЬНЫЕ НЕЙРОТОКСИНЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭКЗОГЕННУЮ ПЕТЛЮ АКТИВАЦИИ

<130> P59901EA-RCT

<140> EA202190889

<141> 2019-09-27

<150> GB1815817.0

<151> 2018-09-28

<160> 81

<170> Патентная версия 3.5

<210> 1

<211> 31

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Консенсусная последовательность петли активации C1

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (2)..(2)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (3)..(3)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (4)..(4)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (5)..(5)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (6)..(6)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (7)..(7)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (8)..(8)

<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (9)..(9)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (10)..(10)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (11)..(11)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (13)..(13)
<223> Хаа представляет собой Asp или Glu

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (16)..(16)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (17)..(17)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (18)..(18)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (19)..(19)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (20)..(20)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (21)..(21)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (22)..(22)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (23)..(23)
<223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>

<221> УЧАСТОК
 <222> (24)..(24)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
 <221> УЧАСТОК
 <222> (25)..(25)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
 <221> УЧАСТОК
 <222> (26)..(26)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
 <221> УЧАСТОК
 <222> (27)..(27)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
 <221> УЧАСТОК
 <222> (28)..(28)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
 <221> УЧАСТОК
 <222> (29)..(29)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<220>
 <221> УЧАСТОК
 <222> (30)..(30)
 <223> Хаа представляет собой любую аминокислоту и присутствует или отсутствует

<400> 1

Cys Хаа Ile Хаа Gly Arg Хаа
 1 5 10 15

Хаа Cys
 20 25 30

<210> 2
 <211> 17
 <212> БЕЛОК
 <213> Clostridium botulinum

<400> 2

Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp
 1 5 10 15

Cys

<210> 3
 <211> 17
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариант петли активации C1

<400> 3

Cys His Lys Ala Ile Glu Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp
1 5 10 15

Cys

<210> 4

<211> 3891

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/X с петлей активации C1

<400> 4

atgaaactgg aatcaaca aaatcaactac aacgatccga tcgatggcat taatgttatt 60
accatgcgtc cgcctcgtca tagcgataaa atcaataaag gtaaaggctc gttcaaagcc 120
ttcaggtga ttaaaaacat ttgattgtg ccggaacgct acaactttac caataatacc 180
aacgatctga acattccgag cgaaccgatt atggaagcag atgccattta taaccggaac 240
tatctgaata ccccagcgca aaaagatgaa ttctgcagg gtgttatcaa agtgctggaa 300
cgcattaata gcaaacggga aggtgaaaaa ctgctggaac tgattagcag cagcattccg 360
ctgccgctgg ttagcaatgg tgcactgacc ctgagcgata atgaaacat tgcataatca 420
gagaacaaca acattgtgag caatctgcag gcaaacctgg ttatttatgg tccgggtcct 480
gatattgcaa ataatgcaac ctatggtctg tatagcacc cgattagtaa tgggaaaggt 540
aactgagcg aagttagctt tagcccgttt tatctgaaac cgttgatga aagctatggc 600
aattatcgtg gcctgggtaa tatcgtgaac aaatctgta aacgtgaatt tgcacctgat 660
ccggcaagca ccctgatgca tgaactggtt catgttacc ataactgta tggattagc 720
aaccgcaact tctactataa ctttgacacc ggcaaaattg aaaccagccg tcagcagaat 780
agcctgattt tgaagaact gctgacctt ggtggcattg atagcaaacg aattagcagc 840
ctgatcatca agaaaattat cgaaacgcc aagaacaact ataccacgct gattagcga 900
cgctgaata ccgttaccgt tgaaatgat ctgctgaaat atatcaaaaa caaatccc 960
gttcagggtc gtctgggtaa cttaaacgt gataccgcag aatcgagaa aaagctgaat 1020
accattctgt ttgtgctgaa cgaagcaat ctggcacagc gtttagcat tctggtcgt 1080
aaacattacc tgaagaacg tccgattgat ccgattatg tgaacattct ggatgacaat 1140

agctacagca ccttgaaggg ttttaacatt agcagtcagg gtagcaatga ttccaaggt 1200
cagctgctgg aaagcagcta tttgaaaaa attgaaagca atgccctgcg tgcctttatc 1260
aaaatttgc ataaagccat tgatggtcgc agcctgtata acaaaaccct ggattgtatt 1320
gaggtggaaa acaaaagacct gtttctgatt agcaacaaag atagcctgaa cgatattaac 1380
ctgagcgaag aaaaaatcaa accggaaacc accgtgttct tcaaagataa actgcctccg 1440
caggatatta cgctgagcaa ttatgatttt accgaagcca atagcattcc gagcattagc 1500
cagcagaaca ttctggaacg taatgaagaa ctgtatgaac cgattcgcaa tagcctgttt 1560
gaaatcaaaa ccatctatgt ggataagctg accaccttc attttctgga agcccagaat 1620
attgatgaga gcattgatag cagcaaaatt cgtgttgaac tgaccgatag cgttgatgaa 1680
gcactgagca atccgaataa agtttatagc cgttcaaga acatgagcaa caccattaat 1740
agcattgaaa ccggtattac cagcacctac atctttatc agtggctgcg tagcatcgtg 1800
aaagatttta gtgatgaac cggcaaaatc gacgtgattg ataaaagcag cgataccctg 1860
gcaattgttc cgtatattgg tccgctgctg aatattggtg atgatattcg tcatggcgat 1920
tttgggggtg caattgaact ggcaggcatt accgcactgc tggaaatgt tccggaattt 1980
accattccga ttctggttgg tctggaagtt attggtggcg aactggcacg tgaacaggtt 2040
gaagcaattg ttaataatgc cctggataaa cgcgatcaga aatgggcaga agtttacaat 2100
attaccaag cacagtgggtg gggcaccatt catttacaga ttaatacccg tctggcccat 2160
acctataaag ccctgagccg tcaggcaaat gccattaaaa tgaatatgga atttcagctg 2220
gccaactaca aaggcaacat tgatgataaa gccaaatca aaaacgccat cagcgaacc 2280
gaaattctgc tgaacaaaag cgttgaacag gccatgaaaa acaccgagaa attcatgatt 2340
aaactgagca acagctacct gaccaaagaa atgattccga aagttcagga caacctgaaa 2400
aactttgac tggaaaccaa aaagaccctg gacaagtca tcaaagagaa agaagatatac 2460
ctgggcacca atctgagcag cagcctgctg cgtaaagtta gcattcgtct gaataaaaac 2520
attgccttcg acatcaacga tatcccgttt agcgaatttg atgatctgat caaccagtac 2580
aaaaacgaga tcgaagatta tgaagtgcgt aatctgggtg cagaagatgg caaaatcaaa 2640
gatctgagcg gtacaaccag cgatatcaat attggttcag atacgaact ggccgatggt 2700
cgtgaaaata aagcgattaa gattaaagc agcgagaaca gcaccatcaa aattgcaatg 2760
aacaatatc tgcgttttag cgcgaccgat aactttagca ttagcttttg gatcaaacat 2820
ccgaaaccga ccaatctgct taataacggt attgaaatata ccctggtcga gaactttaat 2880
cagcgtggtt ggaaaattag catccaggat agcaaaactga tttggtatct gcgcatcac 2940
aataacagca tcaaaatcgt tacaccggat tatattgcgt ttaatggctg gaacctgatt 3000

047022

accattacaa acaatcgtag caaaggcagc atcgtgtatg ttaacggtag caaaattgaa 3060
gagaaggaca ttagcagcat ttggaatacc gaagtggatg atccgattat ctccgcctg 3120
aaaaataacc gtgataccca ggcatttacc ctgctggatc agtttagcat ttatcgcaa 3180
gaactgaacc agaacgaagt ggtgaaactg tataactact acttcaacag caactacatt 3240
cgcgatattt ggggtaatcc gctgcagtac acaaaaaat actatctgca gaccaggac 3300
aaacctggta aaggtctgat ccgcgaatat tggagcagct ttggtatga ttatgtgatt 3360
ctgagcgata gcaagacat tacctttccg aataatatcc gttatggtgc cctgtataat 3420
ggtagcaaag tgctgatcaa gaacagcaaa aaactggatg gtctggtgcg caataaagat 3480
ttcattcagc tggaatcga tgctataat atgggtatta gcgcagatcg cttaacgag 3540
gataccaact atattggcac cacctatggt acaacccatg atctgaccac cgattttgaa 3600
attattcagc gccaaagaaa ataccgcaat tattgtcagc tgaaaacccc gtataacatc 3660
ttcataaaa gcggtctgat gagcaccgaa accagcaaac cgacctcca tgattatcgc 3720
gattgggttt atagcagcgc atggtatttt cagaactatg aaaatctgaa cctgcgcaa 3780
catacaaaa ccaactggta tttatcccg aaagatgaag gttgggatga agatctggaa 3840
gtgctgttc agggctccga tcatcaccac catcaccatc atcatcactg a 3891

<210> 5

<211> 1296

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/X с петлей активации C1

<400> 5

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile

85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu
420 425 430

Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe
435 440 445

Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu
450 455 460

Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro
465 470 475 480

Gln Asp Ile Thr Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile
485 490 495

Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr
500 505 510

Glu Pro Ile Arg Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp
515 520 525

Lys Leu Thr Thr Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser
530 535 540

Ile Asp Ser Ser Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu
545 550 555 560

Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser
565 570 575

Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe

580 585 590

Tyr Gln Trp Leu Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly
595 600 605

Lys Ile Asp Val Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro
610 615 620

Tyr Ile Gly Pro Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp
625 630 635 640

Phe Val Gly Ala Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr
645 650 655

Val Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly
660 665 670

Gly Glu Leu Ala Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu
675 680 685

Asp Lys Arg Asp Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala
690 695 700

Gln Trp Trp Gly Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His
705 710 715 720

Thr Tyr Lys Ala Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met
725 730 735

Glu Phe Gln Leu Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys
740 745 750

Ile Lys Asn Ala Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val
755 760 765

Glu Gln Ala Met Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn
770 775 780

Ser Tyr Leu Thr Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys
785 790 795 800

Asn Phe Asp Leu Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu
805 810 815

Lys Glu Asp Ile Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys
820 825 830

Val Ser Ile Arg Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile
835 840 845

Pro Phe Ser Glu Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile
850 855 860

Glu Asp Tyr Glu Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys
865 870 875 880

Asp Leu Ser Gly Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu
885 890 895

Leu Ala Asp Gly Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu
900 905 910

Asn Ser Thr Ile Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala
915 920 925

Thr Asp Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr
930 935 940

Asn Leu Leu Asn Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn
945 950 955 960

Gln Arg Gly Trp Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr
965 970 975

Leu Arg Asp His Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile
980 985 990

Ala Phe Asn Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys
995 1000 1005

Gly Ser Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp
1010 1015 1020

Ile Ser Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe
1025 1030 1035

Arg Leu Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp
1040 1045 1050

Gln Phe Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val
1055 1060 1065

Lys Leu Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile

1070 1075 1080

Trp Gly Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr
1085 1090 1095

Gln Asp Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser
1100 1105 1110

Phe Gly Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr
1115 1120 1125

Phe Pro Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys
1130 1135 1140

Val Leu Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn
1145 1150 1155

Lys Asp Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile
1160 1165 1170

Ser Ala Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr
1175 1180 1185

Tyr Gly Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln
1190 1195 1200

Arg Gln Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr
1205 1210 1215

Asn Ile Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys
1220 1225 1230

Pro Thr Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp
1235 1240 1245

Tyr Phe Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys
1250 1255 1260

Thr Asn Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp
1265 1270 1275

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro His His His His His His His
1280 1285 1290

His His His
1295

<210> 6
<211> 3993
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ВоNT/ХА [LHNХ-НСА] с петлей активации С1

<400> 6
atgaaactgg aaatcaасаа атсаастас аасгатссга тсгатгсгат таатгтатт 60
accatgcgtc cgcctcgtca tagcgataaa atcaataааg gtaaаggтсс gttcaаagcc 120
ttcaggтга tтаааасат ttggattgtg ссggaacгct асаactttac саатаатасс 180
aacgatctga acattccgag cgaaccgatt atggaagcag atgccattta таасссгаас 240
tatctgaata cccccagcga aaaagatgaa ttctgcagg gtgttatcaа агтгсгггаа 300
cgattaaaa gcaaacггга аггггааааа ctgctggaac tgattagcag cagcattccg 360
ctgccgctgg ttagcaatgg tgcactgacc ctgagcgata atgaaacat tgcatatcaа 420
gagaacaaca acattgtgag caatctgcag gcaaacctgg ttatttatgg tccgggtcct 480
gatattgcaа атаатгсаас ctatggctg tatagcaccс cgattagtaа tgтгаaggт 540
acactgagcg aagttagctt tagccccgtt tatctgaaac cgtttgatga aagctatggc 600
aattatcgta gctggtgaa tatctggaac aaattcgtga aacgtgaatt tgcacctgat 660
ccggcaagca ccctgatgca tgaactggtt catgtfacc атаатсгта tggтattagc 720
aaccgcaact tctactataa ctttgacacc ggcaaaattg aaaccagccg tcagcagaat 780
agcctgattt ttgaaгаact gctgacctt ggtggcattg atagcaаagc aattagcagc 840
ctgatcatca agaaaattat cgaaacггсс агаасаас ataccagct gattagcgaa 900
cgctgaata ccgtaccgt tgaaatgat ctgctgaaat atataaaaa caaaatcccг 960
gttcagggtc gtctgggtaa cttaaacгg gataccgсag aattcgagaa aaagctgaat 1020
accattctgt ttgtgctgaa cgaagcaat ctggcacagc gttttagcat tctggtcgt 1080
aaacattacc tgaagaacг tccgattgat ccgatttat tgaacattct ggatgacaat 1140
agctacagca ccctggaagg tttaacatt агсagтсagг gtagcaatga tttcagggc 1200
cagctgctgg aaagcagcta tttgaaaaa атгаатсса atgcgctgсg tgcctttatc 1260
aaaattgtc атааagccat tгатгггсгс агссггтата асаааасссг ggattgtatt 1320
gaagtggaaa асааagacct gttcctgatt агсаатааг atagcctgaa cгатatcaac 1380
ctgagcgaag аааааатсаа accggaaacc accgtttct tcaagataa actgcctccг 1440
caggatatta ccctgagcaа ttatgattt accgaagcca atagcattcc gagcattagc 1500
cagcagaaca ttctggaacг таатгаагаа ctgtatgaac cгатtcgcaа tagcctgttt 1560

gaaatcaaaa ccactctatgt ggataagctg accacctttc atttctgga agcccagaat 1620
 attgatgaga gcattgatag cagcaaaatt cgtgttgaac tgaccgatag cgttgatgaa 1680
 gcactgagca atccgaataa agtttatagc ccgttcaaga acatgagcaa caccattaat 1740
 agcattgaaa ccggtattac cagcacctac atctttatc agtggctgcg tagcatcgtg 1800
 aaagatttta gtgatgaaac cggcaaaatc gacgtgattg ataaaagcag cgataccctg 1860
 gccattgttc cgtatattgg tccgctgctg aatattggta atgatattcg tcatggcgat 1920
 tttgtgggtg caattgaact ggcaggcatt accgcactgc tggaaatgt tccggaattt 1980
 accattccga ttctggttgg tctggaagtt attggtggcg aactggcacg tgaacagggt 2040
 gaagcaattg ttaataatgc cctggataaa cgcatcaga aatgggcaga agtttacaat 2100
 attacaaaag cacagtggg gggcaccatt catttacaga ttaatacccg tctggcccat 2160
 acctataaag ccctgagccg tcaggcaaat gccattaata tgaatatgga attcagctg 2220
 gccaactaca aaggcaacat tgatgataaa gccaagatca aaaacgccat cagcgaacc 2280
 gaaattctgc tgaacaaaag cgttgaacag gccatgaaaa acaccgagaa atcatgatt 2340
 aaactgagca acagctacct gaccaaagaa atgattccga aagttcagga caacctgaaa 2400
 aactttgatc tggaaaccaa aaagaccctg gacaagtca tcaaagagaa agaagatata 2460
 ctgggcacca atctgagcag cagcctgctg cgtaaagta gcattcgtct gaataaaaac 2520
 attgccttcg acatcaacga tatcccgttt agcgaattg atgatctgat caaccgtac 2580
 aaaaacgaga tcgaagatta tgaagtctg aatctgggtg cagaagatgg caaaatcaaa 2640
 gatctgagcg gtacaaccag cgatattaac atggtagcg atatcgaat catcaacacc 2700
 agcattctga atctgcgcta tgaagcaat catctgattg atctgagccg ttatgcgtcc 2760
 aaaatcaata ttggcagcaa agtgaatttc gaccgatcg ataaaaatca gatccagctg 2820
 tttaatctgg aaagetccaa aattgaggtg attctgaaaa acgcgattgt gtacaatagc 2880
 atgtatgaga attttcaac cagcttctgg attcgattc cgaataactt taacagcacc 2940
 agcctgaaca acgagtatac cattatcaac tgcattgaaa acaatagcgg ttgaaaagt 3000
 agcctgaatt atggtgaaat tatctggacc ctgcaggata cccaagaaat caaacagcgt 3060
 gttgtgttca aatacagcca gatgattaac atcagcgatt acattaaccg ctggatcttt 3120
 gttaccatta ccaacaatcg cctgaataac agcaagatct atattaacgg tcgtctgatt 3180
 gaccagaaac cgattagtaa tctgggtaat atcatgcca gcaacaacat catgttcaaa 3240
 ctggatgggt gtcgtgatac ccactgttat atttgatca agtattttaa cctgtttgat 3300
 aaagaactga acgaaaaaga aattaaggat ctgtatgata accagtccaa tagcggcacc 3360
 ctgaaggatt ttgggggiga ttatctgcag tatgacaaac cgtattatat gctgaacctg 3420

tacgatccga acaaatatgt ggatgtgaat aatgtgggta tccgtggcta tatgtatctg 3480
 aaaggtccgc gggtagcgt tatgaccacc aacatttacc tgaatagcag cctgtatcgt 3540
 ggcaccaaat tcatcatcaa aaaatacgcc agcggcaaca aagataatat tgtgcgtaat 3600
 aatgaccgcg tgtatatcaa tgtgggtggg aagaataaag aatattctct ggcaaccaat 3660
 gcaagccagg caggcgtga aaaaattctg agcgcactgg aatcccggga tgtgggtaat 3720
 ctgagccagg ttgtgttat gaaaagcaaa aatgatcagg gcatcaccaa caagtcaaaa 3780
 atgaatctgc aggacaataa cggcaacgac attggtttta ttggcttca ccagtttaac 3840
 aacattgcca aactgggtgc gagcaattgg tataatctgc agattgaac tagcagtcgt 3900
 accctgggtt gtagctggga atttattccg gttgatgatg gttgggggtga acgtccgctg 3960
 catcatcacc accatcacca tcaccacat taa 3993

<210> 7

<211> 1330

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/XA [LHNX-HCA] с петлей активации C1

<400> 7

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
 1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
 20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
 35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
 50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
 65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr

370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu
420 425 430

Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe
435 440 445

Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu
450 455 460

Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro
465 470 475 480

Gln Asp Ile Thr Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile
485 490 495

Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr
500 505 510

Glu Pro Ile Arg Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp
515 520 525

Lys Leu Thr Thr Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser
530 535 540

Ile Asp Ser Ser Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu
545 550 555 560

Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser
565 570 575

Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe
580 585 590

Tyr Gln Trp Leu Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly
595 600 605

Lys Ile Asp Val Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro
610 615 620

Tyr Ile Gly Pro Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp
625 630 635 640

Phe Val Gly Ala Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr
645 650 655

Val Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly
660 665 670

Gly Glu Leu Ala Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu
675 680 685

Asp Lys Arg Asp Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala
690 695 700

Gln Trp Trp Gly Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His
705 710 715 720

Thr Tyr Lys Ala Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met
725 730 735

Glu Phe Gln Leu Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys
740 745 750

Ile Lys Asn Ala Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val
755 760 765

Glu Gln Ala Met Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn
770 775 780

Ser Tyr Leu Thr Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys
785 790 795 800

Asn Phe Asp Leu Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu
805 810 815

Lys Glu Asp Ile Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys
820 825 830

Val Ser Ile Arg Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile
835 840 845

Pro Phe Ser Glu Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile
850 855 860

Glu Asp Tyr Glu Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys

865 870 875 880

Asp Leu Ser Gly Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu
885 890 895

Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu
900 905 910

Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val
915 920 925

Asn Phe Asp Pro Ile Asp Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu
930 935 940

Ser Ser Lys Ile Glu Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser
945 950 955 960

Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr
965 970 975

Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met
980 985 990

Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile
995 1000 1005

Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val Phe
1010 1015 1020

Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp
1025 1030 1035

Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile
1040 1045 1050

Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu
1055 1060 1065

Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly
1070 1075 1080

Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu
1085 1090 1095

Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr Asp
1100 1105 1110

Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr
1115 1120 1125

Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro
1130 1135 1140

Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met
1145 1150 1155

Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr
1160 1165 1170

Leu Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys
1175 1180 1185

Tyr Ala Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg
1190 1195 1200

Val Tyr Ile Asn Val Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala
1205 1210 1215

Thr Asn Ala Ser Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu
1220 1225 1230

Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys
1235 1240 1245

Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu
1250 1255 1260

Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln
1265 1270 1275

Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg
1280 1285 1290

Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu Phe
1295 1300 1305

Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu His His His
1310 1315 1320

His His His His His His His
1325 1330

<210> 8

<211> 4017

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВоNT/ХВ [LHNX-НСВ] с петлей активации С1

<400> 8

atgaaactgg aatcaасаа атсааctac aacgatccga tcgatggcat таатgttatt 60
accatgcgtc cgcctcgtca tagcgataаа atcaataааg gtaaаgtcc gttcaаagcc 120
ttcaggtga ttaаааcat ttgattgtg ccggaacgt acaacttac саатаатcc 180
aacgatctga acattccgag cgaaccgatt atggaagcag atgccattta таaccсgaac 240
tatctgaata ccccгagcga ааааgatgaa ttctgcagg gtgttatcaа agtgctggaa 300
cgattаааа gcaaacсgga aggtgааааа ctgctggaac tgattagcag cagcattccg 360
ctgccgtgg ttagcaatgg tgcactgacc ctgagcgata atgaaacct tgcatacaа 420
gagaacaаа аattgtgag caatctgcag gcaaacctgg ttatttatgg tccgggtcct 480
gatattgcaа атаатgcaac ctatggctg tatagcacc cgattagtaа tggtgaaggт 540
acactgagcg aagttagctt tagcccgtt ttctgaaac cgtttgatga aagctatggc 600
aattatcgta gcctgggtaa tатctgaaс ааattcgtga aacgtgaatt tgcacctgat 660
ccggcaagca ccctgatgca tgaactggт catgtfacc атаатctgta tggтattagc 720
aaccgcaact tctactataа cttgacacc ggcaaaattg ааaccagccg tcagcagaat 780
agcctgatt ttgaaгаact gctgacctt ggtggcattg atagcaаagc aattagcagc 840
ctgatcatca agaaаattat cgaaacсgcc аагаааact ataccagct gattagcgaa 900
cgctgaata ccgtfaccgt tgaаaatgat ctgctgaaat atatcaаааа caаaatcccg 960
gttcagggtc gtctgggtaa ctftaaactg gataccgcag aattcgagaa ааagctgaat 1020
accattctgt ttgtgctgaa cgaаagcaat ctggcacagc gttttagcat tctggttcgt 1080
aaacattacc tgaаagaacg tccgattgat ccgattatg tgaacattct ggatgacaat 1140
agctacagca ccctggaagg tttaacatt agcagtcagg gtagcaatga tttcagggc 1200
cagctgctgg ааagcagcta tttgааааа атgаатca atgcgctgcg tgcctttatc 1260
aaaattgtc атааagccat tгатggtcgc agcctgtata аcaaaaccct ggattgtatt 1320
gaagtggaaa аcaаagacct gttctgatt agcaataааg atagcctgaa cgatatcaac 1380
ctgagcgaag аааааatcaа accggaaacc accgtttct tcaаagataа actgcctccg 1440
caggatatta ccctgagcaа ttatgattt accgaagcca atagcattcc gagcattagc 1500
cagcagaаа ttctggaacg таатgаага ctgtatgaaс cgattcgaa tagcctgttt 1560
gaaatcaааа ccатctatgt ggataagctg accaccttc atttctgga agcccagaat 1620

attgatgaga gcattgatag cagcaaaatt cgtgtgaac tgaccgatag cgttgatgaa 1680
gcactgagca atccgaataa agttfatagc ccgtcaaga acatgagcaa caccattaat 1740
agcattgaaa ccggtattac cagcacctac atctttatc agtggctgcg tagcatcgtg 1800
aaagatttta gtgatgaaac cggcaaaatc gacgtgattg ataaaagcag cgataccctg 1860
gccattgttc cgtatattgg tccgctgctg aatattggta atgatattcg tcatggcgat 1920
tttggggtg caattgaact ggcaggcatt accgcactgc tggaaatgt tccggaattt 1980
accattccga ttctgggtgg tctggaagtt attggtggcg aactggcacg tgaacaggtt 2040
gaagcaattg tfaataatgc cctggataaa cgcgatcaga aatgggcaga agttacaat 2100
attaccaaag cacagtggtg gggcaccatt cattacaga ttaatacccg tctggcccat 2160
acctataaag ccctgagccg tcaggcaaat gccattaaaa tgaatatgga attcagctg 2220
gccaactaca aaggcaacat tgatgataaa gccaagatca aaaacgccat cagcgaacc 2280
gaaattctgc tgaacaaaag cgttgaacag gccatgaaaa acaccgagaa attcatgatt 2340
aaactgagca acagctacct gaccaaagaa atgattccga aagttcagga caacctgaaa 2400
aactttgatc tggaaaccaa aaagaccctg gacaagtca tcaaagagaa agaagatac 2460
ctgggcacca atctgagcag cagcctgctg cgtaaagtta gcattcgtct gaataaaaac 2520
attgccttcg acatcaacga tatcccgttt agcgaatttg atgatctgat caaccgtac 2580
aaaaacgaga tcgaagatta tgaagtctg aatctgggtg cagaagatgg caaaatcaa 2640
gatctgagcg gtacaaccag cgatattaac atggtagcg atacgaaat cctgaacaac 2700
attattctga acctgcgcta taaagataac aacctgattg atctgagtgg ctatggtgca 2760
aaagttgaag ttatgatgg tgtggaactg aacgacaaaa accagttcaa actgaccagc 2820
agcgcaaaft caaaaattcg cgtfaccag aaccagaaca tcattttaa cagcgtgttt 2880
ctggattca gcgtgagctt ttgattcgtt attccgaaat ataagaacga cggcatccag 2940
aactatacc acaatgaata taccatcadc aactgcatga agaataacag cggttgaaa 3000
attagcatcc gtggcaatcg tattatttgg acctgatcg atattaatgg caaaaccaag 3060
agcgtgtttt tcgagtataa catccgtgaa gatatcagcg aatacatcaa ccgttggttt 3120
tttggacca ttaccaacaa tctgaacaac gccaaaatct acattaacgg caaactggaa 3180
agcaacaccg atacaaga tattcgtgaa gtgattgcca acggcgagat tatctttaaa 3240
ctggatggtg atattgatcg caccagttt attggatga aatactcag catctcaac 3300
accgaactga gccagagcaa tattgaagaa cgctataaaa tccagagcta cagcgagtat 3360
ctgaaagact tttggggtaa tccgctgatg tacaacaaag aatactacat gttaatgcc 3420
gtaacaaaa acagctatat caaactgaaa aaggatagtc cgggggtgga aattctgacc 3480

047022

cgtagcaaat ataaccagaa tagcaagtat atcaactatc gcgatctgta catcgcgag 3540
aaattatca ttctgctaa aagcaactcc cagagcatta acgatgatat tgtgcgcaa 3600
gaggattaca tctacctgga tttttcaac ctgaatcaag agtggcgtgt gtacacctat 3660
aagtacttca aaaaagaaga aatgaaactg tttctggcac cgatctatga tagcgacgaa 3720
ttttacaata ccattcagat taaagaatat gatgaacagc cgacctatag ctgtcagctg 3780
ctgtttaaaa aggatgaaga aagcacggat gaaattggcc tgattggtat ccatcgttt 3840
tatgaaagcg gcatcgtgtt cgaagagtac aaagattatt tctgcatcag caaatggtat 3900
cttaaagagg tgaacgcaa accgtataat ctgaaactgg gttgcaattg gcagttcatc 3960
ccgaaagatg aaggttgac cgaacatcat caccaccatc accatcatca tcaactga 4017

<210> 9

<211> 1338

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/XB [LHNX-НСВ] с петлей активации C1

<400> 9

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn

130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu
420 425 430

Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe
435 440 445

Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu
450 455 460

Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro
465 470 475 480

Gln Asp Ile Thr Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile
485 490 495

Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr
500 505 510

Glu Pro Ile Arg Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp
515 520 525

Lys Leu Thr Thr Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser
530 535 540

Ile Asp Ser Ser Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu
545 550 555 560

Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser
565 570 575

Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe
580 585 590

Tyr Gln Trp Leu Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly
595 600 605

Lys Ile Asp Val Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro
610 615 620

Tyr Ile Gly Pro Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp

625 630 635 640

Phe Val Gly Ala Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr
645 650 655

Val Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly
660 665 670

Gly Glu Leu Ala Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu
675 680 685

Asp Lys Arg Asp Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala
690 695 700

Gln Trp Trp Gly Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His
705 710 715 720

Thr Tyr Lys Ala Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met
725 730 735

Glu Phe Gln Leu Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys
740 745 750

Ile Lys Asn Ala Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val
755 760 765

Glu Gln Ala Met Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn
770 775 780

Ser Tyr Leu Thr Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys
785 790 795 800

Asn Phe Asp Leu Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu
805 810 815

Lys Glu Asp Ile Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys
820 825 830

Val Ser Ile Arg Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile
835 840 845

Pro Phe Ser Glu Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile
850 855 860

Glu Asp Tyr Glu Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys
865 870 875 880

Asp Leu Ser Gly Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu
885 890 895

Ile Leu Asn Asn Ile Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Lys Asp Asn Asn Leu
900 905 910

Ile Asp Leu Ser Gly Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val
915 920 925

Glu Leu Asn Asp Lys Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser
930 935 940

Lys Ile Arg Val Thr Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Val Phe
945 950 955 960

Leu Asp Phe Ser Val Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn
965 970 975

Asp Gly Ile Gln Asn Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys
980 985 990

Met Lys Asn Asn Ser Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile
995 1000 1005

Ile Trp Thr Leu Ile Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe
1010 1015 1020

Phe Glu Tyr Asn Ile Arg Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg
1025 1030 1035

Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Leu Asn Asn Ala Lys Ile
1040 1045 1050

Tyr Ile Asn Gly Lys Leu Glu Ser Asn Thr Asp Ile Lys Asp Ile
1055 1060 1065

Arg Glu Val Ile Ala Asn Gly Glu Ile Ile Phe Lys Leu Asp Gly
1070 1075 1080

Asp Ile Asp Arg Thr Gln Phe Ile Trp Met Lys Tyr Phe Ser Ile
1085 1090 1095

Phe Asn Thr Glu Leu Ser Gln Ser Asn Ile Glu Glu Arg Tyr Lys
1100 1105 1110

Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Pro

1115 1120 1125

Leu Met Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly Asn Lys
1130 1135 1140

Asn Ser Tyr Ile Lys Leu Lys Lys Asp Ser Pro Val Gly Glu Ile
1145 1150 1155

Leu Thr Arg Ser Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr
1160 1165 1170

Arg Asp Leu Tyr Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser
1175 1180 1185

Asn Ser Gln Ser Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr
1190 1195 1200

Ile Tyr Leu Asp Phe Phe Asn Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr
1205 1210 1215

Thr Tyr Lys Tyr Phe Lys Lys Glu Glu Met Lys Leu Phe Leu Ala
1220 1225 1230

Pro Ile Tyr Asp Ser Asp Glu Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys
1235 1240 1245

Glu Tyr Asp Glu Gln Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys
1250 1255 1260

Lys Asp Glu Glu Ser Thr Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His
1265 1270 1275

Arg Phe Tyr Glu Ser Gly Ile Val Phe Glu Glu Tyr Lys Asp Tyr
1280 1285 1290

Phe Cys Ile Ser Lys Trp Tyr Leu Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro
1295 1300 1305

Tyr Asn Leu Lys Leu Gly Cys Asn Trp Gln Phe Ile Pro Lys Asp
1310 1315 1320

Glu Gly Trp Thr Glu His His His His His His His His His
1325 1330 1335

<210> 10

<211> 3762

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/E с петлей активации C1

<400> 10

atgccgaaaa tcaactcttt caactacaac gaccgggta acgaccgtac catcctgtat 60
atcaaaccgg gtgggtgcca ggagttctac aaatcttca acatcatgaa aaacatctgg 120
atcatcccg g aacgtaactg tatecgtacc accccgcagg acttccacc gccgacctct 180
ctgaaaaacg gtgactcttc ttactacgac ccgaactacc tccagtctga cgaagaaaa 240
gaccgtttcc tgaaaatcgt taccaaaatc ttcaaccgta tcaacaaca cctgtctggt 300
ggtatcctgc tggagaact gtctaaagct aaccgtacc tgggtaacga caacaccgg 360
gacaaccagt tccacatcgg tgacgttct gctgtgaaa tcaattctc taacggttct 420
caggacatcc tgcgccgaa cgttatcacc atgggtgctg aaccggacct gtcgaaacc 480
aactcttca acatctctc gcgtaacaac tacatgccgt ctaaccagg ttcggttct 540
atcgctatcg ttactctc tccggaatac tcttccgtt tcaacgaca cagcatgaac 600
gagttcatcc aggaccggc tctgacctg atgcaccaac tgatctattc tctgcacggt 660
ctgtacggtg ctaaaggat caccacaaa tacacatca cccagaaaca gaaccgctg 720
atcaccaaca tccgtggtac caacatcgaa gagttctga cctcgggtgg taccgacctg 780
aacatcatca cctctgctca gtctaacgac atctacacca acctgctgge tgactacaaa 840
aaaatcgtt ctaaactgtc taaagtcag gtttctaacc cgctgctgaa cccgtacaaa 900
gacgttttcg aagctaaata cggctggac aaagacgctt ctggtatcta ctctgtaac 960
atcaacaaat tcaacgacat ctcaaaaaa ctgtactctt tcaccgagt cgacctggcg 1020
accaaaatcc aggttaaatg ccgtcagacc tacatcggtc agtacaata ctcaaaactg 1080
tctaacctgc tgaacgactc tatctacaac atctctgaag gtacaacat caacaactg 1140
aaagttaact tccgtggtca gaacgctaac ctgaaccgc gtatcatcac cccgatcacc 1200
ggctcgtggtc tggtaaaaa aatcatccgt ttctgccaca aagcgattga tggccgctct 1260
ctctataaca aaacgctgga ttgcatcga atcaacaacg gtgaactggt ctctgtgct 1320
tctgaaaact cttaacaaga cgacaacatc aacaccgca aagaatcga cgacaccgtt 1380
acctetaaca acaactacga aaacgacctg gaccaggta tctgaactt caactctgaa 1440
tctgtccgg gtctgtctga cgaaaaactg aacctgacca tccagaacga cgcttacatc 1500
ccgaaatag actctaaccg tacctctgac atcgaacagc acgacgtaa cgaactgaac 1560
gtttcttct acctggacgc tcagaaagt ccggaagggtg aaaacaactg taacctgacc 1620
tctctatcg acaccgctct gctggaacag ccgaaaatct acacctctt ctctctgag 1680

ttcatcaaca acgftaaca accggtcag gctgctctgt tcgtttcttg gattcagcag 1740
gttctgggtg actcaccac cgaagctaac cagaaatcta ccgtgacaa aatcgtgac 1800
atctctatcg ttgtccgta catcggtctg gctctgaaca tcggtaacga agctcagaaa 1860
ggtaacttca aagacgctct ggaactgctg ggtgctggta tctgctgga gttcgaaccg 1920
gaactgctga tcccgacct cctggtttc accatcaaat ctttctggg ttcttctgac 1980
aacaaaaaca aagtatcaa agctatcaac aacgctctga aagaactga cgaaaaatgg 2040
aaagaagttt actcttcat cgtttctaac tggatgacca aatcaacac ccagttcaac 2100
aaacgtaaag aacagatga ccaggctctc cagaaccagg ttaacgctat caaaaccatc 2160
atcgaatcta aatacaactc ttacacctg gaagaaaaaa acgaactgac caacaaatac 2220
gacatcaaac agatcgaaaa cgaactgaac cagaaagttt ctatcgtat gaacaacatc 2280
gaccgtttcc tgaccgaatc ttctatctct tacctgatga aactcatcaa cgaagttaa 2340
atcaacaac tgcgtgaata cgacgaaac gtaaaacct acctgctgaa ctacatc 2400
cagcacggtt ctatcctggg tgaatctcag caggaactga actctatggt taccgacacc 2460
ctgaacaact ctatccggtt caaactgtct tcttacaccg acgacaaaat cctgatctct 2520
tacttcaaca aattcttaa acgcattaag agttcatcgg ttctgaatat gcggtacaaa 2580
aatgataaat atgtcgatc ttctggatg gatagcaata tcaacattaa cggcgactg 2640
tataaatc cgacaataa aaaccagttt gggatatata acgacaagct gtcggaggtc 2700
aatattctc aaaacgacta tatcattac gataataat ataaaaact tagcattagt 2760
ttttgggtc gtatacctaa ttatgacaat aaaattgtaa atgtgaataa cgagtatacc 2820
attataaact gtatgcgca caataacagt ggttgaaggg tctgctgaa ccataatgag 2880
attatctgga ccctgcagga taatgcaggt ataaaccaga aactggctt taactatgga 2940
aacgcaatg ggatctcaga ttacattaat aatggattt ttgttaccat tacgaacgat 3000
cgcttagcg actcaaaact ttatattaat ggcaatctga tagatcagaa atcaatctta 3060
aatttggca atattcatgt ctctgataac atctgttca agatcgttaa ttgcagttac 3120
actcgttata ttggcattc ttaacttaat atctcagata aagaactgga cgagacggaa 3180
atccagactc tttattcaaa cgagcccaat actaatatat tgaagattt ttgggtaac 3240
tatctttat atgataaaga atactatctc ctgaatgtat tgaagccaaa caatttcata 3300
gatagacgca aggatagcac attaatgata aacaatatca gatctactat actgttagca 3360
aatcgctct actccggtat taaagtgaag attcagcggg ttaataactc cagtaccaat 3420
gataatctg tccgtaagaa cgatcaggtat tacatcaatt tcgtcgcgag caaaactcat 3480
ctcttcccgc ttacgccga tacagctacg acaacaagg aaaaaacct aaaaattcc 3540

agctccgaa acagattcaa tcaagtagtt gtaatgaact ctgtgggtaa taattgtacg 3600
 atgaacttta agaataacaa tgggaacaat attggacttt tgggcttcaa agccgacaca 3660
 gtgtgtggcgt ccacctggta ttacacgcac atgcgggacc atacgaattc gaacggttgc 3720
 ttctggaact ttatctcgga agaacacggg tggcaagaaa aa 3762

<210> 11

<211> 1254

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВоNT/E с петлей активации C1

<400> 11

Met Pro Lys Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp Arg
 1 5 10 15

Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Glu Phe Tyr Lys Ser
 20 25 30

Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
 35 40 45

Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
 50 55 60

Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys
 65 70 75 80

Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn
 85 90 95

Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
 100 105 110

Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp
 115 120 125

Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu
 130 135 140

Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
 145 150 155 160

Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
 165 170 175

Gly Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
180 185 190

Arg Phe Asn Asp Asn Ser Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
195 200 205

Thr Leu Met His Gln Leu Ile Tyr Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
210 215 220

Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
225 230 235 240

Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
245 250 255

Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
260 265 270

Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
275 280 285

Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
290 295 300

Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
305 310 315 320

Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu
325 330 335

Phe Asp Leu Ala Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
340 345 350

Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
355 360 365

Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
370 375 380

Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
385 390 395 400

Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys His Lys Ala Ile
405 410 415

Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Glu Ile Asn

420 425 430

Asn Gly Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn Asp Asp
435 440 445

Asn Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser Asn Asn
450 455 460

Asn Tyr Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn Ser Glu
465 470 475 480

Ser Ala Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile Gln Asn
485 490 495

Asp Ala Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp Ile Glu
500 505 510

Gln His Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp Ala Gln
515 520 525

Lys Val Pro Gly Glu Glu Asn Asn Val Asn Leu Thr Ser Ser Ile Asp
530 535 540

Thr Ala Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Glu
545 550 555 560

Phe Ile Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe Val Ser
565 570 575

Trp Ile Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn Gln Lys
580 585 590

Ser Thr Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro Tyr Ile
595 600 605

Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn Phe Lys
610 615 620

Asp Ala Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Glu Pro
625 630 635 640

Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe Leu
645 650 655

Gly Ser Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn Asn Ala
660 665 670

Leu Lys Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe Ile Val
675 680 685

Ser Asn Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys Glu
690 695 700

Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Ile Lys Thr Ile
705 710 715 720

Ile Glu Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn Glu Leu
725 730 735

Thr Asn Lys Tyr Asp Ile Lys Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn Gln Lys
740 745 750

Val Ser Ile Ala Met Asn Asn Ile Asp Arg Phe Leu Thr Glu Ser Ser
755 760 765

Ile Ser Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn Lys Leu
770 775 780

Arg Glu Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr Ile Ile
785 790 795 800

Gln His Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn Ser Met
805 810 815

Val Thr Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser Ser Tyr
820 825 830

Thr Asp Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe Lys Arg
835 840 845

Ile Lys Ser Ser Ser Val Leu Asn Met Arg Tyr Lys Asn Asp Lys Tyr
850 855 860

Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asp Ser Asn Ile Asn Ile Asn Gly Asp Val
865 870 875 880

Tyr Lys Tyr Pro Thr Asn Lys Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Asn Asp Lys
885 890 895

Leu Ser Glu Val Asn Ile Ser Gln Asn Asp Tyr Ile Ile Tyr Asp Asn
900 905 910

Lys Tyr Lys Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro Asn Tyr

915 920 925

Asp Asn Lys Ile Val Asn Val Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys
930 935 940

Met Arg Asp Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn His Asn Glu
945 950 955 960

Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Asn Ala Gly Ile Asn Gln Lys Leu Ala
965 970 975

Phe Asn Tyr Gly Asn Ala Asn Gly Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys Trp
980 985 990

Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asp Ser Lys Leu Tyr
995 1000 1005

Ile Asn Gly Asn Leu Ile Asp Gln Lys Ser Ile Leu Asn Leu Gly
1010 1015 1020

Asn Ile His Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Asn Cys
1025 1030 1035

Ser Tyr Thr Arg Tyr Ile Gly Ile Arg Tyr Phe Asn Ile Phe Asp
1040 1045 1050

Lys Glu Leu Asp Glu Thr Glu Ile Gln Thr Leu Tyr Ser Asn Glu
1055 1060 1065

Pro Asn Thr Asn Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu
1070 1075 1080

Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr Leu Leu Asn Val Leu Lys Pro Asn Asn
1085 1090 1095

Phe Ile Asp Arg Arg Lys Asp Ser Thr Leu Ser Ile Asn Asn Ile
1100 1105 1110

Arg Ser Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg Leu Tyr Ser Gly Ile Lys
1115 1120 1125

Val Lys Ile Gln Arg Val Asn Asn Ser Ser Thr Asn Asp Asn Leu
1130 1135 1140

Val Arg Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Phe Val Ala Ser Lys
1145 1150 1155

Thr His Leu Phe Pro Leu Tyr Ala Asp Thr Ala Thr Thr Asn Lys
1160 1165 1170

Glu Lys Thr Ile Lys Ile Ser Ser Ser Gly Asn Arg Phe Asn Gln
1175 1180 1185

Val Val Val Met Asn Ser Val Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn Phe
1190 1195 1200

Lys Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe Lys Ala
1205 1210 1215

Asp Thr Val Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His Met Arg Asp
1220 1225 1230

His Thr Asn Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile Ser Glu Glu
1235 1240 1245

His Gly Trp Gln Glu Lys
1250

<210> 12

<211> 3867

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/A1C1 с петлей активации C1

<400> 12

atgccattcg tcaacaagca attcaactac aaagaccag tcaacggcgt cgacatcgca 60
tacctcaaga ttcegaagc cggtaaagt cagccgggta aggcttttaa gatccacaac 120
aagatttggg ttatccgga gcgtgacacc ttcacgaacc cggaagaagg cgatctgaac 180
ccgccaccgg aagcaagca agtccctgtc agctactacg attcgacgta cctgagcagc 240
gataacgaaa aagataacta cctgaaaggt gtgaccaagc tgttcgaacg tatctacagc 300
acggatctgg gtcgcatgct gctgactagc atgttcgcg gtatcccgtt ctggggtggt 360
agcacgattg acaccgaact gaaggttatc gacactaact gcattaactg tattcaaccg 420
gatgtagct atcgtagcga agagctgaat ctggtcatca ttggcccag cgagacatt 480
atccaatcg agtgcaagag ctttggtcac gaggttctga atctgaccg caatggctat 540
ggtagcacc agtacattcg ttttcgccg gattttacct tcggcttga agagacctg 600
gaggttgata ccaatccgtt gctgggtgcg ggcaaatcg ctaccgatcc ggctgtcacg 660
ctggcccatg aactgatcca cgcaggccac gcctgtacg gcattgcat caaccaaac 720

cgtgtgttca aggttaatac gaatgcatac tacgagatga gcggcctgga agtcagcttc 780
 gaagaactgc gcaccttcgg tggccatgac gctaaattca ttgacagctt gcaagagaat 840
 gagttccgtc tgtactacta taacaaattc aaagacattg caagcacgtt gaacaaggcc 900
 aaaagcatcg ttggtactac cgcgctgtg cagtatatga agaattgtt taaagagaag 960
 tacctgtgt cegaggatac ctccggcaag tttagcgtg ataagctgaa gtttgacaaa 1020
 ctgtacaaga tgctgaccga gatttacacc gaggacaact ttgtgaaatt ctcaaagt 1080
 ttgaatcgt aacctatct gaattttgac aaagcggtt tcaagattaa catcgtgcc 1140
 aaggtgaact acaccatcta tgacggttt aacctgcgta acaccaacct ggcggcgaac 1200
 ttaacggtc agaatacga aatcaacaac atgaattca cgaagttaa gaacttcacg 1260
 ggtctgttc agttctataa gctgctgtc cacaagcga ttgatggccg ctctctctat 1320
 aacaaaacgc tgattgcat taaggtaaac aattgggac tgttctttc gccatccga 1380
 gataattta ccaacgacct gaacaagggt gaagaaatca ccagcgatac gaatttgaa 1440
 gcagcgggaag agaatatcag cctggatctg atccagcagt actatctgac cttaactc 1500
 gacaatgaac cggagaacat tagcattgag aatctgagca gcgacattat cggtcagctg 1560
 gaactgatgc cgaatatcga acgtttccg aacggcaaaa agtacgagct ggacaagtac 1620
 actatgttc attacctgcg tgcacaggag ttgaacacg gtaaaagccg tatcgcgtg 1680
 accaacagcg ttaacgagc cctgtgaac ccgagccgtg tctatacct cttcagcagc 1740
 gactatgta agaaagtga caaagccact gaggccgca tgttctggg ctgggtgga 1800
 cagctggtat atgactcac ggacgagac agcgaagtga gcactaccga caaattgct 1860
 gatattacca tcattatccc gtatttggc cggcactga acattggca catgctgtac 1920
 aaagacgatt ttgtgggtgc cctgatctc tccgggtccg tgattctgt ggagttcatt 1980
 ccggagattg cgatcccggt gttgggtacc ttgcgctgg tgcctacat cgcgaataag 2040
 gttctgacgg ttcagaccat cgataacgcg ctgtcgaac gtaatgaaa atgggacgag 2100
 gttfacaat acattgttac gaattggctg gcgaaagtca ataccagat cgacctgatc 2160
 cgtaagaaa tgaagaggc gctggagaat caggcggagg ccaccaaac aattatcaac 2220
 taccaataca accagtacac ggaagaagag aagaataaca ttaactcaa tatcgatgat 2280
 ttgacgagca agctgaatga atctatcaac aaagcgatga tcaatatca caagttttg 2340
 aatcagtgtg gcgttcgta cctgatgaat agcatgatt cgtatggcgt caaacgtctg 2400
 gaggacttcg acgccagcct gaaagatgcg ttgctgaaat acatttacga caatcgtgtg 2460
 acgctgattg gccaaagtga ccgctgaaa gacaaagtta acaatacct gagcaccgac 2520
 atcccattc aactgagca gtagttgat aatcaacgtc tgttgagcac ttcaccgag 2580

047022

tatatcaaaa acattaatga cagcaaaatt ctgagcctgc agaatcgtaa gaatacgtg 2640
gtagatacca gtggatataa tgcggaagtc tcagaagagg gtgatgtaca gctgaacccg 2700
atctttccgt tcgactttaa actggggctct agtgggtgaag atcgcggtaa agtgatcgtt 2760
acccaaaacg agaacattgt gtataacagc atgtacgaga gtttctcaat ttctttctgg 2820
attcgcatca ataaatgggt ttctaattg cctggctata ccatcattga tagcgtcaaa 2880
aacaactcgg gctggtcgat tggcattatt agcaacttc tgggtttac cctgaaacag 2940
aatgaggatt cggaacagag cattaactc tctacgaca tcagcaacaa tgcaccaggg 3000
tatacaaat ggttcttctg aacgggtgacg aacaatatga tgggcaatat gaaaatctac 3060
attaacggga aacttatcga caccataaa gtgaaagagc ttactgggat caattttagt 3120
aaaaccatta cctttgagat caacaaaatt ccggacacgg gtctgattac ctccgattcg 3180
gataatatca atatgtggat tcgcgacttt tatactctcg ccaaagaact tgatggcaaa 3240
gatatacaaa tttgttttaa ttcctcgag tataccaatg tcgtaagga ctattggggc 3300
aatgatctcc gctacaataa agaatactac atggtaaca tcgactatct caatcgctac 3360
atgtatgcta actcgcgca aattgtgtt aacacacgtc gtaacaacaa cgattttaa 3420
gaaggttata aatcattat caaacggatc cgcggcaata cgaacgatac tcgtgttcgt 3480
ggcggtgaca ttctgtatt cgacatgacg attaataata aagcgtacaa tetgttcattg 3540
aagaacgaaa ccatgtacgc cgataacat tccactgaag atatctacgc aatcgactt 3600
cgcgaacaga ccaaagacat taacgacaac atcatcttc agattcaacc gatgaataat 3660
acctactact atgcctcca gatctcaaa agtaattca acggcgaaaa catttcaggc 3720
attgtctcaa tcggcactta tcggttccgg ttaggtggtg attggtatcg tcacaactac 3780
cttgttccca cagtgaacaa aggeaactat gcatcgctct tagaaagcac atctacgcat 3840
tggggttttg tgccagtcag tgaataa 3867

<210> 13

<211> 1288

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/A1C1 с петлей активации C1

<400> 13

Met Pro Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
1 5 10 15

Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Ala Gly Gln Met Gln Pro
20 25 30

Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
35 40 45

Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
50 55 60

Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
65 70 75 80

Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
85 90 95

Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100 105 110

Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115 120 125

Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130 135 140

Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile
145 150 155 160

Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165 170 175

Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180 185 190

Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195 200 205

Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210 215 220

Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn
225 230 235 240

Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245 250 255

Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260 265 270

Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn

275 280 285

Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290 295 300

Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305 310 315 320

Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu
325 330 335

Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
340 345 350

Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
355 360 365

Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Lys Val Asn Tyr
370 375 380

Thr Ile Tyr Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn
385 390 395 400

Phe Asn Gly Gln Asn Thr Glu Ile Asn Asn Met Asn Phe Thr Lys Leu
405 410 415

Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys His Lys
420 425 430

Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Lys
435 440 445

Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe Ser Pro Ser Glu Asp Asn Phe Thr
450 455 460

Asn Asp Leu Asn Lys Gly Glu Glu Ile Thr Ser Asp Thr Asn Ile Glu
465 470 475 480

Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu
485 490 495

Thr Phe Asn Phe Asp Asn Glu Pro Glu Asn Ile Ser Ile Glu Asn Leu
500 505 510

Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu Glu Leu Met Pro Asn Ile Glu Arg
515 520 525

Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu Leu Asp Lys Tyr Thr Met Phe His
530 535 540

Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Glu His Gly Lys Ser Arg Ile Ala Leu
545 550 555 560

Thr Asn Ser Val Asn Glu Ala Leu Leu Asn Pro Ser Arg Val Tyr Thr
565 570 575

Phe Phe Ser Ser Asp Tyr Val Lys Lys Val Asn Lys Ala Thr Glu Ala
580 585 590

Ala Met Phe Leu Gly Trp Val Glu Gln Leu Val Tyr Asp Phe Thr Asp
595 600 605

Glu Thr Ser Glu Val Ser Thr Thr Asp Lys Ile Ala Asp Ile Thr Ile
610 615 620

Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Gly Asn Met Leu Tyr
625 630 635 640

Lys Asp Asp Phe Val Gly Ala Leu Ile Phe Ser Gly Ala Val Ile Leu
645 650 655

Leu Glu Phe Ile Pro Glu Ile Ala Ile Pro Val Leu Gly Thr Phe Ala
660 665 670

Leu Val Ser Tyr Ile Ala Asn Lys Val Leu Thr Val Gln Thr Ile Asp
675 680 685

Asn Ala Leu Ser Lys Arg Asn Glu Lys Trp Asp Glu Val Tyr Lys Tyr
690 695 700

Ile Val Thr Asn Trp Leu Ala Lys Val Asn Thr Gln Ile Asp Leu Ile
705 710 715 720

Arg Lys Lys Met Lys Glu Ala Leu Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys
725 730 735

Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn
740 745 750

Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser
755 760 765

Ile Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Lys Phe Leu Asn Gln Cys Ser

770 775 780

Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met Ile Pro Tyr Gly Val Lys Arg Leu
785 790 795 800

Glu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Lys Asp Ala Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr
805 810 815

Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Lys
820 825 830

Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr
835 840 845

Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys Asn
850 855 860

Ile Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys Asn Thr Leu
865 870 875 880

Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu Gly Asp Val
885 890 895

Gln Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly Ser Ser Gly
900 905 910

Glu Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn Ile Val Tyr
915 920 925

Asn Ser Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Arg Ile Asn
930 935 940

Lys Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp Ser Val Lys
945 950 955 960

Asn Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe Leu Val Phe
965 970 975

Thr Leu Lys Gln Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn Phe Ser Tyr
980 985 990

Asp Ile Ser Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe Phe Val Thr
995 1000 1005

Val Thr Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr Ile Asn Gly
1010 1015 1020

Lys Leu Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr Gly Ile Asn
1025 1030 1035

Phe Ser Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile Pro Asp Thr
1040 1045 1050

Gly Leu Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met Trp Ile Arg
1055 1060 1065

Asp Phe Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys Asp Ile Asn
1070 1075 1080

Ile Leu Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val Lys Asp Tyr
1085 1090 1095

Trp Gly Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Val Asn
1100 1105 1110

Ile Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser Arg Gln Ile
1115 1120 1125

Val Phe Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn Glu Gly Tyr
1130 1135 1140

Lys Ile Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn Asp Thr Arg
1145 1150 1155

Val Arg Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr Ile Asn Asn
1160 1165 1170

Lys Ala Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met Tyr Ala Asp
1175 1180 1185

Asn His Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu Arg Glu Gln
1190 1195 1200

Thr Lys Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile Gln Pro Met
1205 1210 1215

Asn Asn Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys Ser Asn Phe
1220 1225 1230

Asn Gly Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly Thr Tyr Arg
1235 1240 1245

Phe Arg Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr Leu Val Pro

1250 1255 1260

Thr Val Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu Ser Thr Ser
1265 1270 1275

Thr His Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu
1280 1285

<210> 14

<211> 3878

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВоNT/C1(0) (эндонегативная)

<400> 14

atgccgatca cgattaataa ttcaactat agcgatccgg tggacaataa gaatattctg 60

tatctggata ctcatctgaa tacgctggct aacgaaccgg agaaagcgtt ccgcatcaca 120

ggcaacatct gggttattcc cgatcgcttt tcacgcaaca gcaaccctaa tctgaacaaa 180

cctcctcgtg tcaccagtcc taaatccggt tattacgacc caaactatct gactacggat 240

agcgataaag atccccttct gaaagagatc attaagctgt tcaaacgcat taactctcgc 300

gaaattgggg aagagctgat ctatcggctt tcgacagata tcccgttccc aggtaacaat 360

aataccccga ttaactttt cgactttgat gttgattca attctgtgga tgtgaaaacg 420

cgtcaaggca ataattgggt gaaaactggt agcattaacc cgagtgtaat taccacaggt 480

ccccgtgaga acatcatcga cccggaacc tctacctca agctgacgaa caacacgttt 540

gctgcacagg aagggtttgg tgcctgtca atcattcca ttcaccgcg tttcatgta 600

acctactcca atgccacaaa tgatgttggc gaaggacggt ttagcaaatc agaattttgc 660

atggacccaa ttctcattct gatgggcaag ctgaacaatg cgatgcacaa cttgtatggc 720

attgctattc caaacgatca aaccattagc tccgttacca gtaatatctt ctatagccag 780

tataatgta aattggagta tggcgaatt tacgcctttg gaggcccgac cattgacctg 840

attccgaaat ctgcacgcaa atactctgaa gaaaaggcgt tagattacta tcgcagcatc 900
gcgaaacgcc tgaactcgat taccacggcc aatccgtcgt cgttcaacaa atacattggt 960

gaatataaac agaaactgat tcgcaaatat cggttgtcg tagaaagctc tggtaagtg 1020

actgtaaacc gcaacaaatt tgcgaactc tacaacgagt tgaccacaaat ctttaccgag 1080

tftaactacg caaagatcta taacgtacag aaccgcaaga tttatcttag caatgtatac 1140

acaccggta ctgcgaacat cttagacgac aatgtgtatg atattcagaa tggctttaac 1200

atcccgaaat caaatctgaa cgttctgttt atgggccaga acctgagtcg taatccagca 1260

ctgcgtaaag tgaacccgga aaatatgctc tacttgftta ccaaatttg ccacaaagcg 1320
attgatggcc gctctctcta taacaaaacg ctggattgctc gtgagtfact tgtgaagaac 1380
actgatttac cgttcattgg ggatatctcc gacgtgaaaa ccgatatctt cctgcgcaaa 1440
gacattaatg aagaacgga agtcatctat taccccgaca atgtgagcgt tgatcagctc 1500
atfttatcga agaacacctc cgaacatggt cagttggatt tgctgtaccc tagcattgac 1560
tcggagagtg aaatcctcc gggcgaaaat caagtgttt acgacaaccg tacccaaat 1620
gttgattatt tgaattctta ttactacctg gaatctcaga aattgagcga caatgtggaa 1680
gatttcacgt tcacacgctc cattgaggaa gcgctggata atagcgcgaa agtgatacag 1740
tattcccta ccttggcgaa taaagtaaat gctggtgtcc agggaggctt atttctgatg 1800
tggcgaaatg atgtgtaga agattttacg accaatattt tgcgtaagga caccttagat 1860
aaaattagcg atgttagcgc catcatcccc tatattggcc cagcactgaa tatctgaac 1920
tctgtcgcgc gcggaaactt caccgaagca tttgcggtga ccggggttac tattctgtt 1980
gaagcctttc cggagtttac tattccggcg ctgggtgcgt ttgtgattta ttcgaaagta 2040
caagaacgca atgaaattat caaaaccatc gataattgcc tggacaacg cattaaacgc 2100
tggaaaggatt cttatgaatg gatgatgggc acctggttat cccgtattat cacacagttt 2160
aacaacatct cgtatcagat gtacgattca ctgaactacc aagcaggggc gatcaaagcc 2220
aagatcgact tagaatacaa gaaatattca ggtagcgata aagagaatat taaaagccag 2280
gttgaaaacc tgaagaactc tctggatgctc aaaatttcag aggctatgaa caacattaac 2340
aaatttatcc gcgaatgtag cgtcacgtat ctgttataaa acatgctccc gaaagtgatt 2400
gatgagctca acgagtttga tcgcaacaca aaggccaaac tgattaacct gattgatagt 2460
cacaatatta ttttagtcgg tgaagttgac aagctgaagg ctaaggtcaa taacagcttt 2520
cagaacacta ttccgtttaa tattttctcc tatacgaaca atagtctgct gaaagacatt 2580
atcaacgaat acttcaacaa tattaatgac agcaaaatc tgagcctgca gaatcgtaag 2640
aatacgtctg tagataccag tggatataat gcggaagtct cagaagaggg tgatgtacag 2700
ctgaaccgca tcttccgtt cgactttaa ctgggttcta gtggtgaaga tcgcggtaaa 2760
gtgatcgfta ccaaaaacga gaacattgtg tataacagca tgtacgagag tttctcaatt 2820
tctttctgga ttcgcatcaa taaatgggtt tctaatttgc ctggctatac catcattgat 2880
agcgtcaaaa acaactcggg ctggtcgatt ggcaattata gcaacttct ggtgtttacc 2940
ctgaaacaga atgaggattc ggaacagagc attaacttct cctacgacat cagcaacaat 3000
gcaccagggt ataacaatg gttcttcgta acggtgacga acaatatgat gggcaaatg 3060
aaaactaca ttaacgggaa acttatcgac accattaag tgaagagct tactgggatc 3120

047022

aattttagta aaaccattac ctttgagatc aacaaaattc cggacacggg tctgattacc 3180
tccgattcgg ataatatcaa tatgttgatt cgcgactttt atatcttcgc caaagaactt 3240
gatggcaaag atatcaacat tttgttfaat tccctgcagt ataccaatgt cgtaaggac 3300
tattggggca atgatctccg ctacaataaa gaatactaca tggtaacat cgactatctc 3360
aatcgctaca tgtatgctaa ctccgctcaa attgtgttta acacacgtcg taacaacaac 3420
gattttaacg aaggttataa aatcattatc aaacggatcc gggcaatac gaacgatact 3480
cgtgttcgtg gcggtgacat tctgtatttc gacatgacga ttaataataa agcgtacaat 3540
ctgttcatga agaacgaaac catgtacgcc gataaccatt ccaactgaaga tatctacgca 3600
atcggacttc gcgaacagac caaagacatt aacgacaaca tcacttttca gattcaaccg 3660
atgaataata cctactacta tgccctcccag atcttcaaaa gtaattcaa cggcgaaaac 3720
atctcagca tttgtcaat cggcacttat cggttccggt taggtggtga ttggtatcgt 3780
cacaactacc ttgtcccac agtgaacaaa ggcaactatg catcgtctt agaaagcaca 3840
tctacgcatt ggggtttgt gccagtcagt gaataatg 3878

<210> 15

<211> 1291

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/C1(0) (эндогенативная)

<400> 15

Met Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asp Asn
1 5 10 15

Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Asp Thr His Leu Asn Thr Leu Ala Asn Glu
20 25 30

Pro Glu Lys Ala Phe Arg Ile Thr Gly Asn Ile Trp Val Ile Pro Asp
35 40 45

Arg Phe Ser Arg Asn Ser Asn Pro Asn Leu Asn Lys Pro Pro Arg Val
50 55 60

Thr Ser Pro Lys Ser Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Ser Thr Asp
65 70 75 80

Ser Asp Lys Asp Pro Phe Leu Lys Glu Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
85 90 95

Ile Asn Ser Arg Glu Ile Gly Glu Glu Leu Ile Tyr Arg Leu Ser Thr

100 105 110

Asp Ile Pro Phe Pro Gly Asn Asn Asn Thr Pro Ile Asn Thr Phe Asp
115 120 125

Phe Asp Val Asp Phe Asn Ser Val Asp Val Lys Thr Arg Gln Gly Asn
130 135 140

Asn Trp Val Lys Thr Gly Ser Ile Asn Pro Ser Val Ile Ile Thr Gly
145 150 155 160

Pro Arg Glu Asn Ile Ile Asp Pro Glu Thr Ser Thr Phe Lys Leu Thr
165 170 175

Asn Asn Thr Phe Ala Ala Gln Glu Gly Phe Gly Ala Leu Ser Ile Ile
180 185 190

Ser Ile Ser Pro Arg Phe Met Leu Thr Tyr Ser Asn Ala Thr Asn Asp
195 200 205

Val Gly Glu Gly Arg Phe Ser Lys Ser Glu Phe Cys Met Asp Pro Ile
210 215 220

Leu Ile Leu Met Gly Thr Leu Asn Asn Ala Met His Asn Leu Tyr Gly
225 230 235 240

Ile Ala Ile Pro Asn Asp Gln Thr Ile Ser Ser Val Thr Ser Asn Ile
245 250 255

Phe Tyr Ser Gln Tyr Asn Val Lys Leu Glu Tyr Ala Glu Ile Tyr Ala
260 265 270

Phe Gly Gly Pro Thr Ile Asp Leu Ile Pro Lys Ser Ala Arg Lys Tyr
275 280 285

Phe Glu Glu Lys Ala Leu Asp Tyr Tyr Arg Ser Ile Ala Lys Arg Leu
290 295 300

Asn Ser Ile Thr Thr Ala Asn Pro Ser Ser Phe Asn Lys Tyr Ile Gly
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Gln Lys Leu Ile Arg Lys Tyr Arg Phe Val Val Glu Ser
325 330 335

Ser Gly Glu Val Thr Val Asn Arg Asn Lys Phe Val Glu Leu Tyr Asn
340 345 350

Glu Leu Thr Gln Ile Phe Thr Glu Phe Asn Tyr Ala Lys Ile Tyr Asn
355 360 365

Val Gln Asn Arg Lys Ile Tyr Leu Ser Asn Val Tyr Thr Pro Val Thr
370 375 380

Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Val Tyr Asp Ile Gln Asn Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Pro Lys Ser Asn Leu Asn Val Leu Phe Met Gly Gln Asn Leu Ser
405 410 415

Arg Asn Pro Ala Leu Arg Lys Val Asn Pro Glu Asn Met Leu Tyr Leu
420 425 430

Phe Thr Lys Phe Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn
435 440 445

Lys Thr Leu Asp Cys Arg Glu Leu Leu Val Lys Asn Thr Asp Leu Pro
450 455 460

Phe Ile Gly Asp Ile Ser Asp Val Lys Thr Asp Ile Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480

Asp Ile Asn Glu Glu Thr Glu Val Ile Tyr Tyr Pro Asp Asn Val Ser
485 490 495

Val Asp Gln Val Ile Leu Ser Lys Asn Thr Ser Glu His Gly Gln Leu
500 505 510

Asp Leu Leu Tyr Pro Ser Ile Asp Ser Glu Ser Glu Ile Leu Pro Gly
515 520 525

Glu Asn Gln Val Phe Tyr Asp Asn Arg Thr Gln Asn Val Asp Tyr Leu
530 535 540

Asn Ser Tyr Tyr Tyr Leu Glu Ser Gln Lys Leu Ser Asp Asn Val Glu
545 550 555 560

Asp Phe Thr Phe Thr Arg Ser Ile Glu Glu Ala Leu Asp Asn Ser Ala
565 570 575

Lys Val Tyr Thr Tyr Phe Pro Thr Leu Ala Asn Lys Val Asn Ala Gly
580 585 590

Val Gln Gly Gly Leu Phe Leu Met Trp Ala Asn Asp Val Val Glu Asp

595 600 605

Phe Thr Thr Asn Ile Leu Arg Lys Asp Thr Leu Asp Lys Ile Ser Asp
610 615 620

Val Ser Ala Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Ser Asn
625 630 635 640

Ser Val Arg Arg Gly Asn Phe Thr Glu Ala Phe Ala Val Thr Gly Val
645 650 655

Thr Ile Leu Leu Glu Ala Phe Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ala Leu Gly
660 665 670

Ala Phe Val Ile Tyr Ser Lys Val Gln Glu Arg Asn Glu Ile Ile Lys
675 680 685

Thr Ile Asp Asn Cys Leu Glu Gln Arg Ile Lys Arg Trp Lys Asp Ser
690 695 700

Tyr Glu Trp Met Met Gly Thr Trp Leu Ser Arg Ile Ile Thr Gln Phe
705 710 715 720

Asn Asn Ile Ser Tyr Gln Met Tyr Asp Ser Leu Asn Tyr Gln Ala Gly
725 730 735

Ala Ile Lys Ala Lys Ile Asp Leu Glu Tyr Lys Lys Tyr Ser Gly Ser
740 745 750

Asp Lys Glu Asn Ile Lys Ser Gln Val Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu
755 760 765

Asp Val Lys Ile Ser Glu Ala Met Asn Asn Ile Asn Lys Phe Ile Arg
770 775 780

Glu Cys Ser Val Thr Tyr Leu Phe Lys Asn Met Leu Pro Lys Val Ile
785 790 795 800

Asp Glu Leu Asn Glu Phe Asp Arg Asn Thr Lys Ala Lys Leu Ile Asn
805 810 815

Leu Ile Asp Ser His Asn Ile Ile Leu Val Gly Glu Val Asp Lys Leu
820 825 830

Lys Ala Lys Val Asn Asn Ser Phe Gln Asn Thr Ile Pro Phe Asn Ile
835 840 845

Phe Ser Tyr Thr Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Ile Ile Asn Glu Tyr
850 855 860

Phe Asn Asn Ile Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys
865 870 875 880

Asn Thr Leu Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu
885 890 895

Gly Asp Val Gln Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly
900 905 910

Ser Ser Gly Glu Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn
915 920 925

Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile
930 935 940

Arg Ile Asn Lys Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp
945 950 955 960

Ser Val Lys Asn Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe
965 970 975

Leu Val Phe Thr Leu Lys Gln Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn
980 985 990

Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe
995 1000 1005

Phe Val Thr Val Thr Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr
1010 1015 1020

Ile Asn Gly Lys Leu Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr
1025 1030 1035

Gly Ile Asn Phe Ser Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile
1040 1045 1050

Pro Asp Thr Gly Leu Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met
1055 1060 1065

Trp Ile Arg Asp Phe Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys
1070 1075 1080

Asp Ile Asn Ile Leu Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val

1085 1090 1095

Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr
1100 1105 1110

Met Val Asn Ile Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser
1115 1120 1125

Arg Gln Ile Val Phe Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn
1130 1135 1140

Glu Gly Tyr Lys Ile Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn
1145 1150 1155

Asp Thr Arg Val Arg Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr
1160 1165 1170

Ile Asn Asn Lys Ala Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met
1175 1180 1185

Tyr Ala Asp Asn His Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu
1190 1195 1200

Arg Glu Gln Thr Lys Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile
1205 1210 1215

Gln Pro Met Asn Asn Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys
1220 1225 1230

Ser Asn Phe Asn Gly Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly
1235 1240 1245

Thr Tyr Arg Phe Arg Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr
1250 1255 1260

Leu Val Pro Thr Val Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu
1265 1270 1275

Ser Thr Ser Thr His Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu
1280 1285 1290

<210> 16

<211> 3876

<212> ДНК

<213> Clostridium botulinum

<400> 16

atgccgatca cgattaataa ttcaactat agcgatccgg tggacaataa gaatattctg 60

tatctggata ctcatctgaa tacgctggct aacgaaccgg agaaagcgtt ccgcatcaca 120
ggcaacatct gggttattcc cgatcgcttt tcacgcaaca gcaaccctaa tctgaacaaa 180
cctcctcgtg tcaccagtcc taaatccggt tattacgacc caaactatct gactacggat 240
agcgataaag atccccttct gaaagagatc attaagctgt tcaaacgcat taactctcgc 300
gaaattgggg aagagctgat ctatcggtt tcgacagata tcccgttccc aggtaacaat 360
aataccccga ttaatacttt cgactttgat gttgattca attctgtgga tgtgaaaacg 420
cgtcaaggca ataattgggt gaaaactggt agcattaacc cgagtgaat taccacaggt 480
ccccgtgaga acatcatcga cccggaaacc tctacctca agctgacgaa caacacgttt 540
gctgcacagg aagggtttgg tgcctgtca atcattcca tctaccgcg tttcatgta 600
acctactcca atgccacaaa tgatgttggc gaaggacgtt ttagcaaatc agaattttgc 660
atggacccaa ttctcattct gatgcagag ctgaaccatg cgatgcacaa ctgtatggc 720
attgctattc caaacgatca aaccattagc tccgttaca gtaatatctt ctatagccag 780
tataatgtca aattggagta tggcgaatc tacgccttg gagggccgac cattgacctg 840
attccgaaat ctgcacgcaa atacttcgaa gaaaaggcgt tagattacta tgcgagcacc 900
gcgaaacgcc tgaactgat taccacggcc aatccgtcgt cgttcaacaa atacattggt 960
gaatataaac agaaactgat tcgcaaatat cggttgtcg tagaaagctc tggtaagtg 1020
actgtaaacc gcaacaaatt tgcgaactc tacaacgagt tgacccaaat cttaccgag 1080
tttaactacg caaagatcta taacgtacag aaccgcaaga ttatcttag caatgtatac 1140
acaccggfta ctgcgaacat cttagacgac aatgtgtatg ataccagaa tggctttaac 1200
atcccgaaat caaatctgaa cgttctgttt atgggccaga acctgagtcg taatccagca 1260
ctgcgtaaaag tgaaccggga aaatagctc tacttgttta ccaaatttg ccacaaagcg 1320
attgatggcc gctctctcta taacaaaacg ctggattgc gtgagtact tgtgaagaac 1380
actgattac cgttcattgg ggatatctcc gactgaaaa ccgatatctt cctgcgcaa 1440
gacattaatg aagaacgga agtcatctat taccggaca atgtgagcgt tgatcagtc 1500
atftatcga agaacacctc cgaacatggt cagttggatt tgctgtacc tagcattgac 1560
tcggagagtg aaatcctcc gggcgaaaat caagtgttt acgacaaccg tacccaaat 1620
gttgattatt tgaattctta ttactacctg gaatctcaga aattgagcga caatgtgaa 1680
gattcacgt tcacagctc cattgaggaa gcgctggata atagcgcgaa agtgatatac 1740
tattcccta ccttggcgaa taaagtaaat gctggtgtcc agggaggctt atttctgatg 1800
tggcgcaatg atgtgtaga agattttacg accaatattt tgcgtaagga caccttagat 1860
aaaattagcg atgttagcgc catcatcccc tatattggcc cagcactgaa tatctcgaac 1920

tctgtcgtc gcggaaact caccgaagca ttgcggtga ccggggttac tattctgtg 1980
gaagccttc cggagttac tattccggcg ctgggtgctg ttgtgatta ttcgaaagta 2040
caagaacgca atgaaattat caaaaccatc gataattgcc tggacaacg cattaaacgc 2100
tggaaaggatt cttatgaatg gatgatgggc acctggttat cccgtattat cacacagttt 2160
aacaacatct cgtatcagat gtacgattca ctgaactacc aagcaggggc gatcaaagcc 2220
aagatcgact tagaatacaa gaaatattca ggtagcgata aagagaatat taaaagccag 2280
gttgaaaacc tgaagaactc tctggatgct aaaatttcag aggctatgaa caacattaac 2340
aaatttatcc gcgaatgtag cgtcacgtat ctgttataaa acatgctccc gaaagtgatt 2400
gatgagctca acgagttga tgcgaacaca aaggccaaac tgattaacct gattgatagt 2460
cacaatatta ttttagtcgg tgaagttgac aagctgaagg ctaaggtcaa taacagcttt 2520
cagaacacta ttccgttaa tattttctcc tatacgaaca atagtctgct gaaagacatt 2580
atcaacgaat acttcaacaa tattaatgac agcaaaatc tgagcctgca gaatcgtaag 2640
aatacgtgg tagataccag tggatataat gcggaagtct cagaagaggg tgatgtacag 2700
ctgaaccgca tctttccgtt cgactttaa ctggggtcta gtggtgaaga tcgcgtaaa 2760
gtgatcgta cccaaaacga gaacattgtg tataacagca tgtacgagag tttctcaatt 2820
tctttctgga ttcgcatcaa taaatgggtt tctaatttgc ctggctatac catcattgat 2880
agcgtcaaaa acaactcggg ctggtcgatt ggcattatta gcaacttct ggtgttacc 2940
ctgaaacaga atgaggattc ggaacagagc attaacttct cctacgacat cagcaacaat 3000
gcaccaggt ataacaatg gttcttcgta acggtgacga acaatatgat gggcaatatg 3060
aaaacttaca ttaacgggaa acttatcgac accattaaag tgaagagct tactgggatc 3120
aattttagta aaaccattac ctttgagatc aacaaaatc cggacacggg tetgattacc 3180
tccgattcgg ataatatcaa tatgtggatt cgcgactttt atatcttcgc caaagaactt 3240
gatggcaaag atatcaacat tttgttaat tcctgcagt ataccaatgt cgtaagac 3300
tattggggca atgatctccg ctacaataaa gaatactaca tggtaacat cgactatctc 3360
aatcgttaca tgtatgctaa ctgcgctcaa attgtgtta acacacgtcg taacaacaac 3420
gattttaacg aaggtataa aatcattatc aaacggatcc gcggcaatac gaacgatact 3480
cgtgttcgtg gcggtgacat tctgtatttc gacatgacga ttaataataa agcgtacaat 3540
ctgttcatga agaacgaaac catgtacgcc gataaccatt ccaactgaaga tatctacgca 3600
atcggacttc gcgaacagac caaagacatt aacgacaaca tcatcttca gattcaaccg 3660
atgaataata cctactacta tgcctcccag atcttcaaaa gtaatttcaa cggcgaaaac 3720
atttcaggca tttgctcaat cggcacttat cggttccggt taggtggtga ttggtatcgt 3780

cacaactacc ttgtccac agtgaacaa ggcaactatg catcgcttt agaaagcaca 3840

tctacgcatt ggggtttgt gccagtcagt gaataa 3876

<210> 17

<211> 1291

<212> БЕЛЮК

<213> Clostridium botulinum

<400> 17

Met Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asp Asn
1 5 10 15

Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Asp Thr His Leu Asn Thr Leu Ala Asn Glu
20 25 30

Pro Glu Lys Ala Phe Arg Ile Thr Gly Asn Ile Trp Val Ile Pro Asp
35 40 45

Arg Phe Ser Arg Asn Ser Asn Pro Asn Leu Asn Lys Pro Pro Arg Val
50 55 60

Thr Ser Pro Lys Ser Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Ser Thr Asp
65 70 75 80

Ser Asp Lys Asp Pro Phe Leu Lys Glu Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
85 90 95

Ile Asn Ser Arg Glu Ile Gly Glu Glu Leu Ile Tyr Arg Leu Ser Thr
100 105 110

Asp Ile Pro Phe Pro Gly Asn Asn Asn Thr Pro Ile Asn Thr Phe Asp
115 120 125

Phe Asp Val Asp Phe Asn Ser Val Asp Val Lys Thr Arg Gln Gly Asn
130 135 140

Asn Trp Val Lys Thr Gly Ser Ile Asn Pro Ser Val Ile Ile Thr Gly
145 150 155 160

Pro Arg Glu Asn Ile Ile Asp Pro Glu Thr Ser Thr Phe Lys Leu Thr
165 170 175

Asn Asn Thr Phe Ala Ala Gln Glu Gly Phe Gly Ala Leu Ser Ile Ile
180 185 190

Ser Ile Ser Pro Arg Phe Met Leu Thr Tyr Ser Asn Ala Thr Asn Asp

195 200 205

Val Gly Glu Gly Arg Phe Ser Lys Ser Glu Phe Cys Met Asp Pro Ile
210 215 220

Leu Ile Leu Met His Glu Leu Asn His Ala Met His Asn Leu Tyr Gly
225 230 235 240

Ile Ala Ile Pro Asn Asp Gln Thr Ile Ser Ser Val Thr Ser Asn Ile
245 250 255

Phe Tyr Ser Gln Tyr Asn Val Lys Leu Glu Tyr Ala Glu Ile Tyr Ala
260 265 270

Phe Gly Gly Pro Thr Ile Asp Leu Ile Pro Lys Ser Ala Arg Lys Tyr
275 280 285

Phe Glu Glu Lys Ala Leu Asp Tyr Tyr Arg Ser Ile Ala Lys Arg Leu
290 295 300

Asn Ser Ile Thr Thr Ala Asn Pro Ser Ser Phe Asn Lys Tyr Ile Gly
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Gln Lys Leu Ile Arg Lys Tyr Arg Phe Val Val Glu Ser
325 330 335

Ser Gly Glu Val Thr Val Asn Arg Asn Lys Phe Val Glu Leu Tyr Asn
340 345 350

Glu Leu Thr Gln Ile Phe Thr Glu Phe Asn Tyr Ala Lys Ile Tyr Asn
355 360 365

Val Gln Asn Arg Lys Ile Tyr Leu Ser Asn Val Tyr Thr Pro Val Thr
370 375 380

Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Val Tyr Asp Ile Gln Asn Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Pro Lys Ser Asn Leu Asn Val Leu Phe Met Gly Gln Asn Leu Ser
405 410 415

Arg Asn Pro Ala Leu Arg Lys Val Asn Pro Glu Asn Met Leu Tyr Leu
420 425 430

Phe Thr Lys Phe Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn
435 440 445

Lys Thr Leu Asp Cys Arg Glu Leu Leu Val Lys Asn Thr Asp Leu Pro
450 455 460

Phe Ile Gly Asp Ile Ser Asp Val Lys Thr Asp Ile Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480

Asp Ile Asn Glu Glu Thr Glu Val Ile Tyr Tyr Pro Asp Asn Val Ser
485 490 495

Val Asp Gln Val Ile Leu Ser Lys Asn Thr Ser Glu His Gly Gln Leu
500 505 510

Asp Leu Leu Tyr Pro Ser Ile Asp Ser Glu Ser Glu Ile Leu Pro Gly
515 520 525

Glu Asn Gln Val Phe Tyr Asp Asn Arg Thr Gln Asn Val Asp Tyr Leu
530 535 540

Asn Ser Tyr Tyr Tyr Leu Glu Ser Gln Lys Leu Ser Asp Asn Val Glu
545 550 555 560

Asp Phe Thr Phe Thr Arg Ser Ile Glu Glu Ala Leu Asp Asn Ser Ala
565 570 575

Lys Val Tyr Thr Tyr Phe Pro Thr Leu Ala Asn Lys Val Asn Ala Gly
580 585 590

Val Gln Gly Gly Leu Phe Leu Met Trp Ala Asn Asp Val Val Glu Asp
595 600 605

Phe Thr Thr Asn Ile Leu Arg Lys Asp Thr Leu Asp Lys Ile Ser Asp
610 615 620

Val Ser Ala Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Ser Asn
625 630 635 640

Ser Val Arg Arg Gly Asn Phe Thr Glu Ala Phe Ala Val Thr Gly Val
645 650 655

Thr Ile Leu Leu Glu Ala Phe Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ala Leu Gly
660 665 670

Ala Phe Val Ile Tyr Ser Lys Val Gln Glu Arg Asn Glu Ile Ile Lys
675 680 685

Thr Ile Asp Asn Cys Leu Glu Gln Arg Ile Lys Arg Trp Lys Asp Ser

690 695 700

Tyr Glu Trp Met Met Gly Thr Trp Leu Ser Arg Ile Ile Thr Gln Phe
705 710 715 720

Asn Asn Ile Ser Tyr Gln Met Tyr Asp Ser Leu Asn Tyr Gln Ala Gly
725 730 735

Ala Ile Lys Ala Lys Ile Asp Leu Glu Tyr Lys Lys Tyr Ser Gly Ser
740 745 750

Asp Lys Glu Asn Ile Lys Ser Gln Val Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu
755 760 765

Asp Val Lys Ile Ser Glu Ala Met Asn Asn Ile Asn Lys Phe Ile Arg
770 775 780

Glu Cys Ser Val Thr Tyr Leu Phe Lys Asn Met Leu Pro Lys Val Ile
785 790 795 800

Asp Glu Leu Asn Glu Phe Asp Arg Asn Thr Lys Ala Lys Leu Ile Asn
805 810 815

Leu Ile Asp Ser His Asn Ile Ile Leu Val Gly Glu Val Asp Lys Leu
820 825 830

Lys Ala Lys Val Asn Asn Ser Phe Gln Asn Thr Ile Pro Phe Asn Ile
835 840 845

Phe Ser Tyr Thr Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Ile Ile Asn Glu Tyr
850 855 860

Phe Asn Asn Ile Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys
865 870 875 880

Asn Thr Leu Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu
885 890 895

Gly Asp Val Gln Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly
900 905 910

Ser Ser Gly Glu Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn
915 920 925

Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile
930 935 940

Arg Ile Asn Lys Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp
945 950 955 960

Ser Val Lys Asn Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe
965 970 975

Leu Val Phe Thr Leu Lys Gln Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn
980 985 990

Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe
995 1000 1005

Phe Val Thr Val Thr Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr
1010 1015 1020

Ile Asn Gly Lys Leu Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr
1025 1030 1035

Gly Ile Asn Phe Ser Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile
1040 1045 1050

Pro Asp Thr Gly Leu Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met
1055 1060 1065

Trp Ile Arg Asp Phe Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys
1070 1075 1080

Asp Ile Asn Ile Leu Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val
1085 1090 1095

Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr
1100 1105 1110

Met Val Asn Ile Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser
1115 1120 1125

Arg Gln Ile Val Phe Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn
1130 1135 1140

Glu Gly Tyr Lys Ile Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn
1145 1150 1155

Asp Thr Arg Val Arg Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr
1160 1165 1170

Ile Asn Asn Lys Ala Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met

1175 1180 1185

Tyr Ala Asp Asn His Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu
1190 1195 1200

Arg Glu Gln Thr Lys Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile
1205 1210 1215

Gln Pro Met Asn Asn Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys
1220 1225 1230

Ser Asn Phe Asn Gly Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly
1235 1240 1245

Thr Tyr Arg Phe Arg Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr
1250 1255 1260

Leu Val Pro Thr Val Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu
1265 1270 1275

Ser Thr Ser Thr His Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu
1280 1285 1290

<210> 18

<211> 4

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Участок расщепления энтерокиназой и фактором Ха

<400> 18

Ile Asp Gly Arg

1

<210> 19

<211> 4

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариант участка расщепления энтерокиназой и фактором Ха

<400> 19

Ile Glu Gly Arg

1

<210> 20

<211> 45

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 20

Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Tyr Arg Asn Ser Lys
1 5 10 15

Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser Lys
20 25 30

Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu Asn Gly Cys
35 40 45

<210> 21

<211> 25

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 21

Cys Val Arg Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Lys Gly
1 5 10 15

Tyr Asn Lys Ala Leu Asn Asp Leu Cys
20 25

<210> 22

<211> 10

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 22

Cys Lys Ser Val Arg Ala Pro Gly Ile Cys
1 5 10

<210> 23

<211> 14

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 23

Cys Leu Arg Leu Thr Lys Asn Ser Arg Asp Asp Ser Thr Cys
1 5 10

<210> 24

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 24

Cys Lys Asn Ile Val Ser Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys
1 5 10 15

<210> 25
<211> 17
<212> БЕЛЮК
<213> Clostridium botulinum

<400> 25

Cys Lys Ser Val Ile Pro Arg Lys Gly Thr Lys Ala Pro Pro Arg Leu
1 5 10 15

Cys

<210> 26
<211> 17
<212> БЕЛЮК
<213> Clostridium botulinum

<400> 26

Cys Lys Ser Ile Ile Pro Arg Lys Gly Thr Lys Gln Ser Pro Ser Leu
1 5 10 15

Cys

<210> 27
<211> 17
<212> БЕЛЮК
<213> Clostridium botulinum

<400> 27

Cys Lys Ser Ile Ile Pro Arg Lys Gly Thr Lys Ala Pro Pro Arg Leu
1 5 10 15

Cys

<210> 28
<211> 15
<212> БЕЛЮК
<213> Clostridium botulinum

<400> 28

Cys Leu Asn Ser Ser Phe Lys Lys Asn Thr Lys Lys Pro Leu Cys
1 5 10 15

<210> 29
<211> 15
<212> БЕЛЮК
<213> Clostridium botulinum

<400> 29

Cys Lys Ser Ile Val Ser Lys Lys Gly Thr Lys Asn Ser Leu Cys
1 5 10 15

<210> 30

<211> 29

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium tetani

<400> 30

Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg Glu Asn Leu Tyr Asn
1 5 10 15

Arg Thr Ala Ser Leu Thr Asp Leu Gly Gly Glu Leu Cys
20 25

<210> 31

<211> 15

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 31

Cys Lys Pro Val Met Tyr Lys Asn Thr Gly Lys Ser Glu Gln Cys
1 5 10 15

<210> 32

<211> 3972

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/X-10HT дикого типа

<400> 32

atgaaactgg aatcaaca aaattcaactac aacgatccga tcgatggcat taatgttatt 60

accatgcgtc gcctcgtca tagcgataaa atcaataaag gtaaaggtcc gttcaaagcc 120

ttcaggtga ttaaaaacat ttgattgtg ccggaacgct acaacttac caataatacc 180

aacgatctga acattccgag cgaaccgatt atggaagcag atgccattta taaccggaac 240

tatctgaata ccccgagcga aaaagatgaa ttctgcagg gtgttatcaa agtgctggaa 300

cgcattaaaa gcaaacggga aggtgaaaaa ctgctggaac tgattagcag cagcattccg 360

ctgccgctgg ttagcaatgg tgactgacc ctgagcgata atgaaacat tgcataatca 420

gagaacaaca acattgtgag caatctgcag gcaaacctgg ttatttatgg tccgggtcct 480

gatattgcaa ataatgcaac ctatggtctg tatagcacc cgattagtaa tggtagaggt 540

acactgagcg aagttagctt tagcccggtt tatctgaaac cgtttgatga aagctatggc 600

aattatcgta gcctggtgaa tatcgtgaac aaattcgtga aacgtgaatt tgcacctgat 660
ccggcaagca ccctgatgca tgaactggtt catgtfacc ataactctgta tggatttagc 720
aaccgcaact tctactataa ctttgacacc ggcaaaattg aaaccagccg tcagcagaat 780
agcctgattt ttgaagaact gctgaccttt ggtggcattg atagcaaagc aattagcagc 840
ctgatcatca agaaaattat cgaaacccg aagaacaact ataccacgct gattagcgaa 900
cgctgaata ccgttaccgt tgaaatgat ctgctgaaat atatcaaaaa caaaatcccg 960
gttcagggtc gtctgggtaa cttaaactg gataccgcag aattcgagaa aaagctgaat 1020
accattctgt ttgtgctgaa cgaagcaat ctggcacagc gtttagcat tctggtcgt 1080
aaacattacc tgaagaagc tccgattgat ccgattatg tgaacattct ggatgacaat 1140
agctacagca ccctggaagg tttaacatt agcagtcagg gtagcaatga ttccaaggt 1200
cagctgctgg aaagcagcta tttgaaaaa attgaaagca atgcctcgc tgcctcatt 1260
aaaatctgc cgcgtaatgg tctgctgat aatgccatt atcgaacag caaaaactac 1320
ctgaacaaca ttgatctgga agataaaaag accacgagca aaaccaatgt tagctatccg 1380
tgtagcctgc tgaatggtg tattgaagt gaaaacaaag acctgttct gattagcaac 1440
aaagatagcc tgaacgatat taacctgagc gaagaaaaa tcaaacggga aaccaccgtg 1500
ttctcaaag ataaactgcc tccgcaggat attacgctga gcaattatga tttaccgaa 1560
gccaatagca ttccgagcat tagccagcag aacattctgg aacgtaatga agaactgtat 1620
gaaccgattc gcaatagcct gttgaaatc aaaaccatct atgtggataa gctgaccacc 1680
ttcattttc tggaaagcca gaattatgat gagagcattg atagcagcaa aattcgtgtt 1740
gaactgaccg atagcgttga tgaagcactg agcaatccga ataaagtta tagcccgttc 1800
aagaacatga gcaacacat taatagcatt gaaaccggta ttaccagcac ctacatctt 1860
tatcagtggc tgcgtagcat cgtgaaagat ttagtgatg aaaccggcaa aatcgactg 1920
attgataaaa gcagcgatac cctggcaatt gttccgata ttggtccgct gctgaatatt 1980
ggtaatgata ttcgcatgg cgattttgtg ggtgcaattg aactggcagg cattaccgca 2040
ctgctggaat atgtccgga atttaccatt ccgattctgg ttggtctgga agttattggt 2100
ggcgaactgg cacgtgaaca gttgaaagca atgttaata atgcctgga taaacgcgat 2160
cagaaatggg cagaagtta caatattacc aaagcacagt ggtggggcac cattcattta 2220
cagattaata cccgtctggc ccatacctat aaagcctga gccgtcaggc aatgccatt 2280
aaaatgaata tggatttca gctggccaac taaaaaggca acatcagatg taaagccaaa 2340
atcaaaaacg ccatcagcga aaccgaaatc ctgctgaaca aaagcgttga acaggcaatg 2400
aaaaacaccg agaaattcat gatcaactg agcaacagct atctgaccaa agaaatgatt 2460

047022

ccgaaagtgc aggataacct gaaaaatttc gatctggaaa ccaagaaaac cctggacaaa 2520
ttatcaaag agaaagagga cattctgggc accaatctga gcagcagcct gcgtcgtaaa 2580
gtagcattc gtctgaataa aacattgcc ttcgacatca acgatatccc gtttagcgaa 2640
ttgatgac tgatcaacca gtacaaaaac gagatcgaag attatgaagt gctgaatctg 2700
ggtgcagaag atgggaaaat caaagatctg agcggtaaca ccagcgatat caatattggt 2760
tcagatatcg aactggccga tggctgtgaa aataaagcca ttaagattaa aggcagcgag 2820
aacagcacca tcaaaattgc aatgaacaaa tatctcgtt ttagcgcgac cgataacttt 2880
agcattagct ttggatcaa acatccgaaa ccgaccaatc tgcttaataa cggattgaa 2940
tataccctgg tcgagaactt taatcagcgt ggttgaaaa ttagcatcca ggatagcaaa 3000
ctgatttggg atctgcgca tcacaataac agcatcaaaa tcgttacacc ggattatatt 3060
gcgttaatg gctggaacct gattaccatt acaacaatc gtagcaaaag cagcattgtg 3120
tatgtgaacg gtagcaaaat tgaagagaag gatattagca gcatctggaa taccgaagtg 3180
gatgatccga ttatcttcg cctgaaaaac aatcgcgata cccaggcgtt tacctgctg 3240
gatcagttta gcatttatcg gaaagaactg aaccagaacg aagtgggtaa actgtataac 3300
tactacttca acagcaacta cattcgcgat atttggggta atccgctgca gtacaacaaa 3360
aaatactatc tgcagacca ggacaaacct ggtaaaggtc tgatccgca atattggagc 3420
agctttgggt atgattatgt gattctgagc gatagcaaga cgattacctt tccgaataat 3480
atccgttatg gtgccctgta taacggcagc aaagtctga tcaaaaatag caaaaaactg 3540
gatggtctgg tgcgcaataa agatttcatt cagctggaaa tcgatggcta taatatgggt 3600
attagcgagc atcgcttaa cgaggatacc aactatattg gcaccaccta tggtaacacc 3660
catgatctga ccaccgattt tgaattatt cagcgccaag agaataaccg caattattgt 3720
cagctgaaaa ccccgataa catcttcat aaaagcgtc tgatgagcac cgaaccagc 3780
aaaccgacct ttatgatta tcgtgactgg gttatagca gcgcatggta tttcagaac 3840
tatgaaaatc tgaacctgc caacatacc aaaaccaact ggtattttat cccgaaagat 3900
gaaggtggg atgaagatct tgaagtctg ttcagggtc cgcacatca ccaccatcac 3960
catcatcatc ac 3972

<210> 33

<211> 1306

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 33

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp
435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu
450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn
465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro
485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser
515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg
530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp
1295 1300 1305

<210> 34

<211> 1324

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BoNT/X-10HT дикого типа

<400> 34

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp
435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu
450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn
465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro
485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser
515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg
530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp Leu Glu
1295 1300 1305

Val Leu Phe Gln Gly Pro His His His His His His His His
1310 1315 1320

His

<210> 35

<211> 1296

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 35

Met Pro Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
1 5 10 15

Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Val Gly Gln Met Gln Pro
20 25 30

Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
35 40 45

Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
50 55 60

Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
65 70 75 80

Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
85 90 95

Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100 105 110

Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115 120 125

Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130 135 140

Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile
145 150 155 160

Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165 170 175

Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180 185 190

Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195 200 205

Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210 215 220

Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn

225 230 235 240

Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245 250 255

Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260 265 270

Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn
275 280 285

Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290 295 300

Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305 310 315 320

Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu
325 330 335

Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
340 345 350

Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
355 360 365

Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Lys Val Asn Tyr
370 375 380

Thr Ile Tyr Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn
385 390 395 400

Phe Asn Gly Gln Asn Thr Glu Ile Asn Asn Met Asn Phe Thr Lys Leu
405 410 415

Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys Val Arg
420 425 430

Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Lys Gly Tyr Asn Lys
435 440 445

Ala Leu Asn Asp Leu Cys Ile Lys Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe
450 455 460

Ser Pro Ser Glu Asp Asn Phe Thr Asn Asp Leu Asn Lys Gly Glu Glu
465 470 475 480

Ile Thr Ser Asp Thr Asn Ile Glu Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu
485 490 495

Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu Thr Phe Asn Phe Asp Asn Glu Pro
500 505 510

Glu Asn Ile Ser Ile Glu Asn Leu Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu
515 520 525

Glu Leu Met Pro Asn Ile Glu Arg Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu
530 535 540

Leu Asp Lys Tyr Thr Met Phe His Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Glu
545 550 555 560

His Gly Lys Ser Arg Ile Ala Leu Thr Asn Ser Val Asn Glu Ala Leu
565 570 575

Leu Asn Pro Ser Arg Val Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Asp Tyr Val Lys
580 585 590

Lys Val Asn Lys Ala Thr Glu Ala Ala Met Phe Leu Gly Trp Val Glu
595 600 605

Gln Leu Val Tyr Asp Phe Thr Asp Glu Thr Ser Glu Val Ser Thr Thr
610 615 620

Asp Lys Ile Ala Asp Ile Thr Ile Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala
625 630 635 640

Leu Asn Ile Gly Asn Met Leu Tyr Lys Asp Asp Phe Val Gly Ala Leu
645 650 655

Ile Phe Ser Gly Ala Val Ile Leu Leu Glu Phe Ile Pro Glu Ile Ala
660 665 670

Ile Pro Val Leu Gly Thr Phe Ala Leu Val Ser Tyr Ile Ala Asn Lys
675 680 685

Val Leu Thr Val Gln Thr Ile Asp Asn Ala Leu Ser Lys Arg Asn Glu
690 695 700

Lys Trp Asp Glu Val Tyr Lys Tyr Ile Val Thr Asn Trp Leu Ala Lys
705 710 715 720

Val Asn Thr Gln Ile Asp Leu Ile Arg Lys Lys Met Lys Glu Ala Leu

725 730 735

Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn
740 745 750

Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp
755 760 765

Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile
770 775 780

Asn Lys Phe Leu Asn Gln Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met
785 790 795 800

Ile Pro Tyr Gly Val Lys Arg Leu Glu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Lys
805 810 815

Asp Ala Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly
820 825 830

Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp
835 840 845

Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser
850 855 860

Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys Asn Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn
865 870 875 880

Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Ala Ser
885 890 895

Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Asp Lys Asn
900 905 910

Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile Glu Val Ile Leu
915 920 925

Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser
930 935 940

Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn
945 950 955 960

Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val
965 970 975

Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu
980 985 990

Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser
995 1000 1005

Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg
1010 1015 1020

Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln
1025 1030 1035

Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile
1040 1045 1050

Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp
1055 1060 1065

Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu
1070 1075 1080

Ile Lys Asp Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys
1085 1090 1095

Asp Phe Trp Gly Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met
1100 1105 1110

Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val
1115 1120 1125

Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val
1130 1135 1140

Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr
1145 1150 1155

Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile
1160 1165 1170

Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val Val Val Lys Asn
1175 1180 1185

Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala Gly Val Glu
1190 1195 1200

Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn Leu Ser

1205 1210 1215

Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr Asn
1220 1225 1230

Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly
1235 1240 1245

Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala
1250 1255 1260

Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu
1265 1270 1275

Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu
1280 1285 1290

Arg Pro Leu
1295

<210> 36

<211> 1291

<212> БЕЛЮК

<213> Clostridium botulinum

<400> 36

Met Pro Val Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Asn
1 5 10 15

Asn Asn Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Phe Ala Arg Gly Thr Gly Arg
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Ile Pro Glu
35 40 45

Arg Tyr Thr Phe Gly Tyr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Lys Ser Ser Gly
50 55 60

Ile Phe Asn Arg Asp Val Cys Glu Tyr Tyr Asp Pro Asp Tyr Leu Asn
65 70 75 80

Thr Asn Asp Lys Lys Asn Ile Phe Leu Gln Thr Met Ile Lys Leu Phe
85 90 95

Asn Arg Ile Lys Ser Lys Pro Leu Gly Glu Lys Leu Leu Glu Met Ile
100 105 110

Ile Asn Gly Ile Pro Tyr Leu Gly Asp Arg Arg Val Pro Leu Glu Glu
115 120 125

Phe Asn Thr Asn Ile Ala Ser Val Thr Val Asn Lys Leu Ile Ser Asn
130 135 140

Pro Gly Glu Val Glu Arg Lys Lys Gly Ile Phe Ala Asn Leu Ile Ile
145 150 155 160

Phe Gly Pro Gly Pro Val Leu Asn Glu Asn Glu Thr Ile Asp Ile Gly
165 170 175

Ile Gln Asn His Phe Ala Ser Arg Glu Gly Phe Gly Gly Ile Met Gln
180 185 190

Met Lys Phe Cys Pro Glu Tyr Val Ser Val Phe Asn Asn Val Gln Glu
195 200 205

Asn Lys Gly Ala Ser Ile Phe Asn Arg Arg Gly Tyr Phe Ser Asp Pro
210 215 220

Ala Leu Ile Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly Leu Tyr
225 230 235 240

Gly Ile Lys Val Asp Asp Leu Pro Ile Val Pro Asn Glu Lys Lys Phe
245 250 255

Phe Met Gln Ser Thr Asp Ala Ile Gln Ala Glu Glu Leu Tyr Thr Phe
260 265 270

Gly Gly Gln Asp Pro Ser Ile Ile Thr Pro Ser Thr Asp Lys Ser Ile
275 280 285

Tyr Asp Lys Val Leu Gln Asn Phe Arg Gly Ile Val Asp Arg Leu Asn
290 295 300

Lys Val Leu Val Cys Ile Ser Asp Pro Asn Ile Asn Ile Asn Ile Tyr
305 310 315 320

Lys Asn Lys Phe Lys Asp Lys Tyr Lys Phe Val Glu Asp Ser Glu Gly
325 330 335

Lys Tyr Ser Ile Asp Val Glu Ser Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Ser Leu
340 345 350

Met Phe Gly Phe Thr Glu Thr Asn Ile Ala Glu Asn Tyr Lys Ile Lys
355 360 365

Thr Arg Ala Ser Tyr Phe Ser Asp Ser Leu Pro Pro Val Lys Ile Lys
370 375 380

Asn Leu Leu Asp Asn Glu Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Gly Phe Asn Ile
385 390 395 400

Ser Asp Lys Asp Met Glu Lys Glu Tyr Arg Gly Gln Asn Lys Ala Ile
405 410 415

Asn Lys Gln Ala Tyr Glu Glu Ile Ser Lys Glu His Leu Ala Val Tyr
420 425 430

Lys Ile Gln Met Cys Lys Ser Val Lys Ala Pro Gly Ile Cys Ile Asp
435 440 445

Val Asp Asn Glu Asp Leu Phe Phe Ile Ala Asp Lys Asn Ser Phe Ser
450 455 460

Asp Asp Leu Ser Lys Asn Glu Arg Ile Glu Tyr Asn Thr Gln Ser Asn
465 470 475 480

Tyr Ile Glu Asn Asp Phe Pro Ile Asn Glu Leu Ile Leu Asp Thr Asp
485 490 495

Leu Ile Ser Lys Ile Glu Leu Pro Ser Glu Asn Thr Glu Ser Leu Thr
500 505 510

Asp Phe Asn Val Asp Val Pro Val Tyr Glu Lys Gln Pro Ala Ile Lys
515 520 525

Lys Ile Phe Thr Asp Glu Asn Thr Ile Phe Gln Tyr Leu Tyr Ser Gln
530 535 540

Thr Phe Pro Leu Asp Ile Arg Asp Ile Ser Leu Thr Ser Ser Phe Asp
545 550 555 560

Asp Ala Leu Leu Phe Ser Asn Lys Val Tyr Ser Phe Phe Ser Met Asp
565 570 575

Tyr Ile Lys Thr Ala Asn Lys Val Val Glu Ala Gly Leu Phe Ala Gly
580 585 590

Trp Val Lys Gln Ile Val Asn Asp Phe Val Ile Glu Ala Asn Lys Ser
595 600 605

Asn Thr Met Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Leu Ile Val Pro Tyr Ile
610 615 620

Gly Leu Ala Leu Asn Val Gly Asn Glu Thr Ala Lys Gly Asn Phe Glu
625 630 635 640

Asn Ala Phe Glu Ile Ala Gly Ala Ser Ile Leu Leu Glu Phe Ile Pro
645 650 655

Glu Leu Leu Ile Pro Val Val Gly Ala Phe Leu Leu Glu Ser Tyr Ile
660 665 670

Asp Asn Lys Asn Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp Asn Ala Leu Thr Lys
675 680 685

Arg Asn Glu Lys Trp Ser Asp Met Tyr Gly Leu Ile Val Ala Gln Trp
690 695 700

Leu Ser Thr Val Asn Thr Gln Phe Tyr Thr Ile Lys Glu Gly Met Tyr
705 710 715 720

Lys Ala Leu Asn Tyr Gln Ala Gln Ala Leu Glu Glu Ile Ile Lys Tyr
725 730 735

Arg Tyr Asn Ile Tyr Ser Glu Lys Glu Lys Ser Asn Ile Asn Ile Asp
740 745 750

Phe Asn Asp Ile Asn Ser Lys Leu Asn Glu Gly Ile Asn Gln Ala Ile
755 760 765

Asp Asn Ile Asn Asn Phe Ile Asn Gly Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met
770 775 780

Lys Lys Met Ile Pro Leu Ala Val Glu Lys Leu Leu Asp Phe Asp Asn
785 790 795 800

Thr Leu Lys Lys Asn Leu Leu Asn Tyr Ile Asp Glu Asn Lys Leu Tyr
805 810 815

Leu Ile Gly Ser Ala Glu Tyr Glu Lys Ser Lys Val Asn Lys Tyr Leu
820 825 830

Lys Thr Ile Met Pro Phe Asp Leu Ser Ile Tyr Thr Asn Asp Thr Ile
835 840 845

Leu Ile Glu Met Phe Asn Lys Tyr Asn Ser Glu Ile Leu Asn Asn Ile
850 855 860

Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Lys Asp Asn Asn Leu Ile Asp Leu Ser Gly
865 870 875 880

Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val Glu Leu Asn Asp Lys
885 890 895

Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser Lys Ile Arg Val Thr
900 905 910

Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Val Phe Leu Asp Phe Ser Val
915 920 925

Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly Ile Gln Asn
930 935 940

Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Lys Asn Asn Ser
945 950 955 960

Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile Ile Trp Thr Leu Ile
965 970 975

Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Asn Ile Arg
980 985 990

Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr
995 1000 1005

Asn Asn Leu Asn Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu Glu
1010 1015 1020

Ser Asn Thr Asp Ile Lys Asp Ile Arg Glu Val Ile Ala Asn Gly
1025 1030 1035

Glu Ile Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg Thr Gln Phe
1040 1045 1050

Ile Trp Met Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu Leu Ser Gln
1055 1060 1065

Ser Asn Ile Glu Glu Arg Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr
1070 1075 1080

Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn Lys Glu Tyr
1085 1090 1095

Tyr Met Phe Asn Ala Gly Asn Lys Asn Ser Tyr Ile Lys Leu Lys
1100 1105 1110

Lys Asp Ser Pro Val Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ser Lys Tyr Asn
1115 1120 1125

Gln Asn Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Arg Asp Leu Tyr Ile Gly Glu
1130 1135 1140

Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn Ser Gln Ser Ile Asn Asp
1145 1150 1155

Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr Leu Asp Phe Phe Asn
1160 1165 1170

Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr Thr Tyr Lys Tyr Phe Lys Lys
1175 1180 1185

Glu Glu Glu Lys Leu Phe Leu Ala Pro Ile Ser Asp Ser Asp Glu
1190 1195 1200

Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu Gln Pro Thr
1205 1210 1215

Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu Ser Thr Asp
1220 1225 1230

Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu Ser Gly Ile
1235 1240 1245

Val Phe Glu Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser Lys Trp Tyr
1250 1255 1260

Leu Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Leu Lys Leu Gly Cys
1265 1270 1275

Asn Trp Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr Glu
1280 1285 1290

<210> 37

<211> 1291

<212> БЕЛЮК

<213> Clostridium botulinum

<400> 37

Met Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asp Asn
1 5 10 15

Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Asp Thr His Leu Asn Thr Leu Ala Asn Glu
20 25 30

Pro Glu Lys Ala Phe Arg Ile Thr Gly Asn Ile Trp Val Ile Pro Asp
35 40 45

Arg Phe Ser Arg Asn Ser Asn Pro Asn Leu Asn Lys Pro Pro Arg Val
50 55 60

Thr Ser Pro Lys Ser Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Ser Thr Asp
65 70 75 80

Ser Asp Lys Asp Pro Phe Leu Lys Glu Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
85 90 95

Ile Asn Ser Arg Glu Ile Gly Glu Glu Leu Ile Tyr Arg Leu Ser Thr
100 105 110

Asp Ile Pro Phe Pro Gly Asn Asn Asn Thr Pro Ile Asn Thr Phe Asp
115 120 125

Phe Asp Val Asp Phe Asn Ser Val Asp Val Lys Thr Arg Gln Gly Asn
130 135 140

Asn Trp Val Lys Thr Gly Ser Ile Asn Pro Ser Val Ile Ile Thr Gly
145 150 155 160

Pro Arg Glu Asn Ile Ile Asp Pro Glu Thr Ser Thr Phe Lys Leu Thr
165 170 175

Asn Asn Thr Phe Ala Ala Gln Glu Gly Phe Gly Ala Leu Ser Ile Ile
180 185 190

Ser Ile Ser Pro Arg Phe Met Leu Thr Tyr Ser Asn Ala Thr Asn Asp
195 200 205

Val Gly Glu Gly Arg Phe Ser Lys Ser Glu Phe Cys Met Asp Pro Ile
210 215 220

Leu Ile Leu Met His Glu Leu Asn His Ala Met His Asn Leu Tyr Gly
225 230 235 240

Ile Ala Ile Pro Asn Asp Gln Thr Ile Ser Ser Val Thr Ser Asn Ile
245 250 255

Phe Tyr Ser Gln Tyr Asn Val Lys Leu Glu Tyr Ala Glu Ile Tyr Ala

260 265 270

Phe Gly Gly Pro Thr Ile Asp Leu Ile Pro Lys Ser Ala Arg Lys Tyr
275 280 285

Phe Glu Glu Lys Ala Leu Asp Tyr Tyr Arg Ser Ile Ala Lys Arg Leu
290 295 300

Asn Ser Ile Thr Thr Ala Asn Pro Ser Ser Phe Asn Lys Tyr Ile Gly
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Gln Lys Leu Ile Arg Lys Tyr Arg Phe Val Val Glu Ser
325 330 335

Ser Gly Glu Val Thr Val Asn Arg Asn Lys Phe Val Glu Leu Tyr Asn
340 345 350

Glu Leu Thr Gln Ile Phe Thr Glu Phe Asn Tyr Ala Lys Ile Tyr Asn
355 360 365

Val Gln Asn Arg Lys Ile Tyr Leu Ser Asn Val Tyr Thr Pro Val Thr
370 375 380

Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Val Tyr Asp Ile Gln Asn Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Pro Lys Ser Asn Leu Asn Val Leu Phe Met Gly Gln Asn Leu Ser
405 410 415

Arg Asn Pro Ala Leu Arg Lys Val Asn Pro Glu Asn Met Leu Tyr Leu
420 425 430

Phe Thr Lys Phe Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn
435 440 445

Lys Thr Leu Asp Cys Arg Glu Leu Leu Val Lys Asn Thr Asp Leu Pro
450 455 460

Phe Ile Gly Asp Ile Ser Asp Val Lys Thr Asp Ile Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480

Asp Ile Asn Glu Glu Thr Glu Val Ile Tyr Tyr Pro Asp Asn Val Ser
485 490 495

Val Asp Gln Val Ile Leu Ser Lys Asn Thr Ser Glu His Gly Gln Leu
500 505 510

Asp Leu Leu Tyr Pro Ser Ile Asp Ser Glu Ser Glu Ile Leu Pro Gly
515 520 525

Glu Asn Gln Val Phe Tyr Asp Asn Arg Thr Gln Asn Val Asp Tyr Leu
530 535 540

Asn Ser Tyr Tyr Tyr Leu Glu Ser Gln Lys Leu Ser Asp Asn Val Glu
545 550 555 560

Asp Phe Thr Phe Thr Arg Ser Ile Glu Glu Ala Leu Asp Asn Ser Ala
565 570 575

Lys Val Tyr Thr Tyr Phe Pro Thr Leu Ala Asn Lys Val Asn Ala Gly
580 585 590

Val Gln Gly Gly Leu Phe Leu Met Trp Ala Asn Asp Val Val Glu Asp
595 600 605

Phe Thr Thr Asn Ile Leu Arg Lys Asp Thr Leu Asp Lys Ile Ser Asp
610 615 620

Val Ser Ala Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Ser Asn
625 630 635 640

Ser Val Arg Arg Gly Asn Phe Thr Glu Ala Phe Ala Val Thr Gly Val
645 650 655

Thr Ile Leu Leu Glu Ala Phe Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ala Leu Gly
660 665 670

Ala Phe Val Ile Tyr Ser Lys Val Gln Glu Arg Asn Glu Ile Ile Lys
675 680 685

Thr Ile Asp Asn Cys Leu Glu Gln Arg Ile Lys Arg Trp Lys Asp Ser
690 695 700

Tyr Glu Trp Met Met Gly Thr Trp Leu Ser Arg Ile Ile Thr Gln Phe
705 710 715 720

Asn Asn Ile Ser Tyr Gln Met Tyr Asp Ser Leu Asn Tyr Gln Ala Gly
725 730 735

Ala Ile Lys Ala Lys Ile Asp Leu Glu Tyr Lys Lys Tyr Ser Gly Ser
740 745 750

Asp Lys Glu Asn Ile Lys Ser Gln Val Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu

755 760 765

Asp Val Lys Ile Ser Glu Ala Met Asn Asn Ile Asn Lys Phe Ile Arg
770 775 780

Glu Cys Ser Val Thr Tyr Leu Phe Lys Asn Met Leu Pro Lys Val Ile
785 790 795 800

Asp Glu Leu Asn Glu Phe Asp Arg Asn Thr Lys Ala Lys Leu Ile Asn
805 810 815

Leu Ile Asp Ser His Asn Ile Ile Leu Val Gly Glu Val Asp Lys Leu
820 825 830

Lys Ala Lys Val Asn Asn Ser Phe Gln Asn Thr Ile Pro Phe Asn Ile
835 840 845

Phe Ser Tyr Thr Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Ile Ile Asn Glu Tyr
850 855 860

Phe Asn Asn Ile Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys
865 870 875 880

Asn Thr Leu Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu
885 890 895

Gly Asp Val Gln Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly
900 905 910

Ser Ser Gly Glu Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn
915 920 925

Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile
930 935 940

Arg Ile Asn Lys Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp
945 950 955 960

Ser Val Lys Asn Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe
965 970 975

Leu Val Phe Thr Leu Lys Gln Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn
980 985 990

Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe
995 1000 1005

Phe Val Thr Val Thr Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr
1010 1015 1020

Ile Asn Gly Lys Leu Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr
1025 1030 1035

Gly Ile Asn Phe Ser Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile
1040 1045 1050

Pro Asp Thr Gly Leu Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met
1055 1060 1065

Trp Ile Arg Asp Phe Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys
1070 1075 1080

Asp Ile Asn Ile Leu Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val
1085 1090 1095

Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr
1100 1105 1110

Met Val Asn Ile Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser
1115 1120 1125

Arg Gln Ile Val Phe Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn
1130 1135 1140

Glu Gly Tyr Lys Ile Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn
1145 1150 1155

Asp Thr Arg Val Arg Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr
1160 1165 1170

Ile Asn Asn Lys Ala Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met
1175 1180 1185

Tyr Ala Asp Asn His Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu
1190 1195 1200

Arg Glu Gln Thr Lys Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile
1205 1210 1215

Gln Pro Met Asn Asn Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys
1220 1225 1230

Ser Asn Phe Asn Gly Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly

1235 1240 1245

Thr Tyr Arg Phe Arg Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr
1250 1255 1260

Leu Val Pro Thr Val Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu
1265 1270 1275

Ser Thr Ser Thr His Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu
1280 1285 1290

<210> 38

<211> 1276

<212> БЕЖИОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 38

Met Thr Trp Pro Val Lys Asp Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asp
1 5 10 15

Asn Asp Ile Leu Tyr Leu Arg Ile Pro Gln Asn Lys Leu Ile Thr Thr
20 25 30

Pro Val Lys Ala Phe Met Ile Thr Gln Asn Ile Trp Val Ile Pro Glu
35 40 45

Arg Phe Ser Ser Asp Thr Asn Pro Ser Leu Ser Lys Pro Pro Arg Pro
50 55 60

Thr Ser Lys Tyr Gln Ser Tyr Tyr Asp Pro Ser Tyr Leu Ser Thr Asp
65 70 75 80

Glu Gln Lys Asp Thr Phe Leu Lys Gly Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
85 90 95

Ile Asn Glu Arg Asp Ile Gly Lys Lys Leu Ile Asn Tyr Leu Val Val
100 105 110

Gly Ser Pro Phe Met Gly Asp Ser Ser Thr Pro Glu Asp Thr Phe Asp
115 120 125

Phe Thr Arg His Thr Thr Asn Ile Ala Val Glu Lys Phe Glu Asn Gly
130 135 140

Ser Trp Lys Val Thr Asn Ile Ile Thr Pro Ser Val Leu Ile Phe Gly
145 150 155 160

Pro Leu Pro Asn Ile Leu Asp Tyr Thr Ala Ser Leu Thr Leu Gln Gly
165 170 175

Gln Gln Ser Asn Pro Ser Phe Glu Gly Phe Gly Thr Leu Ser Ile Leu
180 185 190

Lys Val Ala Pro Glu Phe Leu Leu Thr Phe Ser Asp Val Thr Ser Asn
195 200 205

Gln Ser Ser Ala Val Leu Gly Lys Ser Ile Phe Cys Met Asp Pro Val
210 215 220

Ile Ala Leu Met His Glu Leu Thr His Ser Leu His Gln Leu Tyr Gly
225 230 235 240

Ile Asn Ile Pro Ser Asp Lys Arg Ile Arg Pro Gln Val Ser Glu Gly
245 250 255

Phe Phe Ser Gln Asp Gly Pro Asn Val Gln Phe Glu Glu Leu Tyr Thr
260 265 270

Phe Gly Gly Leu Asp Val Glu Ile Ile Pro Gln Ile Glu Arg Ser Gln
275 280 285

Leu Arg Glu Lys Ala Leu Gly His Tyr Lys Asp Ile Ala Lys Arg Leu
290 295 300

Asn Asn Ile Asn Lys Thr Ile Pro Ser Ser Trp Ile Ser Asn Ile Asp
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Ile Phe Ser Glu Lys Tyr Asn Phe Asp Lys Asp Asn
325 330 335

Thr Gly Asn Phe Val Val Asn Ile Asp Lys Phe Asn Ser Leu Tyr Ser
340 345 350

Asp Leu Thr Asn Val Met Ser Glu Val Val Tyr Ser Ser Gln Tyr Asn
355 360 365

Val Lys Asn Arg Thr His Tyr Phe Ser Arg His Tyr Leu Pro Val Phe
370 375 380

Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ile Tyr Thr Ile Arg Asp Gly Phe Asn
385 390 395 400

Leu Thr Asn Lys Gly Phe Asn Ile Glu Asn Ser Gly Gln Asn Ile Glu
405 410 415

Arg Asn Pro Ala Leu Gln Lys Leu Ser Ser Glu Ser Val Val Asp Leu
420 425 430

Phe Thr Lys Val Cys Leu Arg Leu Thr Lys Asn Ser Arg Asp Asp Ser
435 440 445

Thr Cys Ile Lys Val Lys Asn Asn Arg Leu Pro Tyr Val Ala Asp Lys
450 455 460

Asp Ser Ile Ser Gln Glu Ile Phe Glu Asn Lys Ile Ile Thr Asp Glu
465 470 475 480

Thr Asn Val Gln Asn Tyr Ser Asp Lys Phe Ser Leu Asp Glu Ser Ile
485 490 495

Leu Asp Gly Gln Val Pro Ile Asn Pro Glu Ile Val Asp Pro Leu Leu
500 505 510

Pro Asn Val Asn Met Glu Pro Leu Asn Leu Pro Gly Glu Glu Ile Val
515 520 525

Phe Tyr Asp Asp Ile Thr Lys Tyr Val Asp Tyr Leu Asn Ser Tyr Tyr
530 535 540

Tyr Leu Glu Ser Gln Lys Leu Ser Asn Asn Val Glu Asn Ile Thr Leu
545 550 555 560

Thr Thr Ser Val Glu Glu Ala Leu Gly Tyr Ser Asn Lys Ile Tyr Thr
565 570 575

Phe Leu Pro Ser Leu Ala Glu Lys Val Asn Lys Gly Val Gln Ala Gly
580 585 590

Leu Phe Leu Asn Trp Ala Asn Glu Val Val Glu Asp Phe Thr Thr Asn
595 600 605

Ile Met Lys Lys Asp Thr Leu Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Val Ile
610 615 620

Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Gly Asn Ser Ala Leu Arg
625 630 635 640

Gly Asn Phe Asn Gln Ala Phe Ala Thr Ala Gly Val Ala Phe Leu Leu
645 650 655

Glu Gly Phe Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ala Leu Gly Val Phe Thr Phe
660 665 670

Tyr Ser Ser Ile Gln Glu Arg Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Glu Asn
675 680 685

Cys Leu Glu Gln Arg Val Lys Arg Trp Lys Asp Ser Tyr Gln Trp Met
690 695 700

Val Ser Asn Trp Leu Ser Arg Ile Thr Thr Gln Phe Asn His Ile Asn
705 710 715 720

Tyr Gln Met Tyr Asp Ser Leu Ser Tyr Gln Ala Asp Ala Ile Lys Ala
725 730 735

Lys Ile Asp Leu Glu Tyr Lys Lys Tyr Ser Gly Ser Asp Lys Glu Asn
740 745 750

Ile Lys Ser Gln Val Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu Asp Val Lys Ile
755 760 765

Ser Glu Ala Met Asn Asn Ile Asn Lys Phe Ile Arg Glu Cys Ser Val
770 775 780

Thr Tyr Leu Phe Lys Asn Met Leu Pro Lys Val Ile Asp Glu Leu Asn
785 790 795 800

Lys Phe Asp Leu Arg Thr Lys Thr Glu Leu Ile Asn Leu Ile Asp Ser
805 810 815

His Asn Ile Ile Leu Val Gly Glu Val Asp Arg Leu Lys Ala Lys Val
820 825 830

Asn Glu Ser Phe Glu Asn Thr Met Pro Phe Asn Ile Phe Ser Tyr Thr
835 840 845

Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Ile Ile Asn Glu Tyr Phe Asn Ser Ile
850 855 860

Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Lys Lys Asn Ala Leu Val
865 870 875 880

Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Arg Val Gly Asp Asn Val Gln
885 890 895

Leu Asn Thr Ile Tyr Thr Asn Asp Phe Lys Leu Ser Ser Ser Gly Asp
900 905 910

Lys Ile Ile Val Asn Leu Asn Asn Ile Leu Tyr Ser Ala Ile Tyr
915 920 925

Glu Asn Ser Ser Val Ser Phe Trp Ile Lys Ile Ser Lys Asp Leu Thr
930 935 940

Asn Ser His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Ser Ile Glu Gln Asn Ser
945 950 955 960

Gly Trp Lys Leu Cys Ile Arg Asn Gly Asn Ile Glu Trp Ile Leu Gln
965 970 975

Asp Val Asn Arg Lys Tyr Lys Ser Leu Ile Phe Asp Tyr Ser Glu Ser
980 985 990

Leu Ser His Thr Gly Tyr Thr Asn Lys Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr
995 1000 1005

Asn Asn Ile Met Gly Tyr Met Lys Leu Tyr Ile Asn Gly Glu Leu
1010 1015 1020

Lys Gln Ser Gln Lys Ile Glu Asp Leu Asp Glu Val Lys Leu Asp
1025 1030 1035

Lys Thr Ile Val Phe Gly Ile Asp Glu Asn Ile Asp Glu Asn Gln
1040 1045 1050

Met Leu Trp Ile Arg Asp Phe Asn Ile Phe Ser Lys Glu Leu Ser
1055 1060 1065

Asn Glu Asp Ile Asn Ile Val Tyr Glu Gly Gln Ile Leu Arg Asn
1070 1075 1080

Val Ile Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Pro Leu Lys Phe Asp Thr Glu
1085 1090 1095

Tyr Tyr Ile Ile Asn Asp Asn Tyr Ile Asp Arg Tyr Ile Ala Pro
1100 1105 1110

Glu Ser Asn Val Leu Val Leu Val Gln Tyr Pro Asp Arg Ser Lys
1115 1120 1125

Leu Tyr Thr Gly Asn Pro Ile Thr Ile Lys Ser Val Ser Asp Lys
1130 1135 1140

Asn Pro Tyr Ser Arg Ile Leu Asn Gly Asp Asn Ile Ile Leu His
1145 1150 1155

Met Leu Tyr Asn Ser Arg Lys Tyr Met Ile Ile Arg Asp Thr Asp
1160 1165 1170

Thr Ile Tyr Ala Thr Gln Gly Gly Glu Cys Ser Gln Asn Cys Val
1175 1180 1185

Tyr Ala Leu Lys Leu Gln Ser Asn Leu Gly Asn Tyr Gly Ile Gly
1190 1195 1200

Ile Phe Ser Ile Lys Asn Ile Val Ser Lys Asn Lys Tyr Cys Ser
1205 1210 1215

Gln Ile Phe Ser Ser Phe Arg Glu Asn Thr Met Leu Leu Ala Asp
1220 1225 1230

Ile Tyr Lys Pro Trp Arg Phe Ser Phe Lys Asn Ala Tyr Thr Pro
1235 1240 1245

Val Ala Val Thr Asn Tyr Glu Thr Lys Leu Leu Ser Thr Ser Ser
1250 1255 1260

Phe Trp Lys Phe Ile Ser Arg Asp Pro Gly Trp Val Glu
1265 1270 1275

<210> 39

<211> 1251

<212> БЕЛЮК

<213> Clostridium botulinum

<400> 39

Met Pro Lys Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp Arg
1 5 10 15

Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Glu Phe Tyr Lys Ser
20 25 30

Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
35 40 45

Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
50 55 60

Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys
65 70 75 80

Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn
85 90 95

Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
100 105 110

Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp
115 120 125

Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu
130 135 140

Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
145 150 155 160

Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
165 170 175

Arg Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
180 185 190

Arg Phe Asn Asp Asn Cys Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
195 200 205

Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
210 215 220

Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
225 230 235 240

Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
245 250 255

Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
260 265 270

Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
275 280 285

Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
290 295 300

Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
305 310 315 320

Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu

325 330 335

Phe Asp Leu Arg Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
340 345 350

Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
355 360 365

Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
370 375 380

Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
385 390 395 400

Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys Lys Asn Ile Val
405 410 415

Ser Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys Ile Glu Ile Asn Asn Gly
420 425 430

Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn Asp Asp Asn Ile
435 440 445

Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser Asn Asn Asn Tyr
450 455 460

Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn Ser Glu Ser Ala
465 470 475 480

Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile Gln Asn Asp Ala
485 490 495

Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp Ile Glu Gln His
500 505 510

Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp Ala Gln Lys Val
515 520 525

Pro Glu Gly Glu Asn Asn Val Asn Leu Thr Ser Ser Ile Asp Thr Ala
530 535 540

Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Glu Phe Ile
545 550 555 560

Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe Val Ser Trp Ile
565 570 575

Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn Gln Lys Ser Thr
580 585 590

Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro Tyr Ile Gly Leu
595 600 605

Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn Phe Lys Asp Ala
610 615 620

Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Glu Pro Glu Leu
625 630 635 640

Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe Leu Gly Ser
645 650 655

Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn Asn Ala Leu Lys
660 665 670

Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe Ile Val Ser Asn
675 680 685

Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys Glu Gln Met
690 695 700

Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Ile Lys Thr Ile Ile Glu
705 710 715 720

Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn Glu Leu Thr Asn
725 730 735

Lys Tyr Asp Ile Lys Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn Gln Lys Val Ser
740 745 750

Ile Ala Met Asn Asn Ile Asp Arg Phe Leu Thr Glu Ser Ser Ile Ser
755 760 765

Tyr Leu Met Lys Ile Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn Lys Leu Arg Glu
770 775 780

Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr Ile Ile Gln His
785 790 795 800

Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn Ser Met Val Thr
805 810 815

Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser Ser Tyr Thr Asp

820 825 830

Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe Lys Arg Ile Lys
835 840 845

Ser Ser Ser Val Leu Asn Met Arg Tyr Lys Asn Asp Lys Tyr Val Asp
850 855 860

Thr Ser Gly Tyr Asp Ser Asn Ile Asn Ile Asn Gly Asp Val Tyr Lys
865 870 875 880

Tyr Pro Thr Asn Lys Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Asn Asp Lys Leu Ser
885 890 895

Glu Val Asn Ile Ser Gln Asn Asp Tyr Ile Ile Tyr Asp Asn Lys Tyr
900 905 910

Lys Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro Asn Tyr Asp Asn
915 920 925

Lys Ile Val Asn Val Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Arg
930 935 940

Asp Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn His Asn Glu Ile Ile
945 950 955 960

Trp Thr Phe Glu Asp Asn Arg Gly Ile Asn Gln Lys Leu Ala Phe Asn
965 970 975

Tyr Gly Asn Ala Asn Gly Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys Trp Ile Phe
980 985 990

Val Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Asn
995 1000 1005

Gly Asn Leu Ile Asp Gln Lys Ser Ile Leu Asn Leu Gly Asn Ile
1010 1015 1020

His Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Asn Cys Ser Tyr
1025 1030 1035

Thr Arg Tyr Ile Gly Ile Arg Tyr Phe Asn Ile Phe Asp Lys Glu
1040 1045 1050

Leu Asp Glu Thr Glu Ile Gln Thr Leu Tyr Ser Asn Glu Pro Asn
1055 1060 1065

Thr Asn Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asp
1070 1075 1080

Lys Glu Tyr Tyr Leu Leu Asn Val Leu Lys Pro Asn Asn Phe Ile
1085 1090 1095

Asp Arg Arg Lys Asp Ser Thr Leu Ser Ile Asn Asn Ile Arg Ser
1100 1105 1110

Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg Leu Tyr Ser Gly Ile Lys Val Lys
1115 1120 1125

Ile Gln Arg Val Asn Asn Ser Ser Thr Asn Asp Asn Leu Val Arg
1130 1135 1140

Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Phe Val Ala Ser Lys Thr His
1145 1150 1155

Leu Phe Pro Leu Tyr Ala Asp Thr Ala Thr Thr Asn Lys Glu Lys
1160 1165 1170

Thr Ile Lys Ile Ser Ser Ser Gly Asn Arg Phe Asn Gln Val Val
1175 1180 1185

Val Met Asn Ser Val Gly Asn Cys Thr Met Asn Phe Lys Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Gly Asn Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe Lys Ala Asp Thr Val
1205 1210 1215

Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His Met Arg Asp His Thr Asn
1220 1225 1230

Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile Ser Glu Glu His Gly Trp
1235 1240 1245

Gln Glu Lys
1250

<210> 40

<211> 1278

<212> БЕЛЮК

<213> Clostridium botulinum

<400> 40

Met Pro Val Val Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp
1 5 10 15

Asp Thr Ile Leu Tyr Met Gln Ile Pro Tyr Glu Glu Lys Ser Lys Lys
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Glu Ile Met Arg Asn Val Trp Ile Ile Pro Glu
35 40 45

Arg Asn Thr Ile Gly Thr Asp Pro Ser Asp Phe Asp Pro Pro Ala Ser
50 55 60

Leu Glu Asn Gly Ser Ser Ala Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Thr Thr
65 70 75 80

Asp Ala Glu Lys Asp Arg Tyr Leu Lys Thr Thr Ile Lys Leu Phe Lys
85 90 95

Arg Ile Asn Ser Asn Pro Ala Gly Glu Val Leu Leu Gln Glu Ile Ser
100 105 110

Tyr Ala Lys Pro Tyr Leu Gly Asn Glu His Thr Pro Ile Asn Glu Phe
115 120 125

His Pro Val Thr Arg Thr Thr Ser Val Asn Ile Lys Ser Ser Thr Asn
130 135 140

Val Lys Ser Ser Ile Ile Leu Asn Leu Leu Val Leu Gly Ala Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Phe Glu Asn Ser Ser Tyr Pro Val Arg Lys Leu Met Asp Ser
165 170 175

Gly Gly Val Tyr Asp Pro Ser Asn Asp Gly Phe Gly Ser Ile Asn Ile
180 185 190

Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Glu Tyr Thr Phe Asn Asp Ile Ser Gly
195 200 205

Gly Tyr Asn Ser Ser Thr Glu Ser Phe Ile Ala Asp Pro Ala Ile Ser
210 215 220

Leu Ala His Glu Leu Ile His Ala Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala Arg
225 230 235 240

Gly Val Thr Tyr Lys Glu Thr Ile Lys Val Lys Gln Ala Pro Leu Met
245 250 255

Ile Ala Glu Lys Pro Ile Arg Leu Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Gln Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Met Lys Glu Lys Ile Tyr Asn
275 280 285

Asn Leu Leu Ala Asn Tyr Glu Lys Ile Ala Thr Arg Leu Ser Arg Val
290 295 300

Asn Ser Ala Pro Pro Glu Tyr Asp Ile Asn Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe
305 310 315 320

Gln Trp Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asn Ala Asp Gly Ser Tyr Thr Val
325 330 335

Asn Glu Asn Lys Phe Asn Glu Ile Tyr Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr
340 345 350

Glu Ile Asp Leu Ala Asn Lys Phe Lys Val Lys Cys Arg Asn Thr Tyr
355 360 365

Phe Ile Lys Tyr Gly Phe Leu Lys Val Pro Asn Leu Leu Asp Asp Asp
370 375 380

Ile Tyr Thr Val Ser Glu Gly Phe Asn Ile Gly Asn Leu Ala Val Asn
385 390 395 400

Asn Arg Gly Gln Asn Ile Lys Leu Asn Pro Lys Ile Ile Asp Ser Ile
405 410 415

Pro Asp Lys Gly Leu Val Glu Lys Ile Val Lys Phe Cys Lys Ser Val
420 425 430

Ile Pro Arg Lys Gly Thr Lys Ala Pro Pro Arg Leu Cys Ile Arg Val
435 440 445

Asn Asn Arg Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Ser Ser Tyr Asn Glu
450 455 460

Asn Asp Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Thr Asn Leu Asn
465 470 475 480

Asn Asn Tyr Arg Asn Asn Leu Asp Glu Val Ile Leu Asp Tyr Asn Ser
485 490 495

Glu Thr Ile Pro Gln Ile Ser Asn Gln Thr Leu Asn Thr Leu Val Gln
500 505 510

Asp Asp Ser Tyr Val Pro Arg Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Glu Ile
515 520 525

Glu Glu His Asn Val Val Asp Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu His Ala
530 535 540

Gln Lys Val Pro Glu Gly Glu Thr Asn Ile Ser Leu Thr Ser Ser Ile
545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Ser Glu Glu Ser Gln Val Tyr Thr Phe Phe Ser Ser
565 570 575

Glu Phe Ile Asn Thr Ile Asn Lys Pro Val His Ala Ala Leu Phe Ile
580 585 590

Ser Trp Ile Asn Gln Val Ile Arg Asp Phe Thr Thr Glu Ala Thr Gln
595 600 605

Lys Ser Thr Phe Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Leu Val Val Pro Tyr
610 615 620

Val Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Val Gln Lys Glu Asn Phe
625 630 635 640

Lys Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Val
645 650 655

Pro Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe
660 665 670

Ile Gly Ser Ser Glu Asn Lys Asn Lys Ile Ile Lys Ala Ile Asn Asn
675 680 685

Ser Leu Met Glu Arg Glu Thr Lys Trp Lys Glu Ile Tyr Ser Trp Ile
690 695 700

Val Ser Asn Trp Leu Thr Arg Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys
705 710 715 720

Glu Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asp Ala Ile Lys Thr
725 730 735

Val Ile Glu Tyr Lys Tyr Asn Asn Tyr Thr Ser Asp Glu Arg Asn Arg
740 745 750

Leu Glu Ser Glu Tyr Asn Ile Asn Asn Ile Arg Glu Glu Leu Asn Lys
755 760 765

Lys Val Ser Leu Ala Met Glu Asn Ile Glu Arg Phe Ile Thr Glu Ser
770 775 780

Ser Ile Phe Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Ala Lys Val Ser Lys
785 790 795 800

Leu Arg Glu Tyr Asp Glu Gly Val Lys Glu Tyr Leu Leu Asp Tyr Ile
805 810 815

Ser Glu His Arg Ser Ile Leu Gly Asn Ser Val Gln Glu Leu Asn Asp
820 825 830

Leu Val Thr Ser Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Glu Leu Ser Ser
835 840 845

Tyr Thr Asn Asp Lys Ile Leu Ile Leu Tyr Phe Asn Lys Leu Tyr Lys
850 855 860

Lys Ile Lys Asp Asn Ser Ile Leu Asp Met Arg Tyr Glu Asn Asn Lys
865 870 875 880

Phe Ile Asp Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Asn Ile Ser Ile Asn Gly Asp
885 890 895

Val Tyr Ile Tyr Ser Thr Asn Arg Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Ser Ser
900 905 910

Lys Pro Ser Glu Val Asn Ile Ala Gln Asn Asn Asp Ile Ile Tyr Asn
915 920 925

Gly Arg Tyr Gln Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro Lys
930 935 940

Tyr Phe Asn Lys Val Asn Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asp Cys
945 950 955 960

Ile Arg Asn Asn Asn Ser Gly Trp Lys Ile Ser Leu Asn Tyr Asn Lys
965 970 975

Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Ala Gly Asn Asn Gln Lys Leu Val
980 985 990

Phe Asn Tyr Thr Gln Met Ile Ser Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys Trp
995 1000 1005

Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Gly Asn Ser Arg Ile
1010 1015 1020

Tyr Ile Asn Gly Asn Leu Ile Asp Glu Lys Ser Ile Ser Asn Leu
1025 1030 1035

Gly Asp Ile His Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Gly
1040 1045 1050

Cys Asn Asp Thr Arg Tyr Val Gly Ile Arg Tyr Phe Lys Val Phe
1055 1060 1065

Asp Thr Glu Leu Gly Lys Thr Glu Ile Glu Thr Leu Tyr Ser Asp
1070 1075 1080

Glu Pro Asp Pro Ser Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu
1085 1090 1095

Leu Tyr Asn Lys Arg Tyr Tyr Leu Leu Asn Leu Leu Arg Thr Asp
1100 1105 1110

Lys Ser Ile Thr Gln Asn Ser Asn Phe Leu Asn Ile Asn Gln Gln
1115 1120 1125

Arg Gly Val Tyr Gln Lys Pro Asn Ile Phe Ser Asn Thr Arg Leu
1130 1135 1140

Tyr Thr Gly Val Glu Val Ile Ile Arg Lys Asn Gly Ser Thr Asp
1145 1150 1155

Ile Ser Asn Thr Asp Asn Phe Val Arg Lys Asn Asp Leu Ala Tyr
1160 1165 1170

Ile Asn Val Val Asp Arg Asp Val Glu Tyr Arg Leu Tyr Ala Asp
1175 1180 1185

Ile Ser Ile Ala Lys Pro Glu Lys Ile Ile Lys Leu Ile Arg Thr
1190 1195 1200

Ser Asn Ser Asn Asn Ser Leu Gly Gln Ile Ile Val Met Asp Ser
1205 1210 1215

Ile Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn Phe Gln Asn Asn Asn Gly Gly
1220 1225 1230

Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Leu Val Ala Ser
1235 1240 1245

Ser Trp Tyr Tyr Asn Asn Ile Arg Lys Asn Thr Ser Ser Asn Gly
1250 1255 1260

Cys Phe Trp Ser Phe Ile Ser Lys Glu His Gly Trp Gln Glu Asn
1265 1270 1275

<210> 41

<211> 1297

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (7)..(7)

<223> Xaa может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 41

Met Pro Val Asn Ile Lys Xaa Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asn Asn
1 5 10 15

Asp Asp Ile Ile Met Met Glu Pro Phe Asn Asp Pro Gly Pro Gly Thr
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Arg Ile Ile Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu
35 40 45

Arg Phe Thr Tyr Gly Phe Gln Pro Asp Gln Phe Asn Ala Ser Thr Gly
50 55 60

Val Phe Ser Lys Asp Val Tyr Glu Tyr Tyr Asp Pro Thr Tyr Leu Lys
65 70 75 80

Thr Asp Ala Glu Lys Asp Lys Phe Leu Lys Thr Met Ile Lys Leu Phe
85 90 95

Asn Arg Ile Asn Ser Lys Pro Ser Gly Gln Arg Leu Leu Asp Met Ile
100 105 110

Val Asp Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ala Ser Thr Pro Pro Asp Lys
115 120 125

Phe Ala Ala Asn Val Ala Asn Val Ser Ile Asn Lys Lys Ile Ile Gln
130 135 140

Pro Gly Ala Glu Asp Gln Ile Lys Gly Leu Met Thr Asn Leu Ile Ile

145 150 155 160

Phe Gly Pro Gly Pro Val Leu Ser Asp Asn Phe Thr Asp Ser Met Ile
165 170 175

Met Asn Gly His Ser Pro Ile Ser Glu Gly Phe Gly Ala Arg Met Met
180 185 190

Ile Arg Phe Cys Pro Ser Cys Leu Asn Val Phe Asn Asn Val Gln Glu
195 200 205

Asn Lys Asp Thr Ser Ile Phe Ser Arg Arg Ala Tyr Phe Ala Asp Pro
210 215 220

Ala Leu Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly Leu Tyr
225 230 235 240

Gly Ile Lys Ile Ser Asn Leu Pro Ile Thr Pro Asn Thr Lys Glu Phe
245 250 255

Phe Met Gln His Ser Asp Pro Val Gln Ala Glu Glu Leu Tyr Thr Phe
260 265 270

Gly Gly His Asp Pro Ser Val Ile Ser Pro Ser Thr Asp Met Asn Ile
275 280 285

Tyr Asn Lys Ala Leu Gln Asn Phe Gln Asp Ile Ala Asn Arg Leu Asn
290 295 300

Ile Val Ser Ser Ala Gln Gly Ser Gly Ile Asp Ile Ser Leu Tyr Lys
305 310 315 320

Gln Ile Tyr Lys Asn Lys Tyr Asp Phe Val Glu Asp Pro Asn Gly Lys
325 330 335

Tyr Ser Val Asp Lys Asp Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Ala Leu Met
340 345 350

Phe Gly Phe Thr Glu Thr Asn Leu Ala Gly Glu Tyr Gly Ile Lys Thr
355 360 365

Arg Tyr Ser Tyr Phe Ser Glu Tyr Leu Pro Pro Ile Lys Thr Glu Lys
370 375 380

Leu Leu Asp Asn Thr Ile Tyr Thr Gln Asn Glu Gly Phe Asn Ile Ala
385 390 395 400

Ser Lys Asn Leu Lys Thr Glu Phe Asn Gly Gln Asn Lys Ala Val Asn
405 410 415

Lys Glu Ala Tyr Glu Glu Ile Ser Leu Glu His Leu Val Ile Tyr Arg
420 425 430

Ile Ala Met Cys Lys Pro Val Met Tyr Lys Asn Thr Gly Lys Ser Glu
435 440 445

Gln Cys Ile Ile Val Asn Asn Glu Asp Leu Phe Phe Ile Ala Asn Lys
450 455 460

Asp Ser Phe Ser Lys Asp Leu Ala Lys Ala Glu Thr Ile Ala Tyr Asn
465 470 475 480

Thr Gln Asn Asn Thr Ile Glu Asn Asn Phe Ser Ile Asp Gln Leu Ile
485 490 495

Leu Asp Asn Asp Leu Ser Ser Gly Ile Asp Leu Pro Asn Glu Asn Thr
500 505 510

Glu Pro Phe Thr Asn Phe Asp Asp Ile Asp Ile Pro Val Tyr Ile Lys
515 520 525

Gln Ser Ala Leu Lys Lys Ile Phe Val Asp Gly Asp Ser Leu Phe Glu
530 535 540

Tyr Leu His Ala Gln Thr Phe Pro Ser Asn Ile Glu Asn Leu Gln Leu
545 550 555 560

Thr Asn Ser Leu Asn Asp Ala Leu Arg Asn Asn Asn Lys Val Tyr Thr
565 570 575

Phe Phe Ser Thr Asn Leu Val Glu Lys Ala Asn Thr Val Val Gly Ala
580 585 590

Ser Leu Phe Val Asn Trp Val Lys Gly Val Ile Asp Asp Phe Thr Ser
595 600 605

Glu Ser Thr Gln Lys Ser Thr Ile Asp Lys Val Ser Asp Val Ser Ile
610 615 620

Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Val Gly Asn Glu Thr Ala
625 630 635 640

Lys Glu Asn Phe Lys Asn Ala Phe Glu Ile Gly Gly Ala Ala Ile Leu

645 650 655

Met Glu Phe Ile Pro Glu Leu Ile Val Pro Ile Val Gly Phe Phe Thr
660 665 670

Leu Glu Ser Tyr Val Gly Asn Lys Gly His Ile Ile Met Thr Ile Ser
675 680 685

Asn Ala Leu Lys Lys Arg Asp Gln Lys Trp Thr Asp Met Tyr Gly Leu
690 695 700

Ile Val Ser Gln Trp Leu Ser Thr Val Asn Thr Gln Phe Tyr Thr Ile
705 710 715 720

Lys Glu Arg Met Tyr Asn Ala Leu Asn Asn Gln Ser Gln Ala Ile Glu
725 730 735

Lys Ile Ile Glu Asp Gln Tyr Asn Arg Tyr Ser Glu Glu Asp Lys Met
740 745 750

Asn Ile Asn Ile Asp Phe Asn Asp Ile Asp Phe Lys Leu Asn Gln Ser
755 760 765

Ile Asn Leu Ala Ile Asn Asn Ile Asp Asp Phe Ile Asn Gln Cys Ser
770 775 780

Ile Ser Tyr Leu Met Asn Arg Met Ile Pro Leu Ala Val Lys Lys Leu
785 790 795 800

Lys Asp Phe Asp Asp Asn Leu Lys Arg Asp Leu Leu Glu Tyr Ile Asp
805 810 815

Thr Asn Glu Leu Tyr Leu Leu Asp Glu Val Asn Ile Leu Lys Ser Lys
820 825 830

Val Asn Arg His Leu Lys Asp Ser Ile Pro Phe Asp Leu Ser Leu Tyr
835 840 845

Thr Lys Asp Thr Ile Leu Ile Gln Val Phe Asn Asn Tyr Ile Ser Asn
850 855 860

Ile Ser Ser Asn Ala Ile Leu Ser Leu Ser Tyr Arg Gly Gly Arg Leu
865 870 875 880

Ile Asp Ser Ser Gly Tyr Gly Ala Thr Met Asn Val Gly Ser Asp Val
885 890 895

Ile Phe Asn Asp Ile Gly Asn Gly Gln Phe Lys Leu Asn Asn Ser Glu
900 905 910

Asn Ser Asn Ile Thr Ala His Gln Ser Lys Phe Val Val Tyr Asp Ser
915 920 925

Met Phe Asp Asn Phe Ser Ile Asn Phe Trp Val Arg Thr Pro Lys Tyr
930 935 940

Asn Asn Asn Asp Ile Gln Thr Tyr Leu Gln Asn Glu Tyr Thr Ile Ile
945 950 955 960

Ser Cys Ile Lys Asn Asp Ser Gly Trp Lys Val Ser Ile Lys Gly Asn
965 970 975

Arg Ile Ile Trp Thr Leu Ile Asp Val Asn Ala Lys Ser Lys Ser Ile
980 985 990

Phe Phe Glu Tyr Ser Ile Lys Asp Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys
995 1000 1005

Trp Phe Ser Ile Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asn Ala Asn
1010 1015 1020

Ile Tyr Ile Asn Gly Ser Leu Lys Lys Ser Glu Lys Ile Leu Asn
1025 1030 1035

Leu Asp Arg Ile Asn Ser Ser Asn Asp Ile Asp Phe Lys Leu Ile
1040 1045 1050

Asn Cys Thr Asp Thr Thr Lys Phe Val Trp Ile Lys Asp Phe Asn
1055 1060 1065

Ile Phe Gly Arg Glu Leu Asn Ala Thr Glu Val Ser Ser Leu Tyr
1070 1075 1080

Trp Ile Gln Ser Ser Thr Asn Thr Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn
1085 1090 1095

Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Gln Tyr Tyr Leu Phe Asn Gln Gly Met
1100 1105 1110

Gln Asn Ile Tyr Ile Lys Tyr Phe Ser Lys Ala Ser Met Gly Glu
1115 1120 1125

Thr Ala Pro Arg Thr Asn Phe Asn Asn Ala Ala Ile Asn Tyr Gln

1130 1135 1140

Asn Leu Tyr Leu Gly Leu Arg Phe Ile Ile Lys Lys Ala Ser Asn
1145 1150 1155

Ser Arg Asn Ile Asn Asn Asp Asn Ile Val Arg Glu Gly Asp Tyr
1160 1165 1170

Ile Tyr Leu Asn Ile Asp Asn Ile Ser Asp Glu Ser Tyr Arg Val
1175 1180 1185

Tyr Val Leu Val Asn Ser Lys Glu Ile Gln Thr Gln Leu Phe Leu
1190 1195 1200

Ala Pro Ile Asn Asp Asp Pro Thr Phe Tyr Asp Val Leu Gln Ile
1205 1210 1215

Lys Lys Tyr Tyr Glu Lys Thr Thr Tyr Asn Cys Gln Ile Leu Cys
1220 1225 1230

Glu Lys Asp Thr Lys Thr Phe Gly Leu Phe Gly Ile Gly Lys Phe
1235 1240 1245

Val Lys Asp Tyr Gly Tyr Val Trp Asp Thr Tyr Asp Asn Tyr Phe
1250 1255 1260

Cys Ile Ser Gln Trp Tyr Leu Arg Arg Ile Ser Glu Asn Ile Asn
1265 1270 1275

Lys Leu Arg Leu Gly Cys Asn Trp Gln Phe Ile Pro Val Asp Glu
1280 1285 1290

Gly Trp Thr Glu
1295

<210> 42

<211> 1315

<212> БЕЖИОК

<213> Clostridium tetani

<400> 42

Met Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn
1 5 10 15

Asp Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu
35 40 45

Arg Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser
50 55 60

Leu Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr
65 70 75 80

Asp Ser Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn
85 90 95

Arg Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile
100 105 110

Asn Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe
115 120 125

Asp Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro
130 135 140

Ser Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe
145 150 155 160

Gly Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu
165 170 175

Arg Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser
180 185 190

Ile Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn
195 200 205

Val Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe
210 215 220

Gln Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His
225 230 235 240

Gly Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Ser His Glu Ile Ile Pro Ser Lys
245 250 255

Gln Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu
260 265 270

Phe Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys
275 280 285

Asn Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn
290 295 300

Lys Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp
305 310 315 320

Ser Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Ser
325 330 335

Asn Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn
340 345 350

Ser Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn
355 360 365

Ile Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys
370 375 380

Ile Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe
385 390 395 400

Asn Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met
405 410 415

Arg Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Ser Gly Leu Val
420 425 430

Ser Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile
435 440 445

Arg Glu Asn Leu Tyr Asn Arg Thr Ala Ser Leu Thr Asp Leu Gly Gly
450 455 460

Glu Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu
465 470 475 480

Lys Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr
485 490 495

Asn Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile
500 505 510

Ile Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg
515 520 525

Thr Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser
530 535 540

Asn Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile
545 550 555 560

Tyr Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile
565 570 575

Thr Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile
580 585 590

Tyr Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln
595 600 605

Gly Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr
610 615 620

Asn Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser
625 630 635 640

Thr Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly
645 650 655

Tyr Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu
660 665 670

Leu Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu
675 680 685

Ser Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile
690 695 700

Asp Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys
705 710 715 720

Leu Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys
725 730 735

Arg Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile
740 745 750

Lys Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys
755 760 765

Glu Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu
770 775 780

Lys Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser
785 790 795 800

Ser Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln
805 810 815

Leu Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile
820 825 830

Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu
835 840 845

Ser Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser
850 855 860

Lys Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile
865 870 875 880

Leu Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile
885 890 895

Ser Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala
900 905 910

Gln Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn
915 920 925

Glu Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn
930 935 940

Asp Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys
945 950 955 960

Val Ser Ala Ser His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile
965 970 975

Ile Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser
980 985 990

Val Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala
995 1000 1005

Gly Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg Asp Leu Pro Asp Lys Phe
1010 1015 1020

Asn Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe Ile Thr Ile Thr Asn
1025 1030 1035

Asp Arg Leu Ser Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn Gly Val Leu Met
1040 1045 1050

Gly Ser Ala Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg Glu Asp Asn
1055 1060 1065

Asn Ile Thr Leu Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr
1070 1075 1080

Val Ser Ile Asp Lys Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro
1085 1090 1095

Lys Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe
1100 1105 1110

Leu Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr
1115 1120 1125

Tyr Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys
1130 1135 1140

Asn Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Ser Tyr Thr
1145 1150 1155

Asn Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu
1160 1165 1170

Lys Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Ser
1175 1180 1185

Phe Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn
1190 1195 1200

Asn Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe
1205 1210 1215

Asn Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly
1220 1225 1230

Ile Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu
1235 1240 1245

Lys Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala
1250 1255 1260

Ser Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp
1265 1270 1275

Pro Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His
1280 1285 1290

Leu Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr
1295 1300 1305

Asp Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310 1315

<210> 43

<211> 2634

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/A1 с участком расщепления ЕК

<400> 43

atggagttcg ttaacaaca gttcaactat aaagaccag ttaacggtgt tgacattgct 60

tacatcaaaa tcccgaacgc tggccagatg cagccggtaa aggcattcaa aatccacaac 120

aaaatctggg ttatcccga acgtgatacc ttactaacc cggaagaagg tgacctgaac 180

ccgccaccgg aagcgaaca ggtgccgga ttactatg actcaccta cctgtctacc 240

gataacgaaa aggacaacta cctgaaagg gttactaac tgttcgagcg tatttactcc 300

accgacctgg gccgtatgct gctgactagc atcgttcgcg gtatcccggt ctggggcggg 360

tctaccatcg ataccgaact gaaagtaac gacactaact gcatcaact tattcagccg 420

gacggttct atcgttccga agaactgaac ctggtgatca tggcccgtc tgctgatac 480

atccagttcg agtgaagag ctttggcac gaagtctga acctacccg taacggctac 540

ggtccactc agtacatccg ttctctccg gacttcact tggtttga agaaccctg 600

gaagtagaca cgaaccact gctgggcgct ggtaaattcg caactgatcc tgcggttacc 660

ctggctcag aactgattca tgcaggccac cgcctgtacg gtagccat caatccgaac 720

cgtgtctca aagtaaacac caacgcgtat tacgagatgt ccggtctgga agttagcttc 780

gaagaactgc gtactttgg cggtcacgac gctaaattca tgactctct gcaagaaaac 840

gagttccgtc tgtactacta taacaagttc aaagatatc catccacct gaacaaagcg 900

aatccatcg tgggtaccac tgctctctc cagtacatga agaacgttt taaagaaaa 960

tacctgctca gcgaagacac ctccggcaaa ttctctgtag acaagttgaa attcgataaa 1020

ctttacaaaa tgctgactga aatttacacc gaagacaact tcgtaagtt ctftaaagtt 1080

ctgaaccgca aaacctatct gaacttcgac aaggcagtat tcaaatcaaa catcgtgccg 1140
aaagttaact acactatcta cgatgggttc aacctgcgta acaccaacct ggctgcta 1200
ttaaaggcc agaacacgga aatcaacaac atgaacttca caaaactgaa aaacttca 1260
ggctgttcg agttttacaa gctgctgtgc gtcgacggca tcattacctc caaaactaaa 1320
tctgacgatg acgataaaaa caaagcgtg aacctgcagt gtatcaaggt taacaactgg 1380
gatttattct tcagcccag tgaagacaac ttcaccaacg acctgaacaa aggtgaagaa 1440
atcacctcag atactaacat cgaagcagcc gaagaaaaca tctcgtgga cctgatccag 1500
cagtactacc tgaccttaa ttcgacaac gagccgaaa acatttctat cgaaaacctg 1560
agctctgata tcacggcca gctggaactg atgccgaaca tcgaacgttt cccaaacggt 1620
aaaaagtagc agctggacaa atatacatg ttccactacc tgcgcgcgca ggaattgaa 1680
cacggcaaat cccgtatgc actgactaac tccgtaacg aagctctgct caaccgtcc 1740
cgtgtataca ccttctctc tagcgactac gtgaaaaagg tcaacaaagc gactgaagct 1800
gcaatgtct tgggttgggt tgaacagctt gttatgatt ttaccgacga gacgtccgaa 1860
gtatctacta ccgacaaaat tgcggatc actatcatca tcccgtacat cggtcggct 1920
ctgaacattg gcaacatgct gtacaagac gacttcgtg gcgactgat cttctccgt 1980
gcggatgcc tgetggagt catcccgaa atcccatcc cgtactggg caccttctg 2040
ctggttctt acattgcaaa caaggtctg actgtacaaa ccatcgacaa cgcgctgagc 2100
aaacgtaacg aaaaatggga tgaagttac aaatatatc tgaccaactg gctggctaag 2160
gtaatactc agatcgacct catccgaaa aaaatgaaag aagcactgga aaaccaggcg 2220
gaagctacca aggcaatcat taactaccag tacaaccagt acaccgagga agaaaaaac 2280
aacatcaact tcaacatcga cgatctgtcc tctaaactga acgaatccat caacaaagct 2340
atgatcaaca tcaacaagtt cctgaaccag tgctctgtaa gctatctgat gaactccatg 2400
atcccgtacg gtgtaaacg tctggaggac ttcgatgcgt ctctgaaaga cgcctctg 2460
aaatacatt acgacaaccg tggcactctg atcggtcagg ttgatctct gaaggacaaa 2520
gtgaacaata cctatcgac cgacatcct ttcagctca gtaaataatg cgataaccaa 2580
cgctttgt ccaactetaga agcacacat catcaccacc atcacatca ccat 2634

<210> 44

<211> 878

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/A1 с участком расщепления ЕК

<400> 44

Met Glu Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
1 5 10 15

Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Ala Gly Gln Met Gln Pro
20 25 30

Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
35 40 45

Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
50 55 60

Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
65 70 75 80

Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
85 90 95

Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100 105 110

Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115 120 125

Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130 135 140

Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile
145 150 155 160

Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165 170 175

Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180 185 190

Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195 200 205

Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210 215 220

Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn
225 230 235 240

Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245 250 255

Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260 265 270

Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn
275 280 285

Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290 295 300

Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305 310 315 320

Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu
325 330 335

Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
340 345 350

Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
355 360 365

Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Lys Val Asn Tyr
370 375 380

Thr Ile Tyr Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn
385 390 395 400

Phe Asn Gly Gln Asn Thr Glu Ile Asn Asn Met Asn Phe Thr Lys Leu
405 410 415

Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys Val Asp
420 425 430

Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Asp Asp Asp Asp Lys Asn Lys
435 440 445

Ala Leu Asn Leu Gln Cys Ile Lys Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe
450 455 460

Ser Pro Ser Glu Asp Asn Phe Thr Asn Asp Leu Asn Lys Gly Glu Glu
465 470 475 480

Ile Thr Ser Asp Thr Asn Ile Glu Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu
485 490 495

Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu Thr Phe Asn Phe Asp Asn Glu Pro
500 505 510

Glu Asn Ile Ser Ile Glu Asn Leu Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu
515 520 525

Glu Leu Met Pro Asn Ile Glu Arg Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu
530 535 540

Leu Asp Lys Tyr Thr Met Phe His Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Glu
545 550 555 560

His Gly Lys Ser Arg Ile Ala Leu Thr Asn Ser Val Asn Glu Ala Leu
565 570 575

Leu Asn Pro Ser Arg Val Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Asp Tyr Val Lys
580 585 590

Lys Val Asn Lys Ala Thr Glu Ala Ala Met Phe Leu Gly Trp Val Glu
595 600 605

Gln Leu Val Tyr Asp Phe Thr Asp Glu Thr Ser Glu Val Ser Thr Thr
610 615 620

Asp Lys Ile Ala Asp Ile Thr Ile Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala
625 630 635 640

Leu Asn Ile Gly Asn Met Leu Tyr Lys Asp Asp Phe Val Gly Ala Leu
645 650 655

Ile Phe Ser Gly Ala Val Ile Leu Leu Glu Phe Ile Pro Glu Ile Ala
660 665 670

Ile Pro Val Leu Gly Thr Phe Ala Leu Val Ser Tyr Ile Ala Asn Lys
675 680 685

Val Leu Thr Val Gln Thr Ile Asp Asn Ala Leu Ser Lys Arg Asn Glu
690 695 700

Lys Trp Asp Glu Val Tyr Lys Tyr Ile Val Thr Asn Trp Leu Ala Lys
705 710 715 720

Val Asn Thr Gln Ile Asp Leu Ile Arg Lys Lys Met Lys Glu Ala Leu
725 730 735

047022

Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn
740 745 750

Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp
755 760 765

Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile
770 775 780

Asn Lys Phe Leu Asn Gln Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met
785 790 795 800

Ile Pro Tyr Gly Val Lys Arg Leu Glu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Lys
805 810 815

Asp Ala Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly
820 825 830

Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp
835 840 845

Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser
850 855 860

Thr Leu Glu Ala His His His His His His His His His
865 870 875

<210> 45

<211> 3996

<212> ДНК

<213> Clostridium botulinum

<400> 45

atgaaactgg aatcaacaa attcaactac aacgatccga tcgatggcat taatgttatt 60

accatgcgtc cgcctcgtca tagcgataaa atcaataaag gtaaaggctc gttcaaagcc 120

ttcaggtga ttaaaaacat ttgattgtg ccggaacgct acaacttac caataatacc 180

aacgatctga acattccgag cgaaccgatt atggaagcag atgccatta taaccggaac 240

tatctgaata ccccgagcga aaaagatgaa ttctgcagg gtgttatcaa agtgctggaa 300

cgcattaaaa gcaaacggga aggtgaaaaa ctgctggaac tgattagcag cagcattccg 360

ctgccgctgg ttagcaatgg tgcactgacc ctgagcgata atgaaacat tgcataatcaa 420

gagaacaaca acattgtgag caatctgcag gcaaacctgg ttatttatgg tccgggtcct 480

gatattgcaa ataatgcaac ctatggtctg tatagcacc cgattagtaa tggatgaagt 540

acactgagcg aagttagctt tagcccggtt tatctgaaac cgtttgatga aagctatggc 600

aattatcgta gcctggtgaa tatcgtgaac aaatcgtga aacgtgaatt tgcacctgat 660
ccggcaagca ccctgatgca tgaactggtt catgtfacc ataactctgta tggatttagc 720
aaccgcaact tctactataa ctttgacacc ggcaaaattg aaaccagccg tcagcagaat 780
agcctgattt ttgaagaact gctgacctt ggtggcattg atagcaaagc aattagcagc 840
ctgatcatca agaaaattat cgaaacccg aagaacaact ataccacgct gattagcgaa 900
cgctgaata ccgttaccgt tgaaatgat ctgctgaaat atatcaaaaa caaaatccc 960
gttcagggtc gtctgggtaa cttaaacctg gataccgcag aatcagagaa aaagctgaat 1020
accattctgt ttgtgctgaa cgaagcaat ctggcacagc gtttagcat tctggctcgt 1080
aaacattacc tgaagaagc tccgattgat ccgattatg tgaacattct gtagacaat 1140
agctacagca ccctggaagg tttaacatt agcagtcagg gtagcaatga ttccaaggt 1200
cagctgctgg aaagcagcta tttgaaaaa attgaaagca atgcctcgc tgcctcatt 1260
aaaatctgc cgcgtaatgg tctgctgat aatgccatt atcgaacag caaaaatctg 1320
gaagttctgt tcagggtcc gcatcatcac caccatcacc atcatcatca cctggaagt 1380
ttattcagg gaccgtatct gaataacatt gatctggaag ataaaagac cagagcaaa 1440
accaatgta gctatccgtg tagcctgctg aatggtgta ttgaagtga aaacaagac 1500
ctgttctga ttagcaaca agatagcctg aacgatatta acctgagcga agaaaaatc 1560
aaaccggaaa ccaccgtgt ctcaaatg aaactgcctc cgcaggatat tacgctgagc 1620
aattatgatt ttaccgaagc caatagcatt ccgagcatta gccagcagaa cattctgga 1680
cgtaatgaag aactgtatga accgattcgc aatagcctgt ttgaaatca aaccatctat 1740
gtggataagc tgaccacctc tcatttctg gaagcccaga atattgatga gagcattgat 1800
agcagcaaaa ttcgtgtga actgaccgat agcgttgatg aagcactgag caatcagaat 1860
aaagttata gccgttcaa gaacatgagc aacaccatta atagcattga aaccgtatt 1920
accagacct acatcttta tcagtggctg cgtagcatc tgaagattt tagtgatgaa 1980
accggcaaaa tcgacgtgat tgataaagc agcgatacc tggcaattgt tccgtatatt 2040
gtccgctgc tgaatattgg taatgatatt cgtcatggcg atttgtggg tgcaattgaa 2100
ctggcaggca ttaccgact gctggaatat gtccggaat ttaccattcc gattctggtt 2160
ggtctggaag tgattggtg cgaactggca cgtgaacagg ttgaagcaat tgtaataat 2220
gcctggata aacgcgatca gaaatgggca gaagttaca atattacaa agcacagtgg 2280
tggggacca ttcattaca gattaatacc cgtctggccc atacctata agcctgagc 2340
cgtcaggcaa atgccattaa aatgaatatg gaattcagc tggccaacta caaaggcaac 2400
attgatgata aagccaagat caaaaaccc atcagcagaa ccgaaattct gctgaacaaa 2460

047022

agcgttgaac aggccatgaa aaacaccgag aaattcatga ttaactgag caacagctac 2520
ctgaccaaag aaatgattcc gaaagttcag gacaacctga aaaacttga cctggaacc 2580
aaaaaaacc tggacaagtt catcaaagag aaagaagata tcctgggcac caatctgagc 2640
agcagcctgc gtcgtaaagt tagcattcgt ctgaataaaa acattgcctt cgacatcaac 2700
gatatcccgt ttagcgaatt tgatgatctg atcaaccagt acaaaaacga gatcgaagat 2760
tatgaagtgc tgaatctggg tgcagaagat ggcaaaatca aagatctgag cggtaaac 2820
agcgatatca atattggtc agatatcga ctggccgatg gtcgtgaaa taaagccatt 2880
aagattaag gcagcgagaa cagcaccatc aaaattgcaa tgaacaaata tctgcgttt 2940
agcgccaccg ataacttag cattagcttt tggatcaaac atccgaaacc gaccaatctg 3000
cttaataacg gtattgaata taccctggc gagaacttta atcagcgtgg ttggaaaatt 3060
agcatccagg atagcaaac gatttggat ctgcgcgatc acaataacag catcaaaatc 3120
gttacaccgg atfatattgc gtttaatggc tggaaactga tcaccattac gaataatcgt 3180
agcaaaggca gcatcgtgta tgtgaatggt agcaaaattg aagagaagga cattagcagc 3240
atttgaata ccgaagtgga tgatccgatt atcttccgcc tgaanaataa ccgtgatacc 3300
caggcattta cctgctgga tcagtttagc atttatcgga aagaactgaa ccagaacgaa 3360
gtggtgaaac tgtataacta ctactcaac agcaactaca ttcgcgatat ttgggtaat 3420
ccgtgcagt acaacaaaa atactatctg cagaccagg acaaacctgg taaaggtctg 3480
atcccgcaat attggagcag ctttggttat gattatgta ttctgagcga tagcaagacg 3540
attaccttc cgaacaatat ccgttatggt gcctgtata acggtagcaa agttctgatc 3600
aagaacagca agaaattaga tggctggtg cgcaataaag atttcattca gctggaatc 3660
gatggctata atatgggtat tagcgcagat cgctttaacg aggataccea ctatattggc 3720
accacctag gtacaacca tgatctgacc accgattttg aaattattca gcgccaagag 3780
aaataccgca atattgtca gctgaaaacc ccgtataaca tctttcataa aagcggctg 3840
atgagcaccg aaaccagca accgacctc catgattatc gcgattgggt ttatagcagc 3900
gcatgtatt ttcagaacta tgaanaatctg aacctgcga aacataccea aaccaactgg 3960
tatttatcc cgaagatga aggttgggac gaagat 3996

<210> 46

<211> 1332

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 46

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro His
435 440 445

His His His His His His His His His Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly
450 455 460

Pro Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser Lys
465 470 475 480

Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu Asn Gly Cys Ile Glu Val
485 490 495

Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp
500 505 510

Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe
515 520 525

Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr Leu Ser Asn Tyr Asp Phe
530 535 540

Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn Ile Leu Glu
545 550 555 560

Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg Asn Ser Leu Phe Glu Ile
565 570 575

Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr Phe His Phe Leu Glu Ala
580 585 590

Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser Lys Ile Arg Val Glu Leu
595 600 605

Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser
610 615 620

Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile
625 630 635 640

Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu Arg Ser Ile Val Lys Asp
645 650 655

Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val Ile Asp Lys Ser Ser Asp
660 665 670

Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Leu Leu Asn Ile Gly Asn
675 680 685

Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala Ile Glu Leu Ala Gly Ile
690 695 700

Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ile Leu Val
705 710 715 720

Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala Arg Glu Gln Val Glu Ala
725 730 735

Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp Gln Lys Trp Ala Glu Val
740 745 750

Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly Thr Ile His Leu Gln Ile
755 760 765

Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala Leu Ser Arg Gln Ala Asn
770 775 780

Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu Ala Asn Tyr Lys Gly Asn
785 790 795 800

Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala Ile Ser Glu Thr Glu Ile
805 810 815

Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met Lys Asn Thr Glu Lys Phe
820 825 830

Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr Lys Glu Met Ile Pro Lys
835 840 845

Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu Glu Thr Lys Lys Thr Leu
850 855 860

Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile Leu Gly Thr Asn Leu Ser
865 870 875 880

Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg Leu Asn Lys Asn Ile Ala
885 890 895

Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu Phe Asp Asp Leu Ile Asn
900 905 910

Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu Val Leu Asn Leu Gly Ala
915 920 925

Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly Thr Thr Ser Asp Ile Asn
930 935 940

Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly Arg Glu Asn Lys Ala Ile
945 950 955 960

Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile Lys Ile Ala Met Asn Lys
965 970 975

Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile
980 985 990

Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn Asn Gly Ile Glu Tyr Thr
995 1000 1005

Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp Lys Ile Ser Ile Gln
1010 1015 1020

Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His Asn Asn Ser Ile
1025 1030 1035

Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn Gly Trp Asn Leu
1040 1045 1050

Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser Ile Val Tyr Val
1055 1060 1065

Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser Ser Ile Trp Asn
1070 1075 1080

Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu Lys Asn Asn Arg
1085 1090 1095

Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe Ser Ile Tyr Arg
1100 1105 1110

Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu Tyr Asn Tyr Tyr
1115 1120 1125

Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly Asn Pro Leu Gln
1130 1135 1140

Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp Lys Pro Gly Lys
1145 1150 1155

Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly Tyr Asp Tyr Val
1160 1165 1170

Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro Asn Asn Ile Arg
1175 1180 1185

Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu Ile Lys Asn Ser
1190 1195 1200

Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp Phe Ile Gln Leu
1205 1210 1215

Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala Asp Arg Phe Asn
1220 1225 1230

Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly Thr Thr His Asp
1235 1240 1245

Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln Glu Lys Tyr Arg
1250 1255 1260

Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile Phe His Lys Ser
1265 1270 1275

Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr Phe His Asp Tyr
1280 1285 1290

Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe Gln Asn Tyr Glu
1295 1300 1305

Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn Trp Tyr Phe Ile
1310 1315 1320

Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp
1325 1330

<210> 47

<211> 247

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Трипсин

<400> 47

Met His Pro Leu Leu Ile Leu Ala Phe Val Gly Ala Ala Val Ala Phe
1 5 10 15

Pro Ser Asp Asp Asp Asp Lys Ile Val Gly Gly Tyr Thr Cys Ala Glu
20 25 30

Asn Ser Val Pro Tyr Gln Val Ser Leu Asn Ala Gly Tyr His Phe Cys
35 40 45

Gly Gly Ser Leu Ile Asn Asp Gln Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys
50 55 60

Tyr Gln Tyr His Ile Gln Val Arg Leu Gly Glu Tyr Asn Ile Asp Val
65 70 75 80

Leu Glu Gly Gly Glu Gln Phe Ile Asp Ala Ser Lys Ile Ile Arg His
85 90 95

Pro Lys Tyr Ser Ser Trp Thr Leu Asp Asn Asp Ile Leu Leu Ile Lys
100 105 110

Leu Ser Thr Pro Ala Val Ile Asn Ala Arg Val Ser Thr Leu Ala Leu
115 120 125

Pro Ser Ala Cys Ala Ser Gly Ser Thr Glu Cys Leu Ile Ser Gly Trp
130 135 140

Gly Asn Thr Leu Ser Ser Gly Val Asn Tyr Pro Asp Leu Leu Gln Cys
145 150 155 160

Leu Glu Ala Pro Leu Leu Ser His Ala Asp Cys Glu Ala Ser Tyr Pro
165 170 175

Gly Glu Ile Thr Asn Asn Met Ile Cys Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly
180 185 190

Lys Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Val Ala Cys Asn Gly
195 200 205

Gln Leu Gln Gly Ile Val Ser Trp Gly Tyr Gly Cys Ala Gln Lys Gly
210 215 220

Lys Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Cys Asn Tyr Val Asp Trp Ile Gln
225 230 235 240

Glu Thr Ile Ala Ala Asn Ser
245

<210> 48

<211> 269

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Lys-C

<400> 48

Gly Val Ser Gly Ser Cys Asn Ile Asp Val Val Cys Pro Glu Gly Asn
1 5 10 15

Gly His Arg Asp Val Ile Arg Ser Val Ala Ala Tyr Ser Lys Gln Gly
20 25 30

Thr Met Trp Cys Thr Gly Ser Leu Val Asn Asn Ser Ala Asn Asp Lys
35 40 45

047022

Lys Met Tyr Phe Leu Thr Ala Asn His Cys Gly Met Thr Thr Ala Ala
50 55 60

Ile Ala Ser Ser Met Val Val Tyr Trp Asn Tyr Gln Asn Ser Thr Cys
65 70 75 80

Arg Ala Pro Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Asn Gly Asp Gly Ser Leu
85 90 95

Ala Gln Ser Gln Thr Gly Ala Val Val Arg Ala Thr Asn Ala Ala Ser
100 105 110

Asp Phe Thr Leu Leu Glu Leu Asn Thr Ala Ala Asn Pro Ala Tyr Asn
115 120 125

Leu Phe Trp Ala Gly Trp Asp Arg Arg Asp Gln Asn Phe Ala Gly Ala
130 135 140

Thr Ala Ile His His Pro Asn Val Ala Glu Lys Arg Ile Ser His Ser
145 150 155 160

Thr Val Ala Thr Glu Ile Ser Gly Tyr Asn Gly Ala Thr Gly Thr Ser
165 170 175

His Leu His Val Phe Trp Gln Ala Ser Gly Gly Val Thr Glu Pro Gly
180 185 190

Ser Ser Gly Ser Pro Ile Tyr Ser Pro Glu Lys Arg Val Leu Gly Gln
195 200 205

Leu His Gly Gly Pro Ser Ser Cys Ser Ala Thr Gly Ala Asp Arg Ser
210 215 220

Asp Tyr Tyr Gly Arg Val Phe Thr Ser Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser
225 230 235 240

Ala Thr Arg Leu Ser Asp Trp Leu Asp Ala Ala Gly Thr Gly Ala Gln
245 250 255

Phe Ile Asp Gly Leu Asp Ser Thr Gly Thr Pro Pro Val
260 265

<210> 49

<211> 235

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Легкая цепь энтерокиназы

<400> 49

Ile Val Gly Gly Ser Asp Ser Arg Glu Gly Ala Trp Pro Trp Val Val
1 5 10 15

Ala Leu Tyr Phe Asp Asp Gln Gln Val Cys Gly Ala Ser Leu Val Ser
20 25 30

Arg Asp Trp Leu Val Ser Ala Ala His Cys Val Tyr Gly Arg Asn Met
35 40 45

Glu Pro Ser Lys Trp Lys Ala Val Leu Gly Leu His Met Ala Ser Asn
50 55 60

Leu Thr Ser Pro Gln Ile Glu Thr Arg Leu Ile Asp Gln Ile Val Ile
65 70 75 80

Asn Arg His Tyr Asn Lys Arg Arg Lys Asn Asn Asp Ile Ala Met Met
85 90 95

His Leu Glu Met Lys Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Ile Gln Pro Ile Cys
100 105 110

Leu Pro Glu Glu Asn Gln Val Phe Pro Pro Gly Arg Ile Cys Ser Ile
115 120 125

Ala Gly Trp Gly Ala Leu Ile Tyr Gln Gly Ser Thr Ala Asp Val Leu
130 135 140

Gln Glu Ala Asp Val Pro Leu Leu Ser Asn Glu Lys Cys Gln Gln Gln
145 150 155 160

Met Pro Glu Tyr Asn Ile Thr Glu Asn Met Val Cys Ala Gly Tyr Asp
165 170 175

Ala Gly Gly Val Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Met
180 185 190

Cys Gln Glu Asn Asn Arg Trp Leu Leu Ala Gly Val Thr Ser Phe Gly
195 200 205

Tyr Gln Cys Ala Leu Pro Asn Arg Pro Gly Val Tyr Ala Arg Val Pro
210 215 220

Arg Phe Thr Glu Trp Ile Gln Ser Phe Leu His
225 230 235

<210> 50
<211> 259
<212> БЕЛЮК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Тяжелая цепь фактора Ха

<400> 50

Ile Val Gly Gly Arg Asp Cys Ala Glu Gly Glu Cys Pro Trp Gln Ala
1 5 10 15

Leu Leu Val Asn Glu Glu Asn Glu Gly Phe Cys Gly Gly Thr Ile Leu
20 25 30

Asn Glu Phe Tyr Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu His Gln Ala Lys
35 40 45

Arg Phe Thr Val Arg Val Gly Asp Arg Asn Thr Glu Gln Glu Glu Gly
50 55 60

Asn Glu Met Ala His Glu Val Glu Met Thr Val Lys His Ser Arg Phe
65 70 75 80

Val Lys Glu Thr Tyr Asp Phe Asp Ile Ala Val Leu Arg Leu Lys Thr
85 90 95

Pro Ile Arg Phe Arg Arg Asn Val Ala Pro Ala Cys Leu Pro Glu Lys
100 105 110

Asp Trp Ala Glu Ala Thr Leu Met Thr Gln Lys Thr Gly Ile Val Ser
115 120 125

Gly Phe Gly Arg Thr His Glu Lys Gly Arg Leu Ser Ser Thr Leu Lys
130 135 140

Met Leu Glu Val Pro Tyr Val Asp Arg Ser Thr Cys Lys Leu Ser Ser
145 150 155 160

Ser Phe Thr Ile Thr Pro Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Asp Thr Gln
165 170 175

Pro Glu Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Val Thr Arg
180 185 190

Phe Lys Asp Thr Tyr Phe Val Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly
195 200 205

Cys Ala Arg Lys Gly Lys Phe Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Asn Phe
210 215 220

Leu Lys Trp Ile Asp Lys Ile Met Lys Ala Arg Ala Gly Ala Ala Gly
225 230 235 240

Ser Arg Gly His Ser Glu Ala Pro Ala Thr Trp Thr Val Pro Pro Pro
245 250 255

Leu Pro Leu

<210> 51

<211> 140

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Легкая цепь фактора Ха

<400> 51

Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Val Lys Gln Gly Asn Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15

Cys Leu Glu Glu Ala Cys Ser Leu Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu
20 25 30

Asp Ala Glu Gln Thr Asp Glu Phe Trp Ser Lys Tyr Lys Asp Gly Asp
35 40 45

Gln Cys Glu Gly His Pro Cys Leu Asn Gln Gly His Cys Lys Asp Gly
50 55 60

Ile Gly Asp Tyr Thr Cys Thr Cys Ala Glu Gly Phe Glu Gly Lys Asn
65 70 75 80

Cys Glu Phe Ser Thr Arg Glu Ile Cys Ser Leu Asp Asn Gly Gly Cys
85 90 95

Asp Gln Phe Cys Arg Glu Glu Arg Ser Glu Val Arg Cys Ser Cys Ala
100 105 110

His Gly Tyr Val Leu Gly Asp Asp Ser Lys Ser Cys Val Ser Thr Glu
115 120 125

Arg Phe Pro Cys Gly Lys Phe Thr Gln Gly Arg Ser
130 135 140

<210> 52
<211> 764
<212> BEJIOK
<213> Bacillus anthracis

<400> 52

Met Lys Lys Arg Lys Val Leu Ile Pro Leu Met Ala Leu Ser Thr Ile
1 5 10 15

Leu Val Ser Ser Thr Gly Asn Leu Glu Val Ile Gln Ala Glu Val Lys
20 25 30

Gln Glu Asn Arg Leu Leu Asn Glu Ser Glu Ser Ser Ser Gln Gly Leu
35 40 45

Leu Gly Tyr Tyr Phe Ser Asp Leu Asn Phe Gln Ala Pro Met Val Val
50 55 60

Thr Ser Ser Thr Thr Gly Asp Leu Ser Ile Pro Ser Ser Glu Leu Glu
65 70 75 80

Asn Ile Pro Ser Glu Asn Gln Tyr Phe Gln Ser Ala Ile Trp Ser Gly
85 90 95

Phe Ile Lys Val Lys Lys Ser Asp Glu Tyr Thr Phe Ala Thr Ser Ala
100 105 110

Asp Asn His Val Thr Met Trp Val Asp Asp Gln Glu Val Ile Asn Lys
115 120 125

Ala Ser Asn Ser Asn Lys Ile Arg Leu Glu Lys Gly Arg Leu Tyr Gln
130 135 140

Ile Lys Ile Gln Tyr Gln Arg Glu Asn Pro Thr Glu Lys Gly Leu Asp
145 150 155 160

Phe Lys Leu Tyr Trp Thr Asp Ser Gln Asn Lys Lys Glu Val Ile Ser
165 170 175

Ser Asp Asn Leu Gln Leu Pro Glu Leu Lys Gln Lys Ser Ser Asn Ser
180 185 190

Arg Lys Lys Arg Ser Thr Ser Ala Gly Pro Thr Val Pro Asp Arg Asp
195 200 205

Asn Asp Gly Ile Pro Asp Ser Leu Glu Val Glu Gly Tyr Thr Val Asp

210 215 220

Val Lys Asn Lys Arg Thr Phe Leu Ser Pro Trp Ile Ser Asn Ile His
225 230 235 240

Glu Lys Lys Gly Leu Thr Lys Tyr Lys Ser Ser Pro Glu Lys Trp Ser
245 250 255

Thr Ala Ser Asp Pro Tyr Ser Asp Phe Glu Lys Val Thr Gly Arg Ile
260 265 270

Asp Lys Asn Val Ser Pro Glu Ala Arg His Pro Leu Val Ala Ala Tyr
275 280 285

Pro Ile Val His Val Asp Met Glu Asn Ile Ile Leu Ser Lys Asn Glu
290 295 300

Asp Gln Ser Thr Gln Asn Thr Asp Ser Gln Thr Arg Thr Ile Ser Lys
305 310 315 320

Asn Thr Ser Thr Ser Arg Thr His Thr Ser Glu Val His Gly Asn Ala
325 330 335

Glu Val His Ala Ser Phe Phe Asp Ile Gly Gly Ser Val Ser Ala Gly
340 345 350

Phe Ser Asn Ser Asn Ser Ser Thr Val Ala Ile Asp His Ser Leu Ser
355 360 365

Leu Ala Gly Glu Arg Thr Trp Ala Glu Thr Met Gly Leu Asn Thr Ala
370 375 380

Asp Thr Ala Arg Leu Asn Ala Asn Ile Arg Tyr Val Asn Thr Gly Thr
385 390 395 400

Ala Pro Ile Tyr Asn Val Leu Pro Thr Thr Ser Leu Val Leu Gly Lys
405 410 415

Asn Gln Thr Leu Ala Thr Ile Lys Ala Lys Glu Asn Gln Leu Ser Gln
420 425 430

Ile Leu Ala Pro Asn Asn Tyr Tyr Pro Ser Lys Asn Leu Ala Pro Ile
435 440 445

Ala Leu Asn Ala Gln Asp Asp Phe Ser Ser Thr Pro Ile Thr Met Asn
450 455 460

Tyr Asn Gln Phe Leu Glu Leu Glu Lys Thr Lys Gln Leu Arg Leu Asp
465 470 475 480

Thr Asp Gln Val Tyr Gly Asn Ile Ala Thr Tyr Asn Phe Glu Asn Gly
485 490 495

Arg Val Arg Val Asp Thr Gly Ser Asn Trp Ser Glu Val Leu Pro Gln
500 505 510

Ile Gln Glu Thr Thr Ala Arg Ile Ile Phe Asn Gly Lys Asp Leu Asn
515 520 525

Leu Val Glu Arg Arg Ile Ala Ala Val Asn Pro Ser Asp Pro Leu Glu
530 535 540

Thr Thr Lys Pro Asp Met Thr Leu Lys Glu Ala Leu Lys Ile Ala Phe
545 550 555 560

Gly Phe Asn Glu Pro Asn Gly Asn Leu Gln Tyr Gln Gly Lys Asp Ile
565 570 575

Thr Glu Phe Asp Phe Asn Phe Asp Gln Gln Thr Ser Gln Asn Ile Lys
580 585 590

Asn Gln Leu Ala Glu Leu Asn Ala Thr Asn Ile Tyr Thr Val Leu Asp
595 600 605

Lys Ile Lys Leu Asn Ala Lys Met Asn Ile Leu Ile Arg Asp Lys Arg
610 615 620

Phe His Tyr Asp Arg Asn Asn Ile Ala Val Gly Ala Asp Glu Ser Val
625 630 635 640

Val Lys Glu Ala His Arg Glu Val Ile Asn Ser Ser Thr Glu Gly Leu
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Asp Lys Asp Ile Arg Lys Ile Leu Ser Gly Tyr Ile
660 665 670

Val Glu Ile Glu Asp Thr Glu Gly Leu Lys Glu Val Ile Asn Asp Arg
675 680 685

Tyr Asp Met Leu Asn Ile Ser Ser Leu Arg Gln Asp Gly Lys Thr Phe
690 695 700

Ile Asp Phe Lys Lys Tyr Asn Asp Lys Leu Pro Leu Tyr Ile Ser Asn

705 710 715 720

Pro Asn Tyr Lys Val Asn Val Tyr Ala Val Thr Lys Glu Asn Thr Ile
725 730 735

Ile Asn Pro Ser Glu Asn Gly Asp Thr Ser Thr Asn Gly Ile Lys Lys
740 745 750

Ile Leu Ile Phe Ser Lys Lys Gly Tyr Glu Ile Gly
755 760

<210> 53

<211> 863

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/A с петлей активации C1

<400> 53

Met Pro Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
1 5 10 15

Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Val Gly Gln Met Gln Pro
20 25 30

Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
35 40 45

Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
50 55 60

Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
65 70 75 80

Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
85 90 95

Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100 105 110

Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115 120 125

Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130 135 140

Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile

145 150 155 160

Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165 170 175

Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180 185 190

Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195 200 205

Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210 215 220

Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn
225 230 235 240

Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245 250 255

Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260 265 270

Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn
275 280 285

Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290 295 300

Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305 310 315 320

Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu
325 330 335

Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
340 345 350

Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
355 360 365

Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Lys Val Asn Tyr
370 375 380

Thr Ile Tyr Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn
385 390 395 400

Phe Asn Gly Gln Asn Thr Glu Ile Asn Asn Met Asn Phe Thr Lys Leu
405 410 415

Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys His Lys
420 425 430

Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Lys
435 440 445

Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe Ser Pro Ser Glu Asp Asn Phe Thr
450 455 460

Asn Asp Leu Asn Lys Gly Glu Glu Ile Thr Ser Asp Thr Asn Ile Glu
465 470 475 480

Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu
485 490 495

Thr Phe Asn Phe Asp Asn Glu Pro Glu Asn Ile Ser Ile Glu Asn Leu
500 505 510

Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu Glu Leu Met Pro Asn Ile Glu Arg
515 520 525

Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu Leu Asp Lys Tyr Thr Met Phe His
530 535 540

Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Glu His Gly Lys Ser Arg Ile Ala Leu
545 550 555 560

Thr Asn Ser Val Asn Glu Ala Leu Leu Asn Pro Ser Arg Val Tyr Thr
565 570 575

Phe Phe Ser Ser Asp Tyr Val Lys Lys Val Asn Lys Ala Thr Glu Ala
580 585 590

Ala Met Phe Leu Gly Trp Val Glu Gln Leu Val Tyr Asp Phe Thr Asp
595 600 605

Glu Thr Ser Glu Val Ser Thr Thr Asp Lys Ile Ala Asp Ile Thr Ile
610 615 620

Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Gly Asn Met Leu Tyr
625 630 635 640

Lys Asp Asp Phe Val Gly Ala Leu Ile Phe Ser Gly Ala Val Ile Leu

645 650 655

Leu Glu Phe Ile Pro Glu Ile Ala Ile Pro Val Leu Gly Thr Phe Ala
660 665 670

Leu Val Ser Tyr Ile Ala Asn Lys Val Leu Thr Val Gln Thr Ile Asp
675 680 685

Asn Ala Leu Ser Lys Arg Asn Glu Lys Trp Asp Glu Val Tyr Lys Tyr
690 695 700

Ile Val Thr Asn Trp Leu Ala Lys Val Asn Thr Gln Ile Asp Leu Ile
705 710 715 720

Arg Lys Lys Met Lys Glu Ala Leu Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys
725 730 735

Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn
740 745 750

Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser
755 760 765

Ile Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Lys Phe Leu Asn Gln Cys Ser
770 775 780

Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met Ile Pro Tyr Gly Val Lys Arg Leu
785 790 795 800

Glu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Lys Asp Ala Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr
805 810 815

Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Lys
820 825 830

Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr
835 840 845

Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys
850 855 860

<210> 54

<211> 865

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/B с петлей активации C1

<400> 54

Met Pro Val Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Asn
1 5 10 15

Asn Asn Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Phe Ala Arg Gly Thr Gly Arg
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Ile Pro Glu
35 40 45

Arg Tyr Thr Phe Gly Tyr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Lys Ser Ser Gly
50 55 60

Ile Phe Asn Arg Asp Val Cys Glu Tyr Tyr Asp Pro Asp Tyr Leu Asn
65 70 75 80

Thr Asn Asp Lys Lys Asn Ile Phe Leu Gln Thr Met Ile Lys Leu Phe
85 90 95

Asn Arg Ile Lys Ser Lys Pro Leu Gly Glu Lys Leu Leu Glu Met Ile
100 105 110

Ile Asn Gly Ile Pro Tyr Leu Gly Asp Arg Arg Val Pro Leu Glu Glu
115 120 125

Phe Asn Thr Asn Ile Ala Ser Val Thr Val Asn Lys Leu Ile Ser Asn
130 135 140

Pro Gly Glu Val Glu Arg Lys Lys Gly Ile Phe Ala Asn Leu Ile Ile
145 150 155 160

Phe Gly Pro Gly Pro Val Leu Asn Glu Asn Glu Thr Ile Asp Ile Gly
165 170 175

Ile Gln Asn His Phe Ala Ser Arg Glu Gly Phe Gly Gly Ile Met Gln
180 185 190

Met Lys Phe Cys Pro Glu Tyr Val Ser Val Phe Asn Asn Val Gln Glu
195 200 205

Asn Lys Gly Ala Ser Ile Phe Asn Arg Arg Gly Tyr Phe Ser Asp Pro
210 215 220

Ala Leu Ile Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly Leu Tyr
225 230 235 240

Gly Ile Lys Val Asp Asp Leu Pro Ile Val Pro Asn Glu Lys Lys Phe
245 250 255

Phe Met Gln Ser Thr Asp Ala Ile Gln Ala Glu Glu Leu Tyr Thr Phe
260 265 270

Gly Gly Gln Asp Pro Ser Ile Ile Thr Pro Ser Thr Asp Lys Ser Ile
275 280 285

Tyr Asp Lys Val Leu Gln Asn Phe Arg Gly Ile Val Asp Arg Leu Asn
290 295 300

Lys Val Leu Val Cys Ile Ser Asp Pro Asn Ile Asn Ile Asn Ile Tyr
305 310 315 320

Lys Asn Lys Phe Lys Asp Lys Tyr Lys Phe Val Glu Asp Ser Glu Gly
325 330 335

Lys Tyr Ser Ile Asp Val Glu Ser Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Ser Leu
340 345 350

Met Phe Gly Phe Thr Glu Thr Asn Ile Ala Glu Asn Tyr Lys Ile Lys
355 360 365

Thr Arg Ala Ser Tyr Phe Ser Asp Ser Leu Pro Pro Val Lys Ile Lys
370 375 380

Asn Leu Leu Asp Asn Glu Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Gly Phe Asn Ile
385 390 395 400

Ser Asp Lys Asp Met Glu Lys Glu Tyr Arg Gly Gln Asn Lys Ala Ile
405 410 415

Asn Lys Gln Ala Tyr Glu Glu Ile Ser Lys Glu His Leu Ala Val Tyr
420 425 430

Lys Ile Gln Met Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn
435 440 445

Lys Thr Leu Asp Cys Ile Asp Val Asp Asn Glu Asp Leu Phe Phe Ile
450 455 460

Ala Asp Lys Asn Ser Phe Ser Asp Asp Leu Ser Lys Asn Glu Arg Ile
465 470 475 480

Glu Tyr Asn Thr Gln Ser Asn Tyr Ile Glu Asn Asp Phe Pro Ile Asn

485 490 495

Glu Leu Ile Leu Asp Thr Asp Leu Ile Ser Lys Ile Glu Leu Pro Ser
500 505 510

Glu Asn Thr Glu Ser Leu Thr Asp Phe Asn Val Asp Val Pro Val Tyr
515 520 525

Glu Lys Gln Pro Ala Ile Lys Lys Ile Phe Thr Asp Glu Asn Thr Ile
530 535 540

Phe Gln Tyr Leu Tyr Ser Gln Thr Phe Pro Leu Asp Ile Arg Asp Ile
545 550 555 560

Ser Leu Thr Ser Ser Phe Asp Asp Ala Leu Leu Phe Ser Asn Lys Val
565 570 575

Tyr Ser Phe Phe Ser Met Asp Tyr Ile Lys Thr Ala Asn Lys Val Val
580 585 590

Glu Ala Gly Leu Phe Ala Gly Trp Val Lys Gln Ile Val Asn Asp Phe
595 600 605

Val Ile Glu Ala Asn Lys Ser Asn Thr Met Asp Lys Ile Ala Asp Ile
610 615 620

Ser Leu Ile Val Pro Tyr Ile Gly Leu Ala Leu Asn Val Gly Asn Glu
625 630 635 640

Thr Ala Lys Gly Asn Phe Glu Asn Ala Phe Glu Ile Ala Gly Ala Ser
645 650 655

Ile Leu Leu Glu Phe Ile Pro Glu Leu Leu Ile Pro Val Val Gly Ala
660 665 670

Phe Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Asn Lys Asn Lys Ile Ile Lys Thr
675 680 685

Ile Asp Asn Ala Leu Thr Lys Arg Asn Glu Lys Trp Ser Asp Met Tyr
690 695 700

Gly Leu Ile Val Ala Gln Trp Leu Ser Thr Val Asn Thr Gln Phe Tyr
705 710 715 720

Thr Ile Lys Glu Gly Met Tyr Lys Ala Leu Asn Tyr Gln Ala Gln Ala
725 730 735

Leu Glu Glu Ile Ile Lys Tyr Arg Tyr Asn Ile Tyr Ser Glu Lys Glu
740 745 750

Lys Ser Asn Ile Asn Ile Asp Phe Asn Asp Ile Asn Ser Lys Leu Asn
755 760 765

Glu Gly Ile Asn Gln Ala Ile Asp Asn Ile Asn Asn Phe Ile Asn Gly
770 775 780

Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Lys Lys Met Ile Pro Leu Ala Val Glu
785 790 795 800

Lys Leu Leu Asp Phe Asp Asn Thr Leu Lys Lys Asn Leu Leu Asn Tyr
805 810 815

Ile Asp Glu Asn Lys Leu Tyr Leu Ile Gly Ser Ala Glu Tyr Glu Lys
820 825 830

Ser Lys Val Asn Lys Tyr Leu Lys Thr Ile Met Pro Phe Asp Leu Ser
835 840 845

Ile Tyr Thr Asn Asp Thr Ile Leu Ile Glu Met Phe Asn Lys Tyr Asn
850 855 860

Ser
865

<210> 55

<211> 865

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/D с петлей активации C1

<400> 55

Met Thr Trp Pro Val Lys Asp Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asp
1 5 10 15

Asn Asp Ile Leu Tyr Leu Arg Ile Pro Gln Asn Lys Leu Ile Thr Thr
20 25 30

Pro Val Lys Ala Phe Met Ile Thr Gln Asn Ile Trp Val Ile Pro Glu
35 40 45

Arg Phe Ser Ser Asp Thr Asn Pro Ser Leu Ser Lys Pro Pro Arg Pro
50 55 60

Thr Ser Lys Tyr Gln Ser Tyr Tyr Asp Pro Ser Tyr Leu Ser Thr Asp
65 70 75 80

Glu Gln Lys Asp Thr Phe Leu Lys Gly Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
85 90 95

Ile Asn Glu Arg Asp Ile Gly Lys Lys Leu Ile Asn Tyr Leu Val Val
100 105 110

Gly Ser Pro Phe Met Gly Asp Ser Ser Thr Pro Glu Asp Thr Phe Asp
115 120 125

Phe Thr Arg His Thr Thr Asn Ile Ala Val Glu Lys Phe Glu Asn Gly
130 135 140

Ser Trp Lys Val Thr Asn Ile Ile Thr Pro Ser Val Leu Ile Phe Gly
145 150 155 160

Pro Leu Pro Asn Ile Leu Asp Tyr Thr Ala Ser Leu Thr Leu Gln Gly
165 170 175

Gln Gln Ser Asn Pro Ser Phe Glu Gly Phe Gly Thr Leu Ser Ile Leu
180 185 190

Lys Val Ala Pro Glu Phe Leu Leu Thr Phe Ser Asp Val Thr Ser Asn
195 200 205

Gln Ser Ser Ala Val Leu Gly Lys Ser Ile Phe Cys Met Asp Pro Val
210 215 220

Ile Ala Leu Met His Glu Leu Thr His Ser Leu His Gln Leu Tyr Gly
225 230 235 240

Ile Asn Ile Pro Ser Asp Lys Arg Ile Arg Pro Gln Val Ser Glu Gly
245 250 255

Phe Phe Ser Gln Asp Gly Pro Asn Val Gln Phe Glu Glu Leu Tyr Thr
260 265 270

Phe Gly Gly Leu Asp Val Glu Ile Ile Pro Gln Ile Glu Arg Ser Gln
275 280 285

Leu Arg Glu Lys Ala Leu Gly His Tyr Lys Asp Ile Ala Lys Arg Leu
290 295 300

Asn Asn Ile Asn Lys Thr Ile Pro Ser Ser Trp Ile Ser Asn Ile Asp

305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Ile Phe Ser Glu Lys Tyr Asn Phe Asp Lys Asp Asn
325 330 335

Thr Gly Asn Phe Val Val Asn Ile Asp Lys Phe Asn Ser Leu Tyr Ser
340 345 350

Asp Leu Thr Asn Val Met Ser Glu Val Val Tyr Ser Ser Gln Tyr Asn
355 360 365

Val Lys Asn Arg Thr His Tyr Phe Ser Arg His Tyr Leu Pro Val Phe
370 375 380

Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ile Tyr Thr Ile Arg Asp Gly Phe Asn
385 390 395 400

Leu Thr Asn Lys Gly Phe Asn Ile Glu Asn Ser Gly Gln Asn Ile Glu
405 410 415

Arg Asn Pro Ala Leu Gln Lys Leu Ser Ser Glu Ser Val Val Asp Leu
420 425 430

Phe Thr Lys Val Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn
435 440 445

Lys Thr Leu Asp Cys Ile Lys Val Lys Asn Asn Arg Leu Pro Tyr Val
450 455 460

Ala Asp Lys Asp Ser Ile Ser Gln Glu Ile Phe Glu Asn Lys Ile Ile
465 470 475 480

Thr Asp Glu Thr Asn Val Gln Asn Tyr Ser Asp Lys Phe Ser Leu Asp
485 490 495

Glu Ser Ile Leu Asp Gly Gln Val Pro Ile Asn Pro Glu Ile Val Asp
500 505 510

Pro Leu Leu Pro Asn Val Asn Met Glu Pro Leu Asn Leu Pro Gly Glu
515 520 525

Glu Ile Val Phe Tyr Asp Asp Ile Thr Lys Tyr Val Asp Tyr Leu Asn
530 535 540

Ser Tyr Tyr Tyr Leu Glu Ser Gln Lys Leu Ser Asn Asn Val Glu Asn
545 550 555 560

Ile Thr Leu Thr Thr Ser Val Glu Glu Ala Leu Gly Tyr Ser Asn Lys
565 570 575

Ile Tyr Thr Phe Leu Pro Ser Leu Ala Glu Lys Val Asn Lys Gly Val
580 585 590

Gln Ala Gly Leu Phe Leu Asn Trp Ala Asn Glu Val Val Glu Asp Phe
595 600 605

Thr Thr Asn Ile Met Lys Lys Asp Thr Leu Asp Lys Ile Ser Asp Val
610 615 620

Ser Val Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Gly Asn Ser
625 630 635 640

Ala Leu Arg Gly Asn Phe Asn Gln Ala Phe Ala Thr Ala Gly Val Ala
645 650 655

Phe Leu Leu Glu Gly Phe Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ala Leu Gly Val
660 665 670

Phe Thr Phe Tyr Ser Ser Ile Gln Glu Arg Glu Lys Ile Ile Lys Thr
675 680 685

Ile Glu Asn Cys Leu Glu Gln Arg Val Lys Arg Trp Lys Asp Ser Tyr
690 695 700

Gln Trp Met Val Ser Asn Trp Leu Ser Arg Ile Thr Thr Gln Phe Asn
705 710 715 720

His Ile Asn Tyr Gln Met Tyr Asp Ser Leu Ser Tyr Gln Ala Asp Ala
725 730 735

Ile Lys Ala Lys Ile Asp Leu Glu Tyr Lys Lys Tyr Ser Gly Ser Asp
740 745 750

Lys Glu Asn Ile Lys Ser Gln Val Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu Asp
755 760 765

Val Lys Ile Ser Glu Ala Met Asn Asn Ile Asn Lys Phe Ile Arg Glu
770 775 780

Cys Ser Val Thr Tyr Leu Phe Lys Asn Met Leu Pro Lys Val Ile Asp
785 790 795 800

Glu Leu Asn Lys Phe Asp Leu Arg Thr Lys Thr Glu Leu Ile Asn Leu

805 810 815

Ile Asp Ser His Asn Ile Ile Leu Val Gly Glu Val Asp Arg Leu Lys
820 825 830

Ala Lys Val Asn Glu Ser Phe Glu Asn Thr Met Pro Phe Asn Ile Phe
835 840 845

Ser Tyr Thr Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Ile Ile Asn Glu Tyr Phe
850 855 860

Asn
865

<210> 56

<211> 847

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/E с петлей активации C1

<400> 56

Met Pro Lys Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp Arg
1 5 10 15

Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Glu Phe Tyr Lys Ser
20 25 30

Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
35 40 45

Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
50 55 60

Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys
65 70 75 80

Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn
85 90 95

Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
100 105 110

Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp
115 120 125

Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu

130 135 140

Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
145 150 155 160

Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
165 170 175

Arg Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
180 185 190

Arg Phe Asn Asp Asn Cys Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
195 200 205

Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
210 215 220

Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
225 230 235 240

Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
245 250 255

Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
260 265 270

Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
275 280 285

Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
290 295 300

Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
305 310 315 320

Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu
325 330 335

Phe Asp Leu Arg Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
340 345 350

Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
355 360 365

Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
370 375 380

Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
385 390 395 400

Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys His Lys Ala Ile
405 410 415

Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Glu Ile Asn
420 425 430

Asn Gly Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn Asp Asp
435 440 445

Asn Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser Asn Asn
450 455 460

Asn Tyr Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn Ser Glu
465 470 475 480

Ser Ala Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile Gln Asn
485 490 495

Asp Ala Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp Ile Glu
500 505 510

Gln His Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp Ala Gln
515 520 525

Lys Val Pro Glu Gly Glu Asn Asn Val Asn Leu Thr Ser Ser Ile Asp
530 535 540

Thr Ala Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Glu
545 550 555 560

Phe Ile Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe Val Ser
565 570 575

Trp Ile Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn Gln Lys
580 585 590

Ser Thr Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro Tyr Ile
595 600 605

Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn Phe Lys
610 615 620

Asp Ala Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Glu Pro

625 630 635 640

Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe Leu
645 650 655

Gly Ser Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn Asn Ala
660 665 670

Leu Lys Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe Ile Val
675 680 685

Ser Asn Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys Glu
690 695 700

Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Ile Lys Thr Ile
705 710 715 720

Ile Glu Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn Glu Leu
725 730 735

Thr Asn Lys Tyr Asp Ile Lys Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn Gln Lys
740 745 750

Val Ser Ile Ala Met Asn Asn Ile Asp Arg Phe Leu Thr Glu Ser Ser
755 760 765

Ile Ser Tyr Leu Met Lys Ile Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn Lys Leu
770 775 780

Arg Glu Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr Ile Ile
785 790 795 800

Gln His Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn Ser Met
805 810 815

Val Thr Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser Ser Tyr
820 825 830

Thr Asp Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe Lys
835 840 845

<210> 57

<211> 864

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/F с петлей активации C1

<400> 57

Met Pro Val Val Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp
1 5 10 15

Asp Thr Ile Leu Tyr Met Gln Ile Pro Tyr Glu Glu Lys Ser Lys Lys
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Glu Ile Met Arg Asn Val Trp Ile Ile Pro Glu
35 40 45

Arg Asn Thr Ile Gly Thr Asp Pro Ser Asp Phe Asp Pro Pro Ala Ser
50 55 60

Leu Glu Asn Gly Ser Ser Ala Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Thr Thr
65 70 75 80

Asp Ala Glu Lys Asp Arg Tyr Leu Lys Thr Thr Ile Lys Leu Phe Lys
85 90 95

Arg Ile Asn Ser Asn Pro Ala Gly Glu Val Leu Leu Gln Glu Ile Ser
100 105 110

Tyr Ala Lys Pro Tyr Leu Gly Asn Glu His Thr Pro Ile Asn Glu Phe
115 120 125

His Pro Val Thr Arg Thr Thr Ser Val Asn Ile Lys Ser Ser Thr Asn
130 135 140

Val Lys Ser Ser Ile Ile Leu Asn Leu Leu Val Leu Gly Ala Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Phe Glu Asn Ser Ser Tyr Pro Val Arg Lys Leu Met Asp Ser
165 170 175

Gly Gly Val Tyr Asp Pro Ser Asn Asp Gly Phe Gly Ser Ile Asn Ile
180 185 190

Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Glu Tyr Thr Phe Asn Asp Ile Ser Gly
195 200 205

Gly Tyr Asn Ser Ser Thr Glu Ser Phe Ile Ala Asp Pro Ala Ile Ser
210 215 220

Leu Ala His Glu Leu Ile His Ala Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala Arg
225 230 235 240

Gly Val Thr Tyr Lys Glu Thr Ile Lys Val Lys Gln Ala Pro Leu Met
245 250 255

Ile Ala Glu Lys Pro Ile Arg Leu Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Gln Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Met Lys Glu Lys Ile Tyr Asn
275 280 285

Asn Leu Leu Ala Asn Tyr Glu Lys Ile Ala Thr Arg Leu Ser Arg Val
290 295 300

Asn Ser Ala Pro Pro Glu Tyr Asp Ile Asn Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe
305 310 315 320

Gln Trp Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asn Ala Asp Gly Ser Tyr Thr Val
325 330 335

Asn Glu Asn Lys Phe Asn Glu Ile Tyr Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr
340 345 350

Glu Ile Asp Leu Ala Asn Lys Phe Lys Val Lys Cys Arg Asn Thr Tyr
355 360 365

Phe Ile Lys Tyr Gly Phe Leu Lys Val Pro Asn Leu Leu Asp Asp Asp
370 375 380

Ile Tyr Thr Val Ser Glu Gly Phe Asn Ile Gly Asn Leu Ala Val Asn
385 390 395 400

Asn Arg Gly Gln Asn Ile Lys Leu Asn Pro Lys Ile Ile Asp Ser Ile
405 410 415

Pro Asp Lys Gly Leu Val Glu Lys Ile Val Lys Phe Cys His Lys Ala
420 425 430

Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Arg Val
435 440 445

Asn Asn Arg Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Ser Ser Tyr Asn Glu
450 455 460

Asn Asp Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Thr Asn Leu Asn
465 470 475 480

Asn Asn Tyr Arg Asn Asn Leu Asp Glu Val Ile Leu Asp Tyr Asn Ser

485 490 495

Glu Thr Ile Pro Gln Ile Ser Asn Gln Thr Leu Asn Thr Leu Val Gln
500 505 510

Asp Asp Ser Tyr Val Pro Arg Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Glu Ile
515 520 525

Glu Glu His Asn Val Val Asp Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu His Ala
530 535 540

Gln Lys Val Pro Glu Gly Glu Thr Asn Ile Ser Leu Thr Ser Ser Ile
545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Ser Glu Glu Ser Gln Val Tyr Thr Phe Phe Ser Ser
565 570 575

Glu Phe Ile Asn Thr Ile Asn Lys Pro Val His Ala Ala Leu Phe Ile
580 585 590

Ser Trp Ile Asn Gln Val Ile Arg Asp Phe Thr Thr Glu Ala Thr Gln
595 600 605

Lys Ser Thr Phe Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Leu Val Val Pro Tyr
610 615 620

Val Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Val Gln Lys Glu Asn Phe
625 630 635 640

Lys Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Val
645 650 655

Pro Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe
660 665 670

Ile Gly Ser Ser Glu Asn Lys Asn Lys Ile Ile Lys Ala Ile Asn Asn
675 680 685

Ser Leu Met Glu Arg Glu Thr Lys Trp Lys Glu Ile Tyr Ser Trp Ile
690 695 700

Val Ser Asn Trp Leu Thr Arg Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys
705 710 715 720

Glu Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asp Ala Ile Lys Thr
725 730 735

Val Ile Glu Tyr Lys Tyr Asn Asn Tyr Thr Ser Asp Glu Arg Asn Arg
740 745 750

Leu Glu Ser Glu Tyr Asn Ile Asn Asn Ile Arg Glu Glu Leu Asn Lys
755 760 765

Lys Val Ser Leu Ala Met Glu Asn Ile Glu Arg Phe Ile Thr Glu Ser
770 775 780

Ser Ile Phe Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Ala Lys Val Ser Lys
785 790 795 800

Leu Arg Glu Tyr Asp Glu Gly Val Lys Glu Tyr Leu Leu Asp Tyr Ile
805 810 815

Ser Glu His Arg Ser Ile Leu Gly Asn Ser Val Gln Glu Leu Asn Asp
820 825 830

Leu Val Thr Ser Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Glu Leu Ser Ser
835 840 845

Tyr Thr Asn Asp Lys Ile Leu Ile Leu Tyr Phe Asn Lys Leu Tyr Lys
850 855 860

<210> 58

<211> 865

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/G с петлей активации C1

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (7)..(7)

<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 58

Met Pro Val Asn Ile Lys Xaa Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asn Asn
1 5 10 15

Asp Asp Ile Ile Met Met Glu Pro Phe Asn Asp Pro Gly Pro Gly Thr
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Arg Ile Ile Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu
35 40 45

Arg Phe Thr Tyr Gly Phe Gln Pro Asp Gln Phe Asn Ala Ser Thr Gly

50 55 60

Val Phe Ser Lys Asp Val Tyr Glu Tyr Tyr Asp Pro Thr Tyr Leu Lys
65 70 75 80

Thr Asp Ala Glu Lys Asp Lys Phe Leu Lys Thr Met Ile Lys Leu Phe
85 90 95

Asn Arg Ile Asn Ser Lys Pro Ser Gly Gln Arg Leu Leu Asp Met Ile
100 105 110

Val Asp Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ala Ser Thr Pro Pro Asp Lys
115 120 125

Phe Ala Ala Asn Val Ala Asn Val Ser Ile Asn Lys Lys Ile Ile Gln
130 135 140

Pro Gly Ala Glu Asp Gln Ile Lys Gly Leu Met Thr Asn Leu Ile Ile
145 150 155 160

Phe Gly Pro Gly Pro Val Leu Ser Asp Asn Phe Thr Asp Ser Met Ile
165 170 175

Met Asn Gly His Ser Pro Ile Ser Glu Gly Phe Gly Ala Arg Met Met
180 185 190

Ile Arg Phe Cys Pro Ser Cys Leu Asn Val Phe Asn Asn Val Gln Glu
195 200 205

Asn Lys Asp Thr Ser Ile Phe Ser Arg Arg Ala Tyr Phe Ala Asp Pro
210 215 220

Ala Leu Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly Leu Tyr
225 230 235 240

Gly Ile Lys Ile Ser Asn Leu Pro Ile Thr Pro Asn Thr Lys Glu Phe
245 250 255

Phe Met Gln His Ser Asp Pro Val Gln Ala Glu Glu Leu Tyr Thr Phe
260 265 270

Gly Gly His Asp Pro Ser Val Ile Ser Pro Ser Thr Asp Met Asn Ile
275 280 285

Tyr Asn Lys Ala Leu Gln Asn Phe Gln Asp Ile Ala Asn Arg Leu Asn
290 295 300

Ile Val Ser Ser Ala Gln Gly Ser Gly Ile Asp Ile Ser Leu Tyr Lys
305 310 315 320

Gln Ile Tyr Lys Asn Lys Tyr Asp Phe Val Glu Asp Pro Asn Gly Lys
325 330 335

Tyr Ser Val Asp Lys Asp Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Ala Leu Met
340 345 350

Phe Gly Phe Thr Glu Thr Asn Leu Ala Gly Glu Tyr Gly Ile Lys Thr
355 360 365

Arg Tyr Ser Tyr Phe Ser Glu Tyr Leu Pro Pro Ile Lys Thr Glu Lys
370 375 380

Leu Leu Asp Asn Thr Ile Tyr Thr Gln Asn Glu Gly Phe Asn Ile Ala
385 390 395 400

Ser Lys Asn Leu Lys Thr Glu Phe Asn Gly Gln Asn Lys Ala Val Asn
405 410 415

Lys Glu Ala Tyr Glu Glu Ile Ser Leu Glu His Leu Val Ile Tyr Arg
420 425 430

Ile Ala Met Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys
435 440 445

Thr Leu Asp Cys Ile Ile Val Asn Asn Glu Asp Leu Phe Phe Ile Ala
450 455 460

Asn Lys Asp Ser Phe Ser Lys Asp Leu Ala Lys Ala Glu Thr Ile Ala
465 470 475 480

Tyr Asn Thr Gln Asn Asn Thr Ile Glu Asn Asn Phe Ser Ile Asp Gln
485 490 495

Leu Ile Leu Asp Asn Asp Leu Ser Ser Gly Ile Asp Leu Pro Asn Glu
500 505 510

Asn Thr Glu Pro Phe Thr Asn Phe Asp Asp Ile Asp Ile Pro Val Tyr
515 520 525

Ile Lys Gln Ser Ala Leu Lys Lys Ile Phe Val Asp Gly Asp Ser Leu
530 535 540

Phe Glu Tyr Leu His Ala Gln Thr Phe Pro Ser Asn Ile Glu Asn Leu

545 550 555 560

Gln Leu Thr Asn Ser Leu Asn Asp Ala Leu Arg Asn Asn Asn Lys Val
565 570 575

Tyr Thr Phe Phe Ser Thr Asn Leu Val Glu Lys Ala Asn Thr Val Val
580 585 590

Gly Ala Ser Leu Phe Val Asn Trp Val Lys Gly Val Ile Asp Asp Phe
595 600 605

Thr Ser Glu Ser Thr Gln Lys Ser Thr Ile Asp Lys Val Ser Asp Val
610 615 620

Ser Ile Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Val Gly Asn Glu
625 630 635 640

Thr Ala Lys Glu Asn Phe Lys Asn Ala Phe Glu Ile Gly Gly Ala Ala
645 650 655

Ile Leu Met Glu Phe Ile Pro Glu Leu Ile Val Pro Ile Val Gly Phe
660 665 670

Phe Thr Leu Glu Ser Tyr Val Gly Asn Lys Gly His Ile Ile Met Thr
675 680 685

Ile Ser Asn Ala Leu Lys Lys Arg Asp Gln Lys Trp Thr Asp Met Tyr
690 695 700

Gly Leu Ile Val Ser Gln Trp Leu Ser Thr Val Asn Thr Gln Phe Tyr
705 710 715 720

Thr Ile Lys Glu Arg Met Tyr Asn Ala Leu Asn Asn Gln Ser Gln Ala
725 730 735

Ile Glu Lys Ile Ile Glu Asp Gln Tyr Asn Arg Tyr Ser Glu Glu Asp
740 745 750

Lys Met Asn Ile Asn Ile Asp Phe Asn Asp Ile Asp Phe Lys Leu Asn
755 760 765

Gln Ser Ile Asn Leu Ala Ile Asn Asn Ile Asp Asp Phe Ile Asn Gln
770 775 780

Cys Ser Ile Ser Tyr Leu Met Asn Arg Met Ile Pro Leu Ala Val Lys
785 790 795 800

Lys Leu Lys Asp Phe Asp Asp Asn Leu Lys Arg Asp Leu Leu Glu Tyr
805 810 815

Ile Asp Thr Asn Glu Leu Tyr Leu Leu Asp Glu Val Asn Ile Leu Lys
820 825 830

Ser Lys Val Asn Arg His Leu Lys Asp Ser Ile Pro Phe Asp Leu Ser
835 840 845

Leu Tyr Thr Lys Asp Thr Ile Leu Ile Gln Val Phe Asn Asn Tyr Ile
850 855 860

Ser
865

<210> 59

<211> 867

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/TeNT с петлей активации C1

<400> 59

Met Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn
1 5 10 15

Asp Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile
20 25 30

Tyr Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu
35 40 45

Arg Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser
50 55 60

Leu Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr
65 70 75 80

Asp Ser Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn
85 90 95

Arg Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile
100 105 110

Asn Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe
115 120 125

Asp Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro
130 135 140

Ser Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe
145 150 155 160

Gly Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu
165 170 175

Arg Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser
180 185 190

Ile Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn
195 200 205

Val Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe
210 215 220

Gln Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His
225 230 235 240

Gly Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Ser His Glu Ile Ile Pro Ser Lys
245 250 255

Gln Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu
260 265 270

Phe Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys
275 280 285

Asn Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn
290 295 300

Lys Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp
305 310 315 320

Ser Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Ser
325 330 335

Asn Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn
340 345 350

Ser Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn
355 360 365

Ile Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys

370 375 380

Ile Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe
385 390 395 400

Asn Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met
405 410 415

Arg Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Ser Gly Leu Val
420 425 430

Ser Lys Leu Ile Gly Leu Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu
435 440 445

Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr
450 455 460

Phe Ile Ala Glu Lys Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu
465 470 475 480

Ile Val Ser Tyr Asn Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser
485 490 495

Leu Asp Lys Ile Ile Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu
500 505 510

Pro Asn Asp Arg Thr Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro
515 520 525

Glu Tyr Lys Ser Asn Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp
530 535 540

Asp Asn Thr Ile Tyr Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr
545 550 555 560

Leu Gln Arg Ile Thr Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn
565 570 575

Ser Thr Lys Ile Tyr Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn
580 585 590

Gln Gly Ala Gln Gly Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile
595 600 605

Asp Asp Phe Thr Asn Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile
610 615 620

Ser Asp Val Ser Thr Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile
625 630 635 640

Val Lys Gln Gly Tyr Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr
645 650 655

Gly Val Val Leu Leu Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val
660 665 670

Ile Ala Ala Leu Ser Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile
675 680 685

Ile Lys Thr Ile Asp Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile
690 695 700

Glu Val Tyr Lys Leu Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr
705 710 715 720

Gln Phe Gln Lys Arg Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln
725 730 735

Val Asp Ala Ile Lys Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser
740 745 750

Gly Pro Asp Lys Glu Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn
755 760 765

Lys Leu Glu Glu Lys Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe
770 775 780

Met Arg Glu Ser Ser Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu
785 790 795 800

Ala Lys Lys Gln Leu Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu
805 810 815

Met Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu
820 825 830

Lys Lys Leu Glu Ser Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro
835 840 845

Phe Ser Tyr Ser Lys Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp
850 855 860

Ile Asp Val

865

<210> 60

<211> 896

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> LHN/X с петлей активации C1

<400> 60

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile

195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu
420 425 430

Tyr Asn Lys Thr Leu Asp Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe
435 440 445

Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu
450 455 460

Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro
465 470 475 480

Gln Asp Ile Thr Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile
485 490 495

Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr
500 505 510

Glu Pro Ile Arg Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp
515 520 525

Lys Leu Thr Thr Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser
530 535 540

Ile Asp Ser Ser Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu
545 550 555 560

Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser
565 570 575

Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe
580 585 590

Tyr Gln Trp Leu Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly
595 600 605

Lys Ile Asp Val Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro
610 615 620

Tyr Ile Gly Pro Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp
625 630 635 640

Phe Val Gly Ala Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr
645 650 655

Val Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly
660 665 670

Gly Glu Leu Ala Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu
675 680 685

Asp Lys Arg Asp Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala

690 695 700

Gln Trp Trp Gly Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His
705 710 715 720

Thr Tyr Lys Ala Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met
725 730 735

Glu Phe Gln Leu Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys
740 745 750

Ile Lys Asn Ala Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val
755 760 765

Glu Gln Ala Met Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn
770 775 780

Ser Tyr Leu Thr Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys
785 790 795 800

Asn Phe Asp Leu Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu
805 810 815

Lys Glu Asp Ile Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys
820 825 830

Val Ser Ile Arg Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile
835 840 845

Pro Phe Ser Glu Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile
850 855 860

Glu Asp Tyr Glu Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys
865 870 875 880

Asp Leu Ser Gly Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu
885 890 895

<210> 61

<211> 14

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Петля активации BoNT/DC

<400> 61

Cys Leu Arg Leu Thr Arg Asn Ser Arg Asp Asp Ser Thr Cys

1 5 10

<210> 62

<211> 25

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 62

Cys Val Arg Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Glu Gly

1 5 10 15

Tyr Asn Lys Ala Leu Asn Glu Leu Cys

20 25

<210> 63

<211> 25

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 63

Cys Val Arg Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Glu Gly

1 5 10 15

Tyr Asn Lys Ala Leu Asn Asp Leu Cys

20 25

<210> 64

<211> 25

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 64

Cys Val Arg Gly Ile Ile Pro Phe Lys Thr Lys Ser Leu Asp Glu Gly

1 5 10 15

Tyr Asn Lys Ala Leu Asn Tyr Leu Cys

20 25

<210> 65

<211> 25

<212> БЕЛОК

<213> Clostridium botulinum

<400> 65

Cys Val Arg Gly Ile Ile Pro Phe Lys Thr Lys Ser Leu Asp Glu Gly

1 5 10 15

Tyr Asn Lys Ala Leu Asn Asp Leu Cys

20 25

<210> 66
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Clostridium botulinum

<400> 66

Cys Ser Asn Ser Asn Thr Lys Asn Ser Leu Cys
1 5 10

<210> 67
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Clostridium botulinum

<400> 67

Cys Thr Asn Ile Phe Ser Pro Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys
1 5 10 15

<210> 68
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Clostridium botulinum

<400> 68

Cys Lys Asn Ile Val Phe Ser Lys Gly Ile Thr Lys Ser Ile Cys
1 5 10 15

<210> 69
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Clostridium botulinum

<400> 69

Cys Lys Asn Ile Val Phe Ser Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys
1 5 10 15

<210> 70
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Clostridium botulinum

<400> 70

Cys Lys Ser Val Lys Val Pro Gly Ile Cys
1 5 10

<210> 71
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Clostridium botulinum

<400> 71

Cys Lys Ser Val Lys Ala Pro Gly Ile Cys
1 5 10

<210> 72
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Участок расщепления энтерокиназой

<400> 72

Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 73
<211> 23
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Домен транслокации гемагглютинина вируса гриппа

<400> 73

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly
1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly
20

<210> 74
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Мотив на основе лейцина

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (1)..(1)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (3)..(5)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 74

Хаа Asp Хаа Хаа Хаа Leu Leu
1 5

<210> 75
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Мотив на основе лейцина

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (1)..(1)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (3)..(5)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 75

Хаа Glu Хаа Хаа Хаа Leu Leu
1 5

<210> 76
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Мотив на основе лейцина

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (1)..(1)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (3)..(5)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 76

Хаа Glu Хаа Хаа Хаа Ile Leu
1 5

<210> 77
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Мотив на основе лейцина

<220>
<221> УЧАСТОК
<222> (1)..(1)

<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (3)..(5)

<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 77

Хаа Glu Хаа Хаа Хаа Leu Met

1 5

<210> 78

<211> 4

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Мотив на основе тирозина

<220>

<221> УЧАСТОК

<222> (2)..(3)

<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (4)..(4)

<223> Хаа представляет собой гидрофобную аминокислоту

<400> 78

Тур Хаа Хаа Хаа

1

<210> 79

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Участок расщепления TEV

<400> 79

Glu Asn Leu Тур Phe Gln Gly

1 5

<210> 80

<211> 6

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Участок расщепления тромбина

<400> 80

Leu Val Pro Arg Gly Ser
1 5

<210> 81
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Участок расщепления PreScission

<400> 81

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
1 5

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ протеолитического процессинга одноцепочечного сконструированного клостридиального нейротоксина в соответствующий двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин, причем способ включает:

а) предоставление одноцепочечного сконструированного клостридиального нейротоксина, в котором эндогенная петля активации заменена экзогенной петлей активации; и

б) приведение одноцепочечного сконструированного клостридиального нейротоксина в контакт с энтерокиназой или фактором Ха;

где одноцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин имеет петлю активации, содержащую полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1), где a=1-10 и b=4-20, и где Xaa представляет собой любую аминокислоту, и Yaa представляет собой любую аминокислоту;

где сконструированный клостридиальный нейротоксин не является ботулиническим нейротоксином типа C1 (BoNT/C1); и

где энтерокиназа или фактор Ха гидролизует пептидную связь петли активации, тем самым получая двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин.

2. Способ получения сконструированного клостридиального нейротоксина, причем способ включает:

а) идентификацию эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина, где клостридиальный нейротоксин отличается тем, что:

i) пептидная связь вне эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина гидролизуетя посредством трипсина или Lys-C; и/или

ii) эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином или Lys-C; и

б) замену эндогенной петли активации экзогенной петлей активаций, тем самым получая сконструированный клостридиальный нейротоксин, где экзогенная петля активации содержит полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1), где a=1-10 и b=4-20, и где Xaa представляет собой любую аминокислоту, и Yaa представляет собой любую аминокислоту;

где сконструированный клостридиальный нейротоксин не является ботулиническим нейротоксином типа C1 (BoNT/C1).

3. Способ по п.2, где клостридиальный нейротоксин идентифицирован как являющийся пригодным для применения в способе посредством приведения клостридиального нейротоксина в контакт с трипсином или Lys-C и подтверждения гидролиза пептидной связи вне эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина.

4. Способ по п.2 или 3, дополнительно включающий приведение сконструированного клостридиального нейротоксина в контакт с энтерокиназой или фактором Ха, тем самым получая соответствующий двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин.

5. Способ по любому из пп.2-4, где эндогенная петля активации представляет собой одну или несколько, выбранных из SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO: 31.

6. Способ по любому из пп.1-5, где:

а) a=2-4;

- b) a=3;
 c) b=6-10;
 d) b=8;
 e) (экзогенная) петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70%, 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3;
 f) (экзогенная) петля активации содержит полипептидную последовательность, имеющую SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3;
 g) (экзогенная) петля активации содержит SEQ ID NO: 2; и/или
 h) (экзогенная) петля активации состоит из SEQ ID NO: 2.
7. Способ по любому из пп.1-6, где:
- a) клостридиальный нейротоксин лишен функционального H_C-домена клостридиального нейротоксина;
 b) клостридиальный нейротоксин представляет собой перенацеленный клостридиальный нейротоксин, содержащий неклостридиальную нацеливающую часть (ТМ);
 c) клостридиальный нейротоксин представляет собой перенацеленный клостридиальный нейротоксин, содержащий нацеливающую часть (ТМ), где ТМ содержит защитный антиген (РА) токсина сибирской язвы или его фрагмент; и/или
 d) клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с полипептидом, содержащим:
 i) SEQ ID NO: 52 или ее фрагмент; и
 ii) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.
8. Способ по любому из пп.1-7, где:
- a) клостридиальный нейротоксин выбран из: BoNT/A, BoNT/B, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F, BoNT/G, BoNT/X и TeNT;
 b) клостридиальный нейротоксин представляет собой BoNT/X, BoNT/E, химерный BoNT или гибридный BoNT; и/или
 c) клостридиальный нейротоксин:
 i) кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12; или
 ii) содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13.
9. Сконструированный клостридиальный нейротоксин, где эндогенная петля активации клостридиального нейротоксина заменена экзогенной петлей активации с получением тем самым сконструированного клостридиального нейротоксина,
 где экзогенная петля активации содержит полипептидную последовательность Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys (SEQ ID NO: 1), где a=1-10 и b=4-20, и где Xaa представляет собой любую аминокислоту, и Yaa представляет собой любую аминокислоту,
 где клостридиальный нейротоксин характеризуется тем, что: пептидная связь вне эндогенной петли активации клостридиального нейротоксина гидролизована трипсином или Lys-C; и/или эндогенная петля активации неэффективно протеолитически процессируется трипсином или Lys-C, и
 где сконструированный клостридиальный нейротоксин не является ботулиническим нейротоксином типа C1 (BoNT/C1).
10. Сконструированный клостридиальный нейротоксин по п.9, где эндогенная петля активации представляет собой одну или несколько, выбранных из SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO: 31.
11. Сконструированный клостридиальный нейротоксин по п.9 или 10, где:
- a) a=2-4;
 b) a=3;
 c) b=6-10;
 d) b=8;
 e) (экзогенная) петля активации содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70%, 80% или 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3;
 f) (экзогенная) петля активации содержит полипептидную последовательность, имеющую SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3;
 g) (экзогенная) петля активации содержит SEQ ID NO: 2; и/или
 h) (экзогенная) петля активации состоит из SEQ ID NO: 2.
12. Сконструированный клостридиальный нейротоксин по любому из пп.9-11, где:
- a) клостридиальный нейротоксин лишен функционального H_C-домена клостридиального нейроток-

сина;

b) клостридиальный нейротоксин представляет собой перенацеленный клостридиальный нейротоксин, содержащий неклостридиальную нацеливающую часть (ТМ);

с) клостридиальный нейротоксин представляет собой перенацеленный клостридиальный нейротоксин, содержащий нацеливающую часть (ТМ), где ТМ содержит защитный антиген (РА) токсина сибирской язвы или его фрагмент; и/или

d) клостридиальный нейротоксин имеет полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с полипептидом, содержащим:

i) SEQ ID NO: 52 или ее фрагмент; и

ii) SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 или SEQ ID NO: 60.

13. Сконструированный клостридиальный нейротоксин по любому из пп.9-12, где:

a) клостридиальный нейротоксин выбран из: BoNT/A, BoNT/B, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F, BoNT/G, BoNT/X и TeNT;

b) клостридиальный нейротоксин представляет собой BoNT/X, BoNT/E, химерный BoNT или гибридный BoNT; и/или

c) клостридиальный нейротоксин:

i) кодируется нуклеотидной последовательностью, обладающей по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12; или

ii) содержит полипептидную последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13.

14. Сконструированный клостридиальный нейротоксин, содержащий полипептидную последовательность, по меньшей мере на 70%, 80% или 90% идентичную последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13, предпочтительно содержащий (более предпочтительно состоящий из) SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 13.

15. Способ протеолитического процессинга сконструированного клостридиального нейротоксина по любому из пп.9-14 в соответствующий двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин, причем способ включает приведение сконструированного клостридиального нейротоксина в контакт с энтерокиназой или фактором Ха, тем самым получая двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин.

16. Двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин, получаемый способом по любому из пп.1, 4-8 или 15.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая сконструированный клостридиальный нейротоксин по любому из пп.9-14 и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент, адъювант, пропеллент и/или соль.

18. Фармацевтическая композиция, содержащая двухцепочечный сконструированный клостридиальный нейротоксин по п.16, и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент, адъювант, пропеллент и/или соль.

19. Применение сконструированного клостридиального нейротоксина по любому из пп.9-14 в лечении одного или нескольких из: состояния, ассоциированного с нежелательной иммунной секрецией, страбизмом, блефароспазмом, косоглазием, дистонией (например, спастическая дистония, оромандибулярная дистония, очаговая дистония, поздняя дистония, ларингеальная дистония, дистония конечностей, цервикальная дистония), кривошеей (например, спастическая кривошея), применением в косметологии (косметике), при котором представляют интерес нарушения работоспособности клеток/мышц (посредством подавления или инактивации SNARE), нервно-мышечного нарушения или состояния подвижности глаз (например, сопутствующий страбизм, вертикальный страбизм, паралич латеральной прямой мышцы, нистагм, дистироидная миопатия), блефароспазмом, бруксизмом, болезнью Вильсона, тремором, тиками, сегментным миоклонусом, спазмами, спастичностью вследствие хронического рассеянного склероза, спастичностью, приводящей к нарушению контроля мочевого пузыря, спазмом в спине, ушибом или разрывом мышц, тензионными головными болями, синдромом поднимающей мышцы таза, расщепленным позвоночником, поздней дискинезией, болезнью Паркинсона, заиканием, гемифациальным спазмом, нарушением глазного яблока, церебральным параличом, очаговой спастичностью, спастическим колитом, нейрогенным мочевым пузырем, анизмусом, спастичностью конечностей, анальными трещинами, ахалазией, дисфагией, слезоотделением, гипергидрозом, чрезмерным слюноотделением, чрезмерной желудочно-кишечной секрецией, мышечной болью (например, боль в результате мышечных спазмов), головной болью (например, тензионная головная боль), межбровными складками, морщинами кожи, злокачественной опухолью, нарушениями матки, урогенитальными нарушениями, урогенитально-неврологическими нарушениями, хроническим нейрогенным воспалением и нарушением гладких мышц.

20. Применение двухцепочечного сконструированного клостридиального нейротоксина по п.16 в

лечении одного или нескольких из: состояния, ассоциированного с нежелательной иммунной секрецией, страбизмом, блефароспазмом, косоглазием, дистонией (например, спастическая дистония, оромандибулярная дистония, очаговая дистония, поздняя дистония, ларингеальная дистония, дистония конечностей, цервикальная дистония), кривошеей (например, спастическая кривошея), применением в косметологии (косметике), при котором представляют интерес нарушения работоспособности клеток/мышц (посредством подавления или инактивации SNARE), нервно-мышечного нарушения или состояния подвижности глаз (например, сопутствующий страбизм, вертикальный страбизм, паралич латеральной прямой мышцы, нистагм, дистироидная миопатия), графоспазмом, бруксизмом, болезнью Вильсона, тремором, тиками, сегментным миоклонусом, спазмами, спастичностью вследствие хронического рассеянного склероза, спастичностью, приводящей к нарушению контроля мочевого пузыря, спазмом в спине, ушибом или разрывом мышц, тензионными головными болями, синдромом поднимающей мышцы таза, расщепленным позвоночником, поздней дискинезией, болезнью Паркинсона, заиканием, гемифациальным спазмом, нарушением глазного яблока, церебральным параличом, очаговой спастичностью, спастическим колитом, нейрогенным мочевым пузырем, анизмусом, спастичностью конечностей, анальными трещинами, ахалазией, дисфагией, слезоотделением, гипергидрозом, чрезмерным слюноотделением, чрезмерной желудочно-кишечной секрецией, мышечной болью (например, боль в результате мышечных спазмов), головной болью (например, тензионная головная боль), межбровными складками, морщинами кожи, злокачественной опухолью, нарушениями матки, урогенитальными нарушениями, урогенитально-неврологическими нарушениями, хроническим нейрогенным воспалением и нарушением гладких мышц.

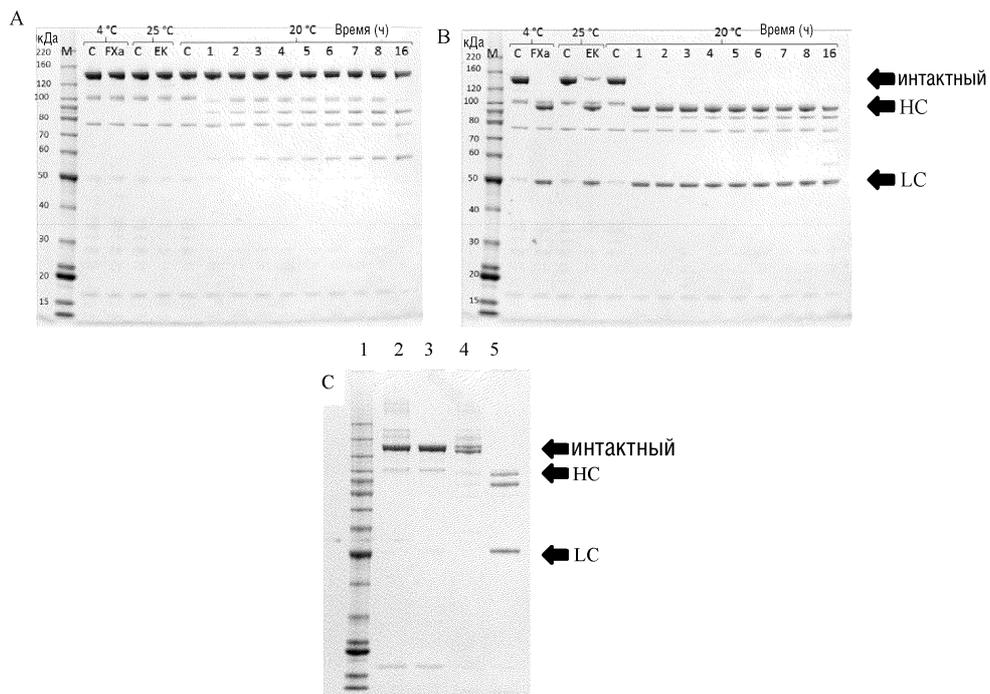
21. Применение фармацевтической композиции по п.17 в лечении одного или нескольких из: состояния, ассоциированного с нежелательной иммунной секрецией, страбизмом, блефароспазмом, косоглазием, дистонией (например, спастическая дистония, оромандибулярная дистония, очаговая дистония, поздняя дистония, ларингеальная дистония, дистония конечностей, цервикальная дистония), кривошеей (например, спастическая кривошея), применением в косметологии (косметике), при котором представляют интерес нарушения работоспособности клеток/мышц (посредством подавления или инактивации SNARE), нервно-мышечного нарушения или состояния подвижности глаз (например, сопутствующий страбизм, вертикальный страбизм, паралич латеральной прямой мышцы, нистагм, дистироидная миопатия), графоспазмом, бруксизмом, болезнью Вильсона, тремором, тиками, сегментным миоклонусом, спазмами, спастичностью вследствие хронического рассеянного склероза, спастичностью, приводящей к нарушению контроля мочевого пузыря, спазмом в спине, ушибом или разрывом мышц, тензионными головными болями, синдромом поднимающей мышцы таза, расщепленным позвоночником, поздней дискинезией, болезнью Паркинсона, заиканием, гемифациальным спазмом, нарушением глазного яблока, церебральным параличом, очаговой спастичностью, спастическим колитом, нейрогенным мочевым пузырем, анизмусом, спастичностью конечностей, анальными трещинами, ахалазией, дисфагией, слезоотделением, гипергидрозом, чрезмерным слюноотделением, чрезмерной желудочно-кишечной секрецией, мышечной болью (например, боль в результате мышечных спазмов), головной болью (например, тензионная головная боль), межбровными складками, морщинами кожи, злокачественной опухолью, нарушениями матки, урогенитальными нарушениями, урогенитально-неврологическими нарушениями, хроническим нейрогенным воспалением и нарушением гладких мышц.

22. Применение фармацевтической композиции по п.18 в лечении одного или нескольких из: состояния, ассоциированного с нежелательной иммунной секрецией, страбизмом, блефароспазмом, косоглазием, дистонией (например, спастическая дистония, оромандибулярная дистония, очаговая дистония, поздняя дистония, ларингеальная дистония, дистония конечностей, цервикальная дистония), кривошеей (например, спастическая кривошея), применением в косметологии (косметике), при котором представляют интерес нарушения работоспособности клеток/мышц (посредством подавления или инактивации SNARE), нервно-мышечного нарушения или состояния подвижности глаз (например, сопутствующий страбизм, вертикальный страбизм, паралич латеральной прямой мышцы, нистагм, дистироидная миопатия), графоспазмом, бруксизмом, болезнью Вильсона, тремором, тиками, сегментным миоклонусом, спазмами, спастичностью вследствие хронического рассеянного склероза, спастичностью, приводящей к нарушению контроля мочевого пузыря, враждебностью, спазмом в спине, ушибом или разрывом мышц, тензионными головными болями, синдромом поднимающей мышцы таза, расщепленным позвоночником, поздней дискинезией, болезнью Паркинсона, заиканием, гемифациальным спазмом, нарушением глазного яблока, церебральным параличом, очаговой спастичностью, спастическим колитом, нейрогенным мочевым пузырем, анизмусом, спастичностью конечностей, анальными трещинами, ахалазией, дисфагией, слезоотделением, гипергидрозом, чрезмерным слюноотделением, чрезмерной желудочно-кишечной секрецией, мышечной болью (например, боль в результате мышечных спазмов), головной болью (например, тензионная головная боль), межбровными складками, морщинами кожи, злокачественной опухолью, нарушениями матки, урогенитальными нарушениями, урогенитально-неврологическими нарушениями, хроническим нейрогенным воспалением и нарушением гладких мышц.

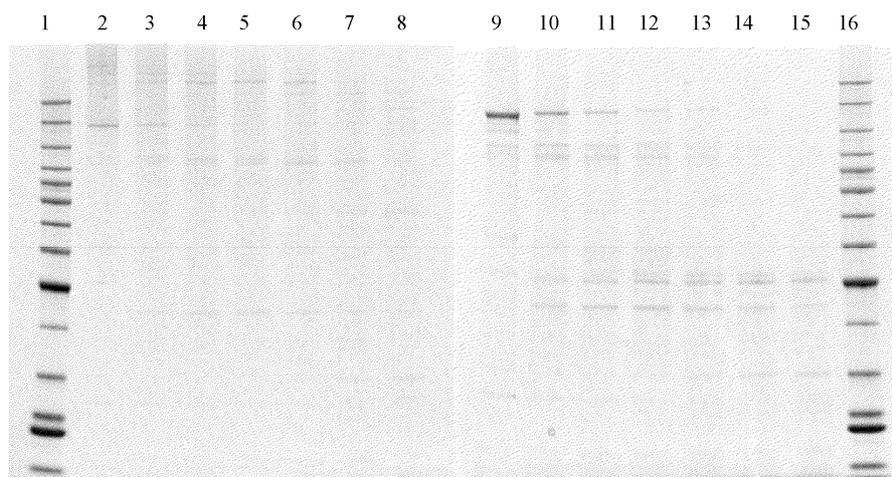
23. Нуклеотидная последовательность, кодирующая сконструированный кластридиальный нейротоксин, содержащая последовательность, обладающую по меньшей мере 70% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 12.

ID белка	начальн. а.к.	Последовательность	конечная а.к.	SEQ ID NO:
D_AB012112	437	CLRLTKNSRDDSTC	450	23
DC_AB745660	437	CLRLTRNSRDDSTC	450	61
C1_X62389	437	CHKAIDGRSLYNKTLDC	453	2
CD_AB200360	437	CHKAIDGRSLYNKTLDC	453	
A4_EU341307	430	CVRGIITSKTKSLDEGYNKALNELC	454	62
A7_JQ954969	430	CVRGIITSKTKSLDEGYNKALNDLC	454	63
A6_FJ981696	430	CVRGIITSKTKSLDKGYNKALNDLC	454	21
A1_AF488749	430	CVRGIITSKTKSLDKGYNKALNDLC	454	
A5_EU679004	430	CVRGIITSKTKSLDEGYNKALNDLC	454	63
A3_DQ185900	426	CVRGIIPFKTKSLDEGYNKALNYLC	450	64
A2_X73423	430	CVRGIIPFKTKSLDEGYNKALNDLC	454	65
A8_KM233166	430	CVRGIIPFKTKSLDEGYNKALNDLC	454	
H_KGO15617	428	CSNSNTKNSLC	438	66
E9_JX424534	414	CKNIVSVKGIRKSIC	429	24
E12_KM370319	414	CKNIVSVKGIRKSIC	429	
E11_KF861875	411	CTNIFSPKGIRKSIC	426	67
E10_KF861917	411	CKNIVFSKGITKSIC	426	68
E7_JN695729	411	CKNIVFSKGITKSIC	426	
E8_JN695730	411	CKNIVFSKGITKSIC	426	24
E5_AB037711	411	CKNIVSVKGIRKSIC	426	
E6_AM695759	411	CKNIVFSKGIRKSIC	426	69
E4_AB088207	411	CKNIVSVKGIRKSIC	426	24
E3_EF028403	411	CKNIVSVKGIRKSIC	426	
E1_GQ244314	411	CKNIVSVKGIRKSIC	426	
E2_EF028404	411	CKNIVSVKGIRKSIC	426	
F7_GU213233	420	CKSIVSKKGTKNSLC	434	29
F5_GU213211	428	CLNSSFKKNTKKPLC	442	28
F1_GU213203	429	CKSVIPRKGTKAPRLC	445	25
F4_GU213214	429	CKSIIPRKGTKAPRLC	445	27
F2_GU213209	429	CKSIIPRKGTKQSPSLC	445	26
F3_GU213227	429	CKSIIPRKGTKQSPSLC	445	
F6_M92906	429	CKSVIPRKGTKAPRLC	445	25
T_P04958	439	CKKIIPPTNIRENLNRTASLTDLGGELC	467	30
G_X74162	436	CKPVMYKNTGKSEQC	450	31
B4_EF051570	437	CKSVKVPGIC	446	70
B8_JQ964806	437	CKSVRAPGIC	446	22
B7_JQ354985	437	CKSVKAPGIC	446	71
B6_AB302852	437	CKSVRAPGIC	446	22
B2_AB084152	437	CKSVRAPGIC	446	
B3_EF028400	437	CKSVRAPGIC	446	
B1_AB232927	437	CKSVKAPGIC	446	
B5_EF033130	437	CKSVKAPGIC	446	71
X_BAQ12790	423	CPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNDLEDKK TTSKTNVSYPCSLNLC	467	20

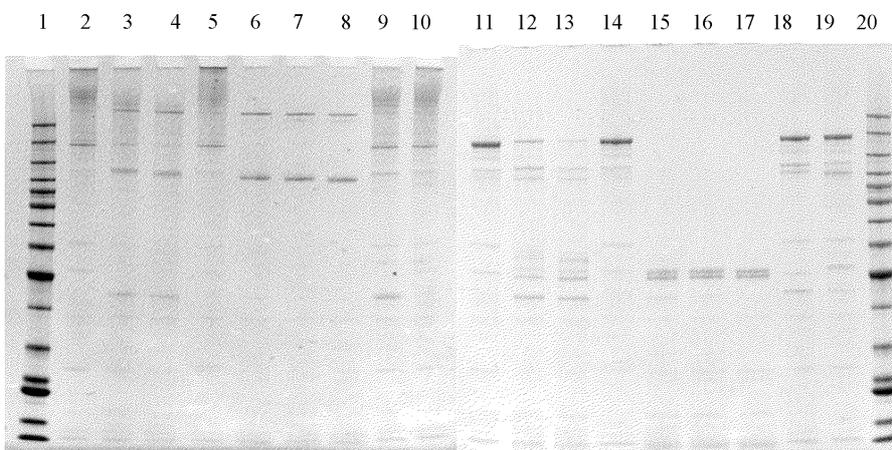
Фиг. 1



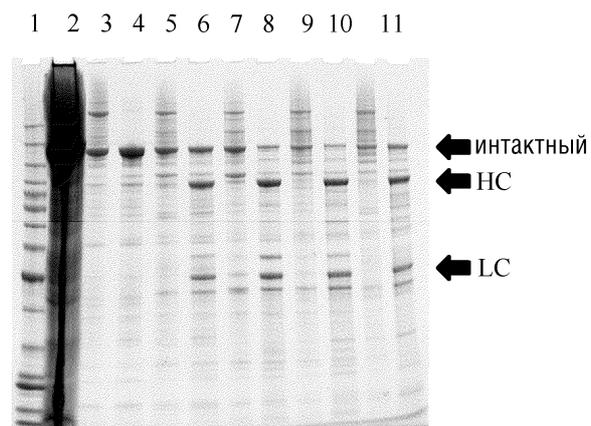
Фиг. 2



В

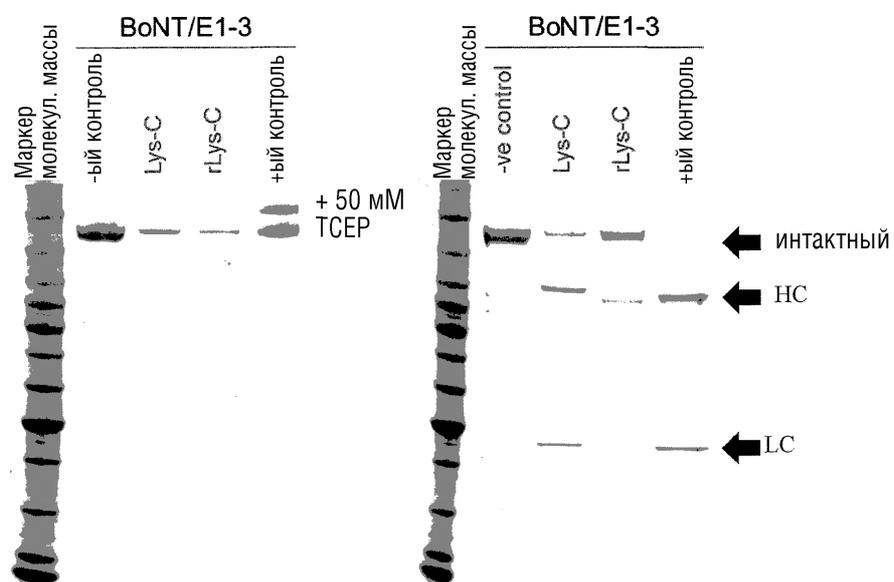


Фиг. 3

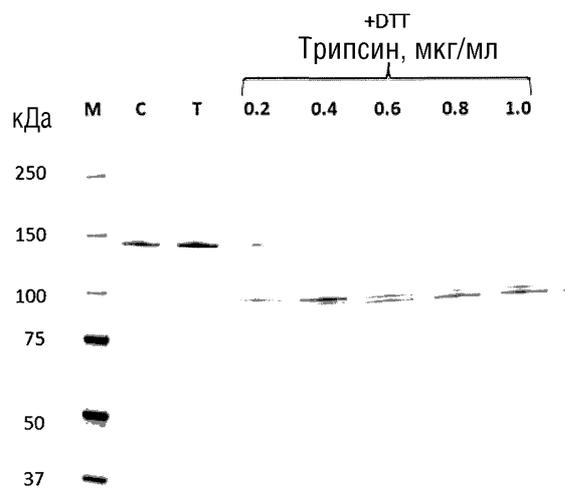


Фиг. 4

A

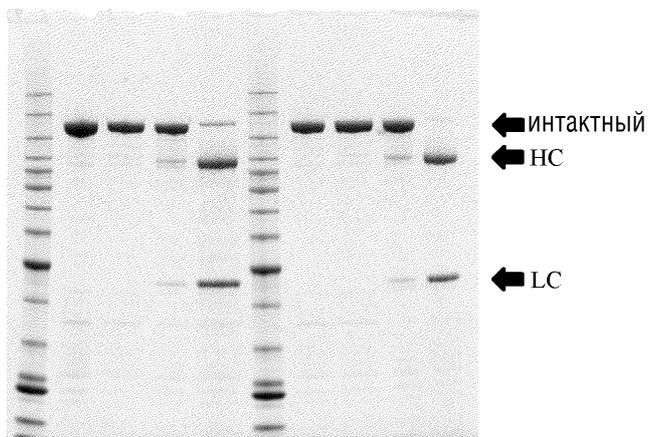


B

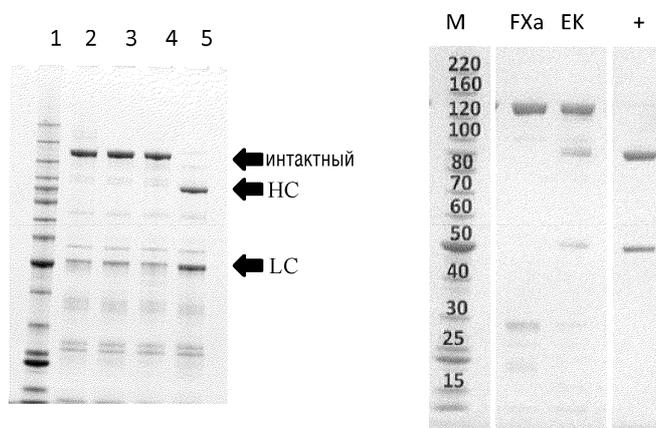


Фиг. 5

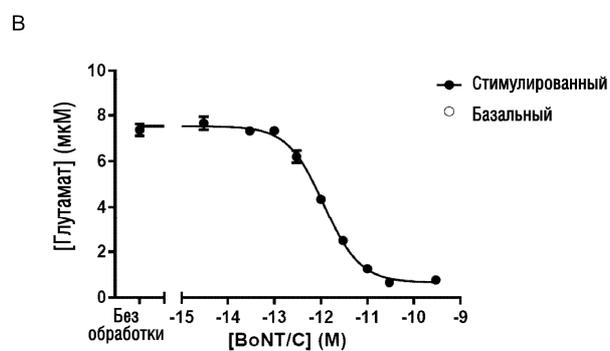
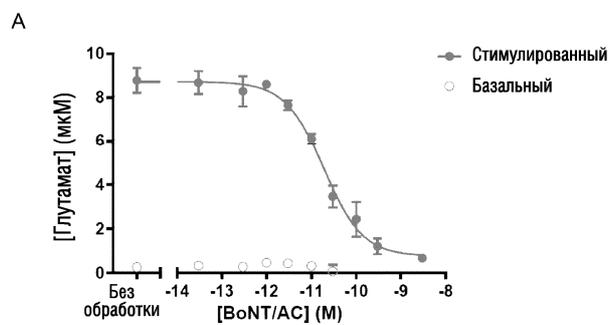
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



Фиг. 6

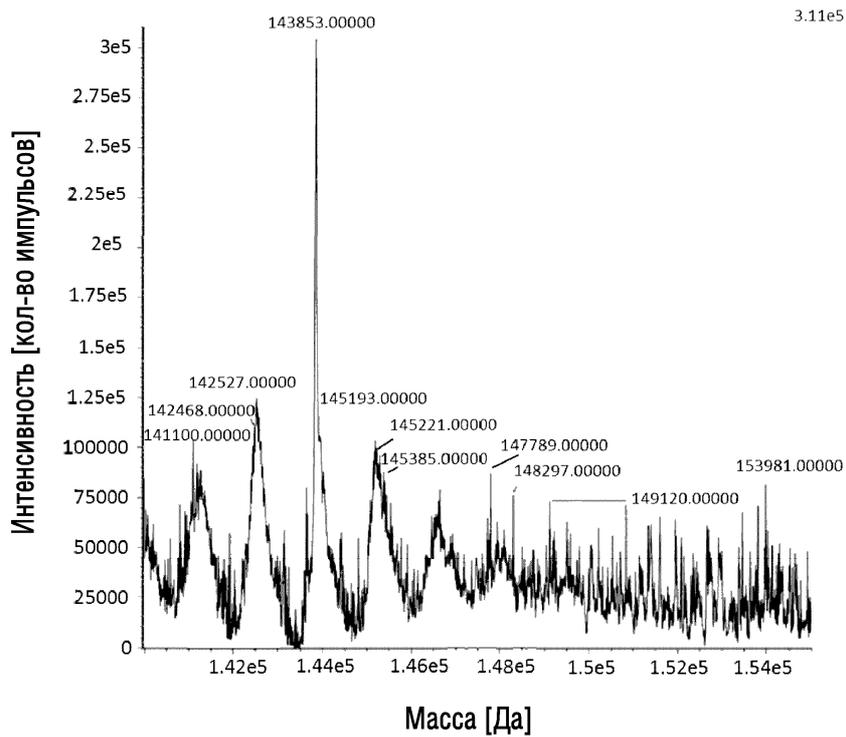


Фиг. 7

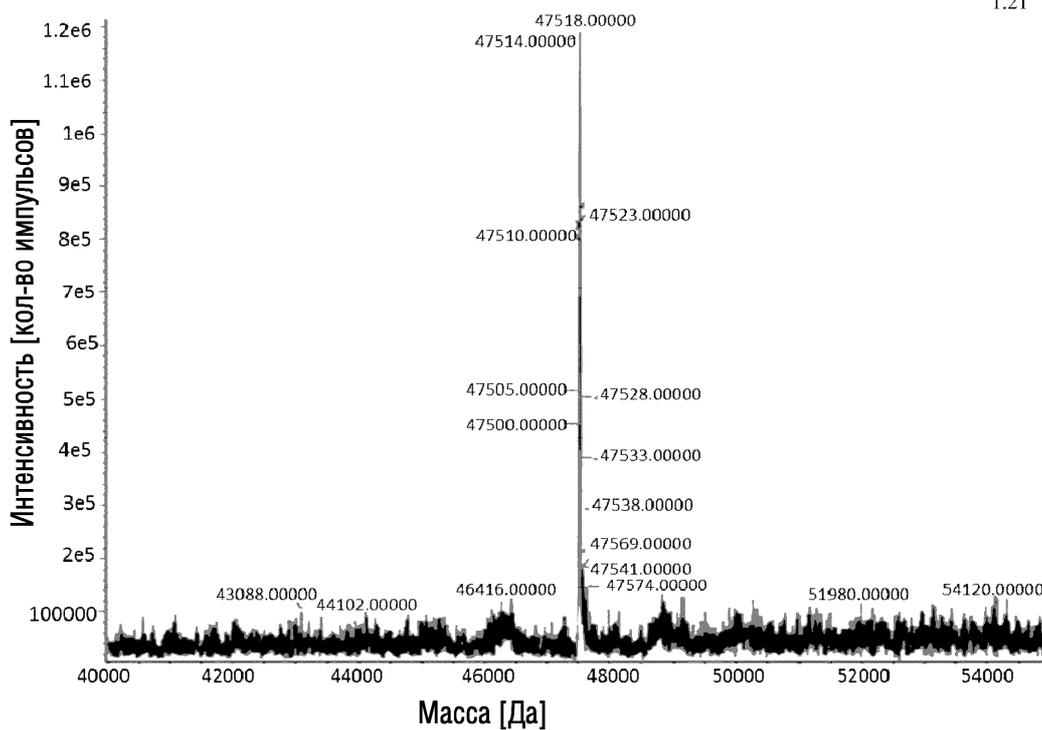


Фиг. 8

047022

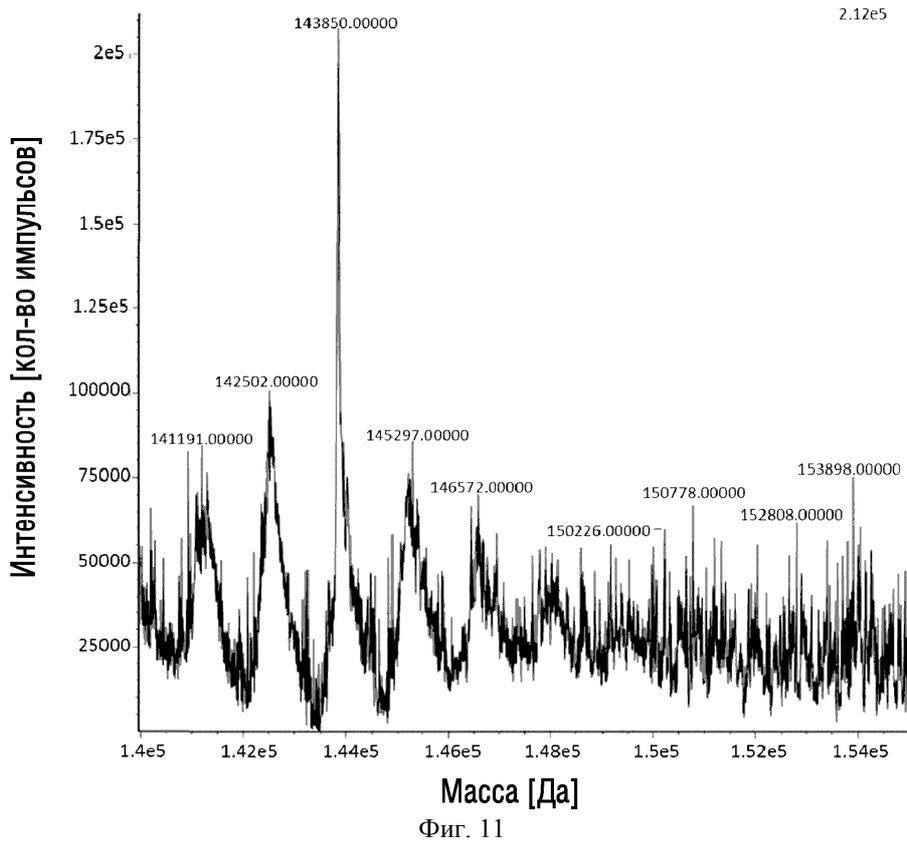
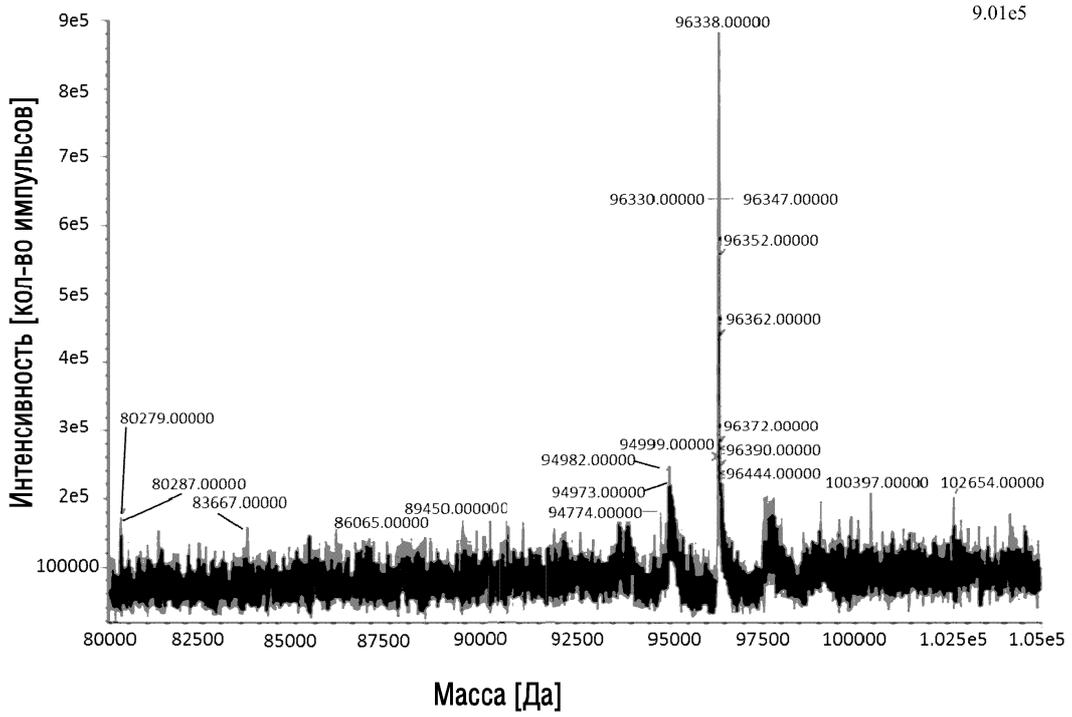


Фиг. 9

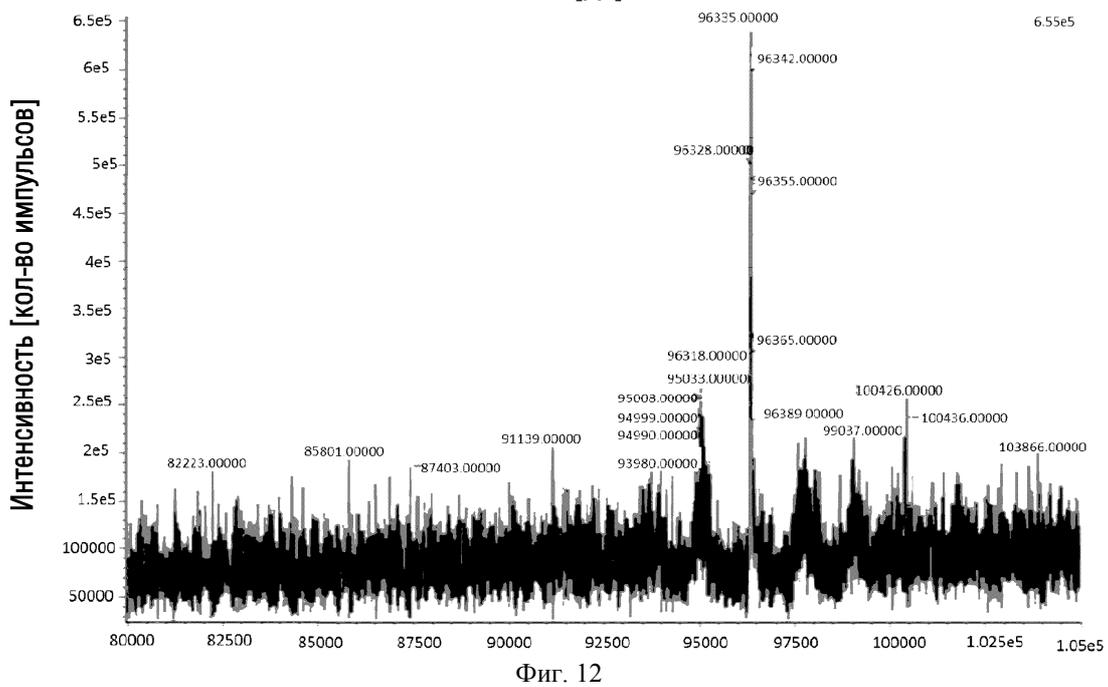
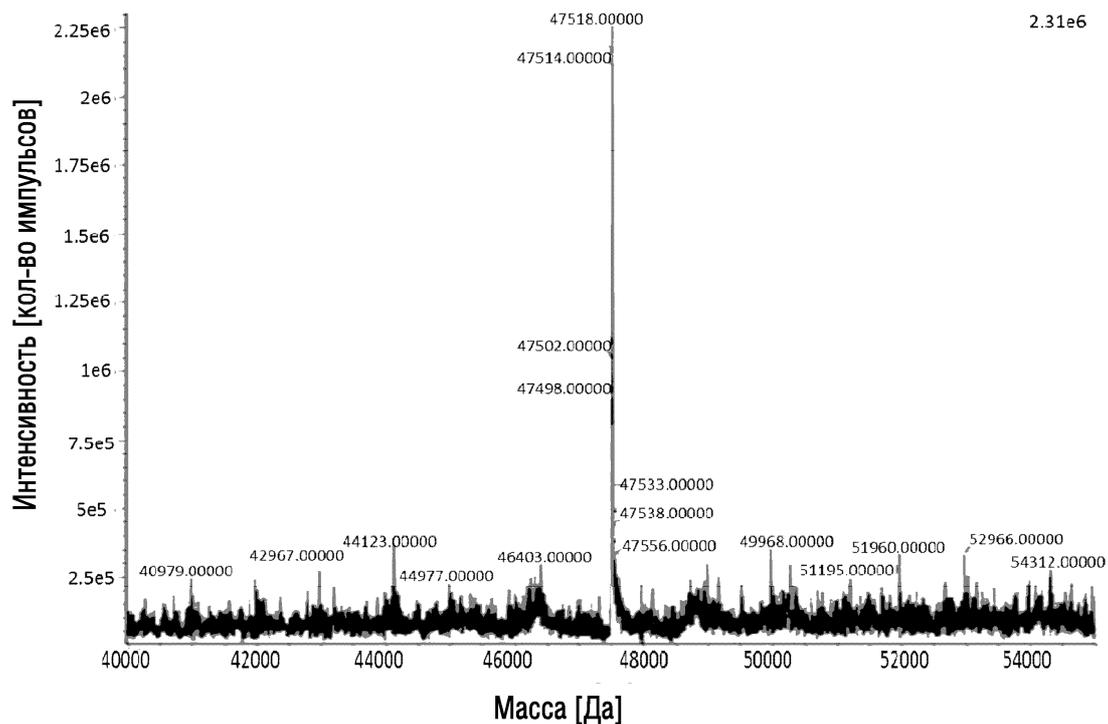


1.21

047022

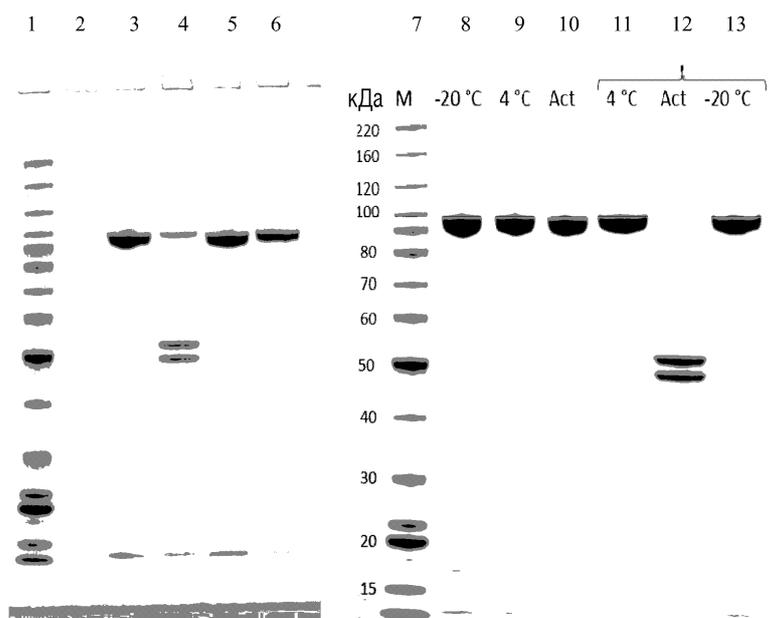


047022

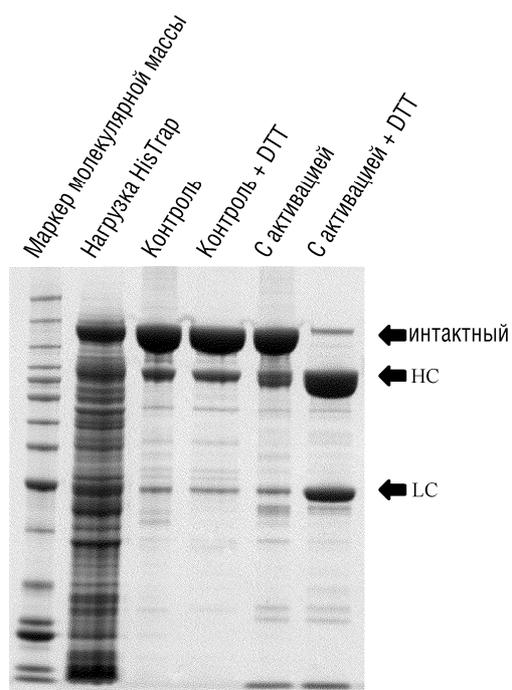


Фиг. 12

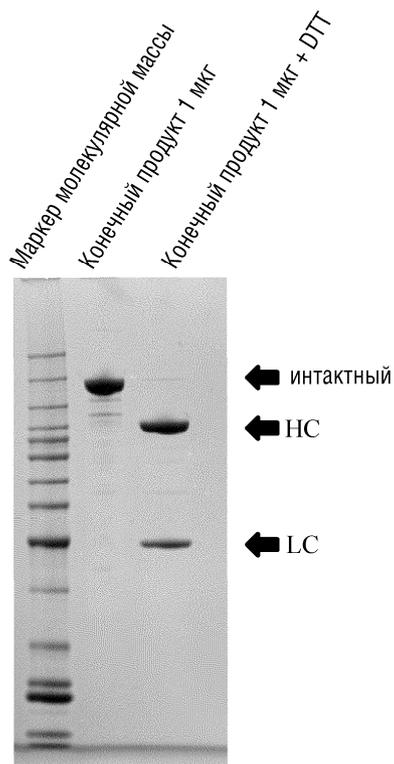
047022



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15

