

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202393215** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.03.01

(51) Int. Cl. *A61K 35/14* (2015.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.05.09

(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОТЕРИ СЛУХА**

(31) **63/188,450; 63/251,025; 63/277,549**

(32) **2021.05.13; 2021.09.30; 2021.11.09**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/028396**

(87) **WO 2022/240778 2022.11.17**

(71) Заявитель:
АКУОС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Саймонс Эммануэль Джон, Нг Роберт,
Ленц Дэниел Р., Чианг Хао (US)**

(74) Представитель:

**Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим кодирующую последовательность, функционально связанную с промотором, где кодирующую последовательность кодирует полипептид (например, терапевтический полипептид). Иллюстративные конструкции включают конструкции AAV. Настоящее изобретение также относится к способам применения раскрытых конструкций для лечения потери слуха и/или тугоухости.

A1

202393215

202393215

A1

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОТЕРИ СЛУХА

ОПИСАНИЕ

Ссылка на родственные заявки

[0001] Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке на выдачу патента США № 63/188450, поданной 13 мая 2021 г., предварительной заявке на выдачу патента США № 63/251025, поданной 30 сентября 2021 г., и предварительной заявке на выдачу патента США № 63/277549, поданной 9 ноября 2021 г., которые включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Ссылка на перечень последовательностей, поданный электронным путем

[0002] Содержание представленного в электронном виде перечня последовательностей в виде текстового файла ASCII (название: 4833_008CP03_Seqlisting_ST25.TXT, размер: 269 049 байт, дата создания: 9 мая 2022 г.), поданного вместе с настоящей заявкой, включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0003] Потеря слуха может быть кондуктивной (возникающей из слухового прохода или среднего уха), нейросенсорной (возникающей из внутреннего уха или слухового нерва) или смешанной. Большинство форм внесиндромной глухоты связаны с постоянной потерей слуха, вызванной повреждением структур внутреннего уха (нейросенсорная тугоухость), хотя некоторые формы могут включать изменения в среднем ухе (кондуктивная тугоухость). Подавляющее большинство случаев нейросенсорной тугоухости у человека вызвано аномалиями в волосковых клетках кортиева органа улитки (плохая функция волосковых клеток). Волосковые клетки могут быть аномальными при рождении или могут быть повреждены в течение жизни человека (например, в результате шумовой травмы или инфекции).

[0004] Нейросенсорная тугоухость (SNHL) является наиболее частым врожденным сенсорным нарушением, наиболее распространенной генетической причиной которого являются мутации в гене щелевидного соединения β 2 (GJB2), кодирующем белок коннексин 26 (Cx26).

Краткое раскрытие настоящего изобретения

[0005] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к промоторам, например, клеточно-специфичным промоторам, которые происходят из частей промоторов GDF6, PARM1, MMP15 или VIM, и способны управлять транскрипцией кодирующей последовательности (например, кодирующей полипептид коннексин 26 или его функциональный фрагмент) в опорной клетке внутреннего уха.

[0006] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, содержащему последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой промотор.

[0007] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, содержащему последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

[0008] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

[0009] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

[0010] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

[0011] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит

последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

[0012] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента.

[0013] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, как раскрыто в настоящем документе, и последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой кассету экспрессии.

[0014] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид конструкции представляет собой промотор и функционально связан с кодирующей последовательностью. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности в опорной клетке внутреннего уха.

[0015] Согласно некоторым аспектам полипептид конструкции представляет собой полипептид коннексин 26 или его функциональный фрагмент.

[0016] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей конструкцию, содержащую полинуклеотид. Согласно некоторым аспектам конструкция дополнительно содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид функционально связан с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид способствует экспрессии нуклеиновой кислоты в опорной клетке внутреннего уха.

[0017] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид, функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид кодирует терапевтический полипептид или репортерный полипептид. Согласно некоторым аспектам промотор селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха.

[0018] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально

связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0019] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к экспрессионной конструкции, содержащей кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с промотором, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99, где промотор способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности.

[0020] Согласно некоторым аспектам промотор экспрессионной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

[0021] Согласно некоторым аспектам промотор экспрессионной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

[0022] Согласно некоторым аспектам промотор экспрессионной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

[0023] Согласно некоторым аспектам промотор экспрессионной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

[0024] Согласно некоторым аспектам экспрессионная конструкция дополнительно содержит второй промотор, функционально связанный с кодирующей последовательностью, где второй промотор является гетерологичным или гомологичным

по отношению к кодирующей последовательности.

[0025] Согласно некоторым аспектам промотор экспрессионной конструкции способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности в опорной клетке внутреннего уха.

[0026] Согласно некоторым аспектам опорная клетка внутреннего уха выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0027] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид, конструкция или экспрессионная конструкция, как раскрыто в настоящем документе, дополнительно содержит минимальный промотор GJB2, который функционально связан с кодирующей последовательностью для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента.

[0028] Согласно некоторым аспектам конструкция или экспрессионная конструкция, как раскрыто в настоящем документе, содержит последовательность нуклеиновой кислоты GJB2, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

[0029] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к экспрессионной конструкции, содержащей кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где полинуклеотид экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента.

[0030] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%,

по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

[0031] Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

[0032] Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

[0033] Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

[0034] Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

[0035] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью, выбранной из одной или нескольких последовательностей согласно SEQ ID NO: 90, 40, 96 или 99.

[0036] Согласно некоторым аспектам опорная клетка внутреннего уха выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и

клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0037] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид, конструкция или экспрессионная конструкция согласно настоящему изобретению содержит минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0038] Согласно некоторым аспектам экспрессионная конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты GJB2, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

[0039] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции вирусного вектора, содержащей: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с промотором, который способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности. Согласно некоторым аспектам промотор вирусной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

[0040] Согласно некоторым аспектам промотор вирусной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

[0041] Согласно некоторым аспектам промотор вирусной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

[0042] Согласно некоторым аспектам промотор вирусной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

[0043] Согласно некоторым аспектам промотор вирусной конструкции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

[0044] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора дополнительно содержит 5' нетранслируемую область (UTR).

[0045] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора дополнительно содержит 3' нетранслируемую область (UTR).

[0046] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора содержит: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

[0047] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

[0048] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора содержит: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности.

[0049] Согласно некоторым аспектам конструкции вирусного вектора селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность

нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

[0050] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора содержит: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

[0051] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора содержит последовательность нуклеиновой кислоты GJB2, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

[0052] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора содержит минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0053] Согласно некоторым аспектам промотор способен экспрессировать кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха, выбранной из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0054] Согласно некоторым аспектам 5' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей

согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66.

[0055] Согласно некоторым аспектам 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69.

[0056] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора, как раскрыто в настоящем документе, дополнительно содержит полиА хвост. Согласно некоторым аспектам полиА хвост представляет собой поли(А) гормона роста крупного рогатого скота, мышинового β -глобина, мышинового α -глобина, человеческого коллагена, вируса полиомы, гена тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV TK), гена тяжелой цепи IgG, человеческого гормона роста или позднего и раннего SV40. Согласно некоторым аспектам полиА хвост представляет собой полиА гормона роста крупного рогатого скота.

[0057] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора, как раскрыто в настоящем документе, дополнительно содержит 5' и 3' инвертированный концевой повтор (ITR). Согласно некоторым аспектам 5' ITR и 3' ITR фланкируют промотор и кодирующую последовательность. Согласно некоторым аспектам 5' ITR и 3' ITR представляют собой AAV ITR, происходящие из серотипа, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и AAV Anc80 ITR. Согласно некоторым аспектам AAV ITR происходят из серотипа AAV2.

[0058] Согласно некоторым аспектам 5' AAV ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или SEQ ID NO: 52.

[0059] Согласно некоторым аспектам 3' AAV ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 53.

[0060] Согласно некоторым аспектам конструкция вирусного вектора как раскрыто в настоящем документе, содержит: а) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8, и 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9, и/или б) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, и 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0061] Согласно некоторым аспектам вирусный вектор содержит: (i) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или 52, (ii) 5'

UTR содержит нуклеиновую кислоту любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66, (iii) промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 10-16, 28, 40, 57, 90-99, (iv) 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69, и (v) 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или 53.

[0062] Согласно некоторым аспектам вирусный вектор содержит: (i) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или 52, (ii) 5' UTR содержит нуклеиновую кислоту любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66, (iii) селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 10-16, 28, 40, 57, 90-99, минимальный промотор GJB2 содержит последовательность согласно SEQ ID NO: 86, (v) 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69, и (vi) 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или 53.

[0063] Согласно некоторым аспектам конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора, как раскрыто в настоящем документе, содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 7, 17, 38, 45-51, 54, 61, 82-84, 87-88 и 100-107.

[0064] Согласно некоторым аспектам конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора селективно экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха.

[0065] Согласно некоторым аспектам конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора содержит нуклеотиды 12-4557 последовательности согласно SEQ ID NO: 7, нуклеотиды 12-4338 последовательности согласно SEQ ID NO: 17, нуклеотиды 12-3976 последовательности согласно SEQ ID NO: 38, нуклеотиды 12-4754 последовательности согласно SEQ ID NO: 54, нуклеотиды 12-4429 последовательности согласно SEQ ID NO: 61, нуклеотиды 12-4645 последовательности согласно SEQ ID NO: 100, нуклеотиды 12-4708 последовательности согласно SEQ ID NO: 101, нуклеотиды 12-4993 последовательности согласно SEQ ID NO: 102, нуклеотиды 12-4496 последовательности согласно SEQ ID NO: 103, нуклеотиды 12-4253 последовательности согласно SEQ ID NO: 104, нуклеотиды 12-4320 последовательности согласно SEQ ID NO: 105, нуклеотиды 12-4464 последовательности согласно SEQ ID NO: 106 или нуклеотиды 12-4328 последовательности согласно SEQ ID NO: 107.

[0066] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к вирусному вектору или частице AAV, содержащим полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора, как раскрыто в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам вирусный вектор выбран из группы, состоящей из вектора аденоассоциированного вируса (AAV), аденовируса или лентивируса. Согласно некоторым аспектам вирусный вектор представляет собой вектор AAV.

[0067] Согласно некоторым аспектам вирусный вектор или частица AAV содержит капсид AAV, где капсид AAV представляет собой или происходит из капсида серотипа AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh39, AAV-rh43 или AAV Anc80. Согласно некоторым аспектам вектор AAV или частица AAV содержит капсид AAV, который представляет собой капсид AAV Anc80.

[0068] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к композиции, содержащей полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию, конструкцию вирусного вектора или частицу AAV, как раскрыто в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композиция представляет собой фармацевтическую композицию, дополнительно содержащую фармацевтически приемлемый носитель. Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция представляет собой синтетический раствор перилимфа.

[0069] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к клетке *ex vivo*, содержащей полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию, конструкцию вирусного вектора, вирусный вектор или частицу AAV, как раскрыто в настоящем документе.

[0070] Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой опорную клетку внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорная клетка выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0071] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способу, предусматривающему трансдукцию клетки *ex vivo*: а. полинуклеотидом, конструкцией, экспрессионной конструкцией, конструкцией вирусного вектора, вирусным вектором или частицей AAV, как раскрыто в настоящем документе, и б. одной или несколькими хелперными плазмидами, коллективно содержащими ген AAV Rep, ген AAV Cap, ген AAV VA, ген AAV E2a и ген AAV E4.

[0072] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способу экспрессии полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха, предусматривающему введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo*, как раскрыто в настоящем документе.

[0073] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способу повышения экспрессии полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха, предусматривающему введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo*, как раскрыто в настоящем документе, субъекту.

[0074] Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха повышается относительно эндогенной экспрессии полипептида в опорной клетке внутреннего уха.

[0075] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способу лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития, предусматривающему введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo*, как раскрыто в настоящем документе, субъекту.

[0076] Согласно некоторым аспектам (i) полипептид коннексин 26 или его функциональный фрагмент преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха, (ii) полипептид коннексин 26 или его функциональный фрагмент селективно экспрессируется на более высоком уровне в опорных клетках внутреннего уха чем в волосковых клетках внутреннего уха, (iii) полипептид коннексин 26 или его функциональный фрагмент не экспрессируется на уровнях, достаточных для того, чтобы вызвать токсичность в волосковых клетках внутреннего уха, или (iv) или любая их комбинация.

[0077] Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO) и клеток OC90+ (OC90).

[0078] Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта.

[0079] Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта.

[0080] Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0081] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к применению полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного векторы, частицы AAV или клетки ex vivo, как раскрыто в настоящем документе, для лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития.

[0082] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к применению полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного векторы, частицы AAV или клетки ex vivo, как раскрыто в настоящем документе, для получения лекарственного средства для лечения потери слуха.

[0083] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусному вектору, частице AAV или клетке ex vivo, как раскрыто в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного средства.

[0084] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусному вектору, частице AAV или клетке ex vivo, как раскрыто в настоящем документе, для применения для лечения потери слуха.

[0085] Согласно некоторым аспектам конструкцию, вектор, частицу AAV, композицию или клетку ex vivo предварительно загружают в устройство для введения. Согласно некоторым аспектам устройство представляет собой микрокатетер. Согласно некоторым аспектам микрокатетер имеет такую форму, что он может входить в полость

среднего уха через наружный слуховой проход и контактировать концом микрокатетера с RWM. Согласно некоторым аспектам дистальный конец микрокатетера содержит по меньшей мере одну микроиглу диаметром от 10 до 1000 микрон. Согласно некоторым аспектам набор дополнительно содержит устройство. Согласно некоторым аспектам устройство представляет собой устройство, представленное на любом из фиг. 5-8. Согласно некоторым аспектам устройство содержит иглу, содержащую изогнутую часть и кончик под углом.

[0086] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к набору, содержащему полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию, конструкцию вирусного вектора, вирусный вектор, частицу AAV или клетку *ex vivo*, как раскрыто в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам набор дополнительно содержит устройство, как раскрыто в настоящем документе.

[0087] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57, 90-99. Согласно некоторым аспектам промотор является гетерологичным по отношению для полинуклеотида.

[0088] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, кодирующий полипептид, селективный промотор опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где полинуклеотид функционально связан с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха, и минимальный промотор GJB2, такой что полинуклеотид экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0089] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, кодирующий полипептид, селективный промотор опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где полинуклеотид функционально связан с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по

меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57, 90-99. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0090] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0091] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99. Согласно некоторым аспектам конструкция дополнительно содержит минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0092] Согласно некоторым аспектам промотор выбран из одного или нескольких из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора, VIM промотора, их производных или их фрагментов.

[0093] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой GJB2 промотор или минимальный промотор GJB2.

[0094] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит два или более промоторов. Согласно некоторым аспектам первый промотор выбран из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора, VIM промотора или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам второй промотор выбран из GJB2 промотора или минимального промотора GJB2.

[0095] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где полинуклеотид экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0096] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0097] Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха включают без ограничения внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hec), клетки Клаудиуса/внешние клетки бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клетки OC90+ (OC90), фибробласты и другие клетки боковой стенки.

[0098] Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57, 90-99.

[0099] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам микроРНК экспрессируется в волосковой клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам микроРНК представляет собой одну или несколько из miR-194, miR-140, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182, miR-183 или любой их комбинации.

[0100] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к конструкции, содержащей полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха.

[0101] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид кодирует терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26) или репортерный полипептид.

[0102] Согласно некоторым аспектам микроРНК экспрессируется в одной или нескольких из волосковых клеток внутреннего уха, клеток спирального ганглия, латеральных опорных клеток, клеток базилярной мембраны, средних опорных клеток, клеток спирального лимба или внутренних клеток бороздки.

[0103] Согласно некоторым аспектам микроРНК экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха.

[0104] Согласно некоторым аспектам микроРНК представляет собой одну или несколько из miR-194, miR-140, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183.

[0105] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' и 3' инвертированный концевой повтор (ITR). Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' нетранслируемую область (UTR). Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 3' нетранслируемую область (UTR).

[0106] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к векторам, вирусным частицам (например, AAV), клеткам *ex vivo* и композициям,

содержащим конструкции, как раскрыто в настоящем документе.

[0107] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, как раскрыто в настоящем документе.

[0108] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99. Согласно некоторым аспектам конструкция дополнительно содержит минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0109] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR, и (v) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0110] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где полинуклеотид экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду

[0111] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0112] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0113] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0114] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к частице аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0115] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки

внутреннего уха выбран из одного или нескольких из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора, VIM промотора, их производных или их фрагментов.

[0116] Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0117] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способам применения конструкций, векторов, вирусных частиц (например, AAV), клеток *ex vivo* и композиций, как раскрыто в настоящем документе, для экспрессии полипептида в клетке внутреннего уха (например, опорной клетке).

[0118] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способам применения конструкций, векторов, вирусных частиц (например, AAV), клеток *ex vivo* и композиций, как раскрыто в настоящем документе, для повышения экспрессии полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексин 26) в клетке внутреннего уха (например, опорной клетке). Согласно некоторым аспектам повышенная экспрессия приведена по отношению к соответствующей экспрессии эндогенного полипептида в клетке внутреннего уха (например, опорной клетке).

[0119] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способам применения конструкций, векторов, вирусных частиц (например, AAV), клеток *ex vivo* и композиций, как раскрыто в настоящем документе, для снижения экспрессии полипептида (например, терапевтического полипептида) в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха, (например, волосковые клетки внутреннего уха). Согласно некоторым аспектам сниженная экспрессия приведена по отношению к соответствующей экспрессии эндогенного полипептида в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха, (например, волосковых клетках внутреннего уха).

[0120] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способам применения конструкций, векторов, вирусных частиц (например, AAV), клеток *ex vivo* и композиций, как раскрыто в настоящем документе, для снижения токсичности, связанной с экспрессией полипептида (например, терапевтического полипептида) в клетке

внутреннего уха.

[0121] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к способам применения конструкций, векторов, вирусных частиц (например, AAV), клеток *ex vivo* и композиций, как раскрыто в настоящем документе, для лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития.

Краткое описание чертежей

[0122] На **фиг. 1A-1B** панель (1A) приведен упрощенный эндогенный геном AAV, на панели (1B) приведена упрощенная конструкция рекомбинантного AAV (rAAV), способная экспрессировать терапевтический полипептид (например, ген GJB2).

[0123] На **фиг. 2A-2H** представлены альтернативные иллюстративные rAAV конструкции, содержащие терапевтический полипептид. FIG. 2A приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор CAG, нуклеиновую кислоту, кодирующую терапевтический полипептид (ген hGJB2), полиА bGH и 3' ITR. На **фиг. 2B** приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор CAG, нуклеиновую кислоту, кодирующую терапевтический полипептид (ген hGJB2), 3' UTR, полиА bGH и 3' ITR. FIG. 2C приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор CAG, 5' UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую терапевтический полипептид (ген hGJB2), метку FLAG, 3' UTR, полиА bGH и 3' ITR. На **фиг. 2D** приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор smCBA, 5' UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую терапевтический полипептид (ген hGJB2), метку FLAG, 3' UTR, полиА bGH и 3' ITR. На **фиг. 2E** приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор, содержащий CMV промотор и hGJB2 промотор, 5' UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую ген hGJB2, метку FLAG, 3' UTR, полиА bGH и 3' ITR. На **фиг. 2F** приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор CAG, 5' UTR, hGJB2 промотор, метку FLAG, регуляторный сайт-мишень микроРНК, 3' UTR, полиА bGH и 3' ITR. FIG. 2G приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор, содержащий селективный промотор опорной клетки внутреннего уха, и hGJB2 минимальный промотор, нуклеиновую кислоту, кодирующую терапевтический полипептид (ген hGJB2), метку FLAG, 5' UTR, полиА bGH и 3' ITR. На **фиг. 2H** приведена иллюстративная конструкция rAAV, содержащая 5' ITR, промотор CAG, нуклеиновую кислоту, кодирующую терапевтический полипептид (ген hGJB2), метку FLAG, элемент T2A, нуклеиновую кислоту, кодирующую eGFP, полиА bGH и 3' ITR.

[0124] На **фиг. 3А-3Q** приведена *in vitro* или *ex vivo* экспрессия трансгена в клетках НЕК293FT, трансфицированных или трансдуцированных с помощью конструкции с сайтом нацеливания на микроРНК (miRTS) в присутствии или отсутствии микроРНК, распознающей этот сайт. На **фиг. 3А** приведена схема, которая представляет конструкцию, содержащую представляющий интерес ген и miRTS. На **фиг. 3В** приведена диаграмма Венна, представляющая выбор miRTS на основе экспрессии микроРНК, экспрессируемых в различных типах клеток внутреннего уха. На **фиг. 3С** приведен график, показывающий экспрессию GFP в клетках, трансфицированных плазмидой, экспрессирующей микроРНК (pITR.CAG.mScarlet.miRNA), и плазмидой, содержащей представляющий интерес ген и сайт-мишень микроРНК (pITR.CAG.GOI.miRTS). На **фиг. 3D** приведен график, показывающий экспрессию GFP, измеренную с помощью проточной цитометрии в клетках НЕК293FT, трансдуцированных вектором AAVAnc80, содержащим GFP и сайт-мишень микроРНК (AAVAnc0-CAG.GOI.miRTS), и трансфицированных плазмидой, экспрессирующей микроРНК, нацеленную на miRTS (pITR.CAG.mScarlet.miRNA). На **фиг. 3Е** приведен график, показывающий экспрессию представляющего интерес гена, измеренную с помощью RT-кПЦР в клетках, трансдуцированных AAVAnc80, экспрессирующей представляющий интерес ген с сайтом-мишенью микроРНК (AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS), после трансфекции любым из двух количеств плазмиды, экспрессирующей плазмиду, кодирующую микроРНК, нацеленную на miRTS (pITR.CAG.mScarlet.miRNA). На **фиг. 3F** приведен вестерн-блоттинг белка, демонстрирующий экспрессию представляющего интерес гена в клетках, трансдуцированных AAVAnc80, содержащей представляющий интерес ген и сайт-мишень микроРНК (AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS), после трансфекции любым из двух количеств плазмиды, экспрессирующей микроРНК, нацеленную на miRTS (pITR.CAG.mScarlet.miRNA). На **фиг. 3G** приведен график, показывающий количественное определение уровней белков, определенных с помощью вестерн-блоттинга на **фиг. 3F**. На **фиг. 3H** приведена тепловая карта экспрессии гена вследствие трансдукции представляющего интерес гена *in vitro* с помощью сайта-мишени микроРНК по сравнению с трансдукцией только представляющим интерес геном. На **фиг. 3I** приведен график рассеяния для большого массива данных, показывающий дифференциальную экспрессию генов между образцами. На **фиг. 3J** показана экспрессия представляющего интерес гена в необработанном эксплантате улитки (левая панель) и после трансдукции с помощью AAV, кодирующего представляющий интерес ген, меченный FLAG, без сайта-мишени микроРНК

(правая панель). Иммуноокрашивание метки FLAG показано зеленым цветом. Иммуноокрашивание MYO7A использовали для маркировки волосковых клеток красным цветом. Белые стрелки указывают на волосковые клетки, экспрессирующие коннексин 26-FLAG. На фиг. 3K показан эксплантат улитки, трансдуцированный AAVANc80-CAG-GOI.miRTS1, содержащей представляющий интерес ген, меченный FLAG, и сайт-мишень микроРНК для микроРНК, экспрессируемой в волосковых клетках. На фиг. 3L показан эксплантат улитки, трансдуцированный AAVANc80-CAG-GOI.miRTS1, содержащей представляющий интерес ген, меченный FLAG, и сайт-мишень микроРНК для микроРНК, экспрессируемой в волосковых клетках. На фиг. 3M показан эксплантат улитки, трансдуцированный AAVANc80-CAG-GOI.miRTS2, содержащей представляющий интерес ген, меченный FLAG, и сайт-мишень микроРНК, распознаваемый микроРНК, экспрессируемой в волосковых клетках. На фиг. 3N показан эксплантат улитки, трансдуцированный AAVANc80-CAG-GOI.miRTS3, содержащей представляющий интерес ген, меченный FLAG, и сайт-мишень микроРНК, распознаваемый микроРНК, экспрессируемой в волосковых клетках. На фиг. 3O показан эксплантат улитки, трансдуцированный AAVANc80-CAG-GOI.miRTS4, содержащей представляющий интерес ген, меченный FLAG, и нацеливание микроРНК для микроРНК, экспрессируемой в волосковых клетках. На фиг. 3P и 3Q приведена *in vitro* экспрессия белка GJB2 в клетках HEK293FT, трансфецированных конструкциями CAG.5UTR.hGJB2.FLAG.miRTS.3UTR (SEQ ID NO: 87), CAG.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (SEQ ID NO: 82) или CAG.5UTR.hGJB2.FLAG.GFP. CAG.5UTR.hGJB2.FLAG.miRTS.3UTR содержит сайт-мишень микроРНК (miRTS) для miR-182 и miR-183 в 3UTR, чтобы обеспечить экзогенный нокдаун hGJB2 в присутствии регуляторной miR-182 и/или miR-183. Для подтверждения регуляции микроРНК в конструкциях клетки HEK293FT трансфицировали плазмидами, содержащими hGJB2, и необязательно котрансфицировали (+) или нет (-) плазмидами, экспрессирующими miR-182 и miR-183. Через 72 часа после трансфекции клетки собирали для анализа белков и РНК. На фиг. 3P показаны иллюстративные уровни белка GJB2, проанализированные с использованием вестерн-блоттинга. На фиг. 3Q показаны иллюстративные уровни мРНК GJB2, проанализированные с помощью кПЦР.

[0125] На фиг. 4A-4C приведена экспрессия белка FLAG в эксплантатах улитки мыши, трансдуцированных в P2 иллюстративными частицами gAAVanc80, содержащими конструкции, управляемые последовательностями промотора/энхансера CAG, CMVe-GJB2p или smCBA, как отмечалось, эксплантаты фиксировали через 72 часа,

иммуноокрашивание для FLAG отмечено зеленым цветом, иммуноокрашивание на маркер волосковых клеток *Myo7a* отмечено красным, а ядерный маркер DAPI отмечен синим цветом. На панели (4A) приведены иллюстративные эксплантаты, трансдуцированные AAVAnc80-CAG.5UTR.hGJB2.3F.3UTR (SEQ ID NO: 82) при $5,8E9$ гв/эксплантат. На панели (4B) приведены иллюстративные эксплантаты, трансдуцированные с помощью AAVAnc80-smCBA.5UTR.hGJB2.3F.3UTR (SEQ ID NO: 83) при $1,4E10$ гв/эксплантат. На панели (4C) приведены иллюстративные эксплантаты, трансдуцированные AAVAnc80-CMVeGFAPp.5UTR.hGJB2.3F.3UTR (SEQ ID NO: 84) при $1,8E10$ гв/эксплантат.

[0126] На **фиг. 5** проиллюстрировано перспективное устройство для доставки жидкости во внутреннее ухо согласно аспектам настоящего изобретения.

[0127] На **фиг. 6** проиллюстрирован вид сбоку узла изогнутой иглы согласно аспектам настоящего изобретения.

[0128] На **фиг. 7** проиллюстрирован вид в перспективе устройства для доставки жидкости во внутреннее ухо согласно аспектам настоящего изобретения.

[0129] На **фиг. 8** проиллюстрирован вид в перспективе узла изогнутой иглы, соединенного с дистальным концом устройства, согласно аспектам настоящего изобретения.

[0130] На **фиг. 9A-9O** приведен *in vivo* экспрессия коннексина 26 у мышей дикого типа. Мышам дикого типа (p20) вводили частицы rAAVAnc80, содержащие CAG.hGJB2.FLAG.GFP (схематически представлена на фиг. 2H), в орган улитку (фиг. 9A). Экспрессию коннексина 26 в опорных клетках и внутренних волосковых клетках обнаруживали через 10 дней после введения. Иммуноокрашивание актиновых нитей и пучков стереоцилий волосковых клеток фаллоидином отмечено синим цветом, GFP отмечено зеленым, FLAG отмечено фиолетовым, а эндогенный коннексин 26 отмечен красным. SC – опорные клетки, ИНС – внутренние волосковые клетки, ОНС – внешние волосковые клетки. Молодым мышам вводили частицы rAAVAnc80, содержащие AAVAnc80-CMVeGFAPp.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (фиг. 9B), AAVAnc80-GDF6p.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (фиг. 9C и 9I) (схематически представлена на фиг. 2G), AAVAnc80-IGFBP2p.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (фиг. 9D) (схематически представлена на фиг. 2G), AAVAnc80-PARM1p.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (фиг. 9E и 9J) (схематически представлена на фиг. 2G), AAVAnc80-GFAPp.mGJB2p.hGJB2 (фиг. 9F), AAVAnc80-MMP15p.mGJB2p.hGJB2 (фиг. 9G и 9L), AAVAnc80-VIMp.mGJB2p-hGJB2 (фиг. 9H и 9K) в орган улитку. (VIM также обозначается как VIM1 на фиг. 9K). Экспрессия

коннексина 26 была обнаружена через две недели после введения. Иммуноокрашивание актиновых нитей и пучков стереоцилий волосковых клеток фаллоидином отмечено синим цветом, FLAG отмечено зеленым цветом, а эндогенный коннексин 26 или *Myo7a* отмечен красным. На фиг. 9M показана экспрессия коннексина 26 *in vivo* у мышей дикого типа, которым вводили частицы AAVAnc80, содержащие AAVAnc80.CMVe.GFAP.mGJB2p.hGJB2.FLAG. Эндогенный коннексин 26 показан белым, меченный Flag коннексин 26 показан зеленым, а волосковые клетки показаны при окрашивании фаллоидином синим цветом. На фиг. 9N-9O показана экспрессия коннексина 26 *in vivo* у мышей дикого типа, которым вводили частицы AAVAnc80, содержащие AAVAnc80.CMVe.GDF6.mGJB2p.hGJB2.FLAG или AAVAnc80.CMVe.PARM1.mGJB2p.hGJB2.FLAG. Меченный Flag коннексин 26 показан зеленым цветом, окрашивание фаллоидином показано синим, а волосковые клетки, маркирующие *Myo7a*, показаны красным.

[0131] На **фиг. 10A-10C** приведена экспрессия мРНК GJB2 *in vitro* и обнаружение белка коннексина 26 из конструкций, включающих селективные в отношении опорных клеток промоторы. На фиг. 10A показаны уровни белка коннексин 26-FLAG («GJB2-FLAG») в клетках HEK293FT, трансдуцированных иллюстративными частицами rAAVAnc80, содержащими конструкции, управляемые промоторами GJB6, IGFBP2, RPB7, PARM1 или GDF6 в комбинации с минимальным промотором GJB2. GAPDH показан как элемент управления загрузкой. На фиг. 10B показаны уровни мРНК GJB2 в клетках HEK293FT, трансдуцированных частицами rAAVAnc80, содержащими конструкции, управляемые GFAP и минимальным промотором GJB2, энхансером CMV/GFAP, энхансером GJB2/GJB2, энхансером CMV/GJB2 или промоторами CAG. На фиг. 10C показаны уровни белка коннексин 26-FLAG (GJB2-FLAG) в клетках HEK293FT, трансфицированных плазмидами, содержащими конструкции, управляемые промоторами FABP3, KLHL14, DBI2, TSPAN8, MMP15, SPARC или VIM в комбинации с минимальным промотором GJB2. FLAG использовали для различения уровней белка при эндогенной и трансдуцированной экспрессии коннексина 26. GAPDH показан как элемент управления загрузкой.

[0132] На **фиг. 11** показаны уровни мРНК GJB2 в эксплантатах улитки мыши, трансдуцированных частицами rAAVAnc80, содержащими конструкции, управляемые промотором CAG, энхансером CMV/промотором GFAP или GFAP и минимальным промотором GJB2. Уровни мРНК GJB2 определяли с помощью кПЦР.

Определения

[0133] Объем настоящего изобретения определяется прилагаемой формулой изобретения и не ограничивается некоторыми аспектами, описанными в настоящем документе. Специалистам в данной области техники при ознакомлении с настоящим изобретением очевидны различные модификации, которые могут быть эквивалентны таким описанным аспектам или иным образом находятся в пределах объема формулы изобретения. В общем, термины, используемые в настоящем документе, соответствуют их значениям, понятным в данной области техники, если явно не указано иное. Явные определения некоторых терминов представлены ниже, значения этих и других терминов в конкретных случаях в настоящем описании ясны специалистам в данной области техники из контекста.

[0134] Использование порядковых терминов, таких как «первый», «второй», «третий» и т.д., в формуле изобретения для модификации элемента формулы изобретения, само по себе не означает какого-либо приоритета, старшинства или порядка одного элемента формулы изобретения по отношению к другим или временной порядок, в котором выполняются действия способа, но используются просто как метки для различения одного элемента формулы изобретения, имеющего определенное наименование, от другого элемента, имеющего такое же наименование (но с использованием порядкового термина), чтобы различать элементы формулы изобретения.

[0135] Форму единственного числа, используемую в настоящем документе, следует понимать, как включающую множественное число, если явно не указано иное. В описании и формуле изобретения использование «или» между одним или несколькими членами группы означает, что один, несколько или все члены группы присутствуют, используются или иным образом имеют отношение к данному продукту или способу, если не указано иное или иное не очевидно из контекста. Согласно некоторым аспектам ровно один член группы присутствует, используется или иным образом имеет отношение к данному продукту или способу. Согласно некоторым аспектам более одного или все члены группы присутствуют, используются или иным образом имеют отношение к данному продукту или способу. Следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все варианты, комбинации и перестановки, в которых одно или несколько ограничений, элементов, пунктов, описательных терминов и т.д. из одного или нескольких перечисленных пунктов формулы изобретения вводятся в другой пункт формулы изобретения, зависимый от того же основного пункта формулы изобретения (или, если

релевантно, любого другого пункта формулы изобретения), если не указано иное или если для обычного специалиста в данной области техники не будет очевидно, что возникнет противоречие или несоответствие. Если элементы представлены в виде перечней (например, в группе Маркуша или в аналогичном формате), следует понимать, что каждая подгруппа элементов также раскрывается, и любой элемент (элементы) может быть удален из группы. Следует понимать, что, в общем, когда аспекты или аспекты упоминаются как «содержащие» конкретные элементы, признаки и т.д., определенные аспекты или аспекты «состоят» или «состоят по существу из» таких элементов, признаков и т.д. Для простоты эти аспекты не в каждом случае подробно изложены в настоящем документе. Следует также понимать, что любой вариант осуществления или аспект может быть явно исключен из формулы изобретения, независимо от того, указано ли конкретное исключение в описании.

[0136] Во всем описании, когда полинуклеотид или полипептид представлен последовательностью букв (например, А, С, G и Т, которые обозначают аденозин, цитидин, гуанозин и тимидин, соответственно, в случае полинуклеотида), такие полинуклеотиды или полипептиды представлены в порядке от 5' к 3' или от N-конца к С-концу, слева направо.

[0137] *Введение:* В контексте настоящего изобретения термин «введение» обычно относится к введению конструкции или композиции субъекту или в систему для достижения доставки агента субъекту или в систему. Согласно некоторым аспектам агент представляет собой композицию или включен в нее, согласно некоторым аспектам агент образуется в результате метаболизма композиции или одного или более ее компонентов. Специалистам в данной области техники известно множество путей, которые при соответствующих обстоятельствах могут быть использованы для введения субъекту, например, человеку. Например, согласно некоторым аспектам введение может быть системным или местным. Согласно некоторым аспектам системное введение может быть внутривенным. Согласно некоторым аспектам введение может быть местным. Местное введение может включать доставку в перилимфу улитки посредством, например, инъекции через мембрану круглого окна улитки или в барабанную лестницу, инъекцию в канал улитки через эндолимфу, перилимфу и/или эндолимфу после каналостомии. Согласно некоторым аспектам введение может включать только одну дозу. Согласно некоторым аспектам введение может включать применение фиксированного количества доз. Согласно некоторым аспектам введение может включать прерывистое (например, множество доз, разделенных во времени) и/или периодическое (например, отдельные дозы, разделенные общим периодом времени) введение доз. Согласно некоторым аспектам введение может

включать непрерывное введение дозы (например, перфузию) в течение по меньшей мере выбранного периода времени.

[0138] *Алель*: В контексте настоящего изобретения термин «аллель» относится к одному из двух или более существующих генетических вариантов конкретного полиморфного геномного локуса.

[0139] *Облегчение*: В контексте настоящего изобретения термин «облегчение» относится к предотвращению, уменьшению или облегчению состояния или улучшению состояния субъекта. Облегчение может включать, но не требует, полное выздоровление или полную профилактику заболевания, нарушения или состояния.

[0140] *Аминокислота*: В самом широком смысле в контексте настоящего изобретения термин «аминокислота» относится к любому соединению и/или веществу, которое может быть включено в полипептидную цепь, например, посредством образования одной или нескольких пептидных связей. Согласно некоторым аспектам аминокислота имеет общую структуру, например, $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{H})(\text{R})-\text{COOH}$. Согласно некоторым аспектам аминокислота представляет собой аминокислоту природного происхождения. Согласно некоторым аспектам аминокислота представляет собой неприродную аминокислоту; согласно некоторым аспектам аминокислота представляет собой D-аминокислоту, согласно некоторым аспектам аминокислота представляет собой L-аминокислоту. «Стандартная аминокислота» относится к любой из двадцати стандартных L-аминокислот, обычно обнаруживаемых во встречающихся в природе пептидах. «Нестандартная аминокислота» относится к любой аминокислоте, отличной от стандартных аминокислот, независимо от того, получена ли она синтетическим путем или получена из природного источника. Согласно некоторым аспектам аминокислота, включая карбокси- и/или аминоконцевую аминокислоту в полипептиде, может содержать структурную модификацию по сравнению с общей структурой, как показано выше. Например, согласно некоторым аспектам аминокислота может быть модифицирована путем метилирования, амидирования, ацетилирования, пэгилирования, гликозилирования, фосфорилирования и/или замены (например, аминогруппы, группы карбоновой кислоты, одного или нескольких протонов и/или гидроксильной группы) по сравнению с обычной структурой. Согласно некоторым аспектам такая модификация может, например, изменить период полувыведения из кровотока полипептида, содержащего модифицированную аминокислоту, по сравнению с полипептидом, содержащим в остальном идентичную немодифицированную аминокислоту. Согласно некоторым аспектам такая модификация существенно не изменяет

соответствующую активность полипептида, содержащего модифицированную аминокислоту, по сравнению с полипептидом, содержащим в остальном идентичную немодифицированную аминокислоту.

[0141] *Около или приблизительно:* В контексте настоящего изобретения термины «около» или «приблизительно» могут применяться к одному или нескольким представляющим интерес значениям, включая значение, которое аналогично заявленному эталонному значению. Согласно некоторым аспектам термин «приблизительно» или «около» относится к диапазону значений, которые находятся в пределах $\pm 10\%$ (более или менее) от заявленного эталонного значения, если не указано иное или иным образом не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда такое число может превышать 100% от возможного значения). Например, согласно некоторым аспектам термин «приблизительно» или «около» может охватывать диапазон значений, который находится в пределах 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее от эталонного значения.

[0142] *Связанный:* В контексте настоящего изобретения термин «связанный» описывает два события или объекта как «связанные» друг с другом, если присутствие, уровень и/или форма одного из них коррелируют с таковыми другого. Например, полагают, что конкретный объект (например, полипептид, генетическая сигнатура, метаболит, микроб и т.д.) связан с конкретным заболеванием, нарушением или состоянием, если его присутствие, уровень и/или форма коррелируют с частотой возникновения заболевания, нарушения или состояния и/или восприимчивостью к ним (например, среди релевантной популяции). Согласно некоторым аспектам два или более объекта физически «связаны» друг с другом, если они взаимодействуют, прямо или косвенно, так что они находятся и/или остаются в физической близости друг к другу. Согласно некоторым аспектам два или более объекта, которые физически связаны друг с другом, ковалентно связаны друг с другом; согласно некоторым аспектам два или более объекта, которые физически связаны друг с другом, не связаны друг с другом ковалентно, но связаны нековалентно, например, посредством водородных связей, взаимодействия Ван-дер-Ваальса, гидрофобных взаимодействий, магнетизма и их комбинаций.

[0143] *Биологически активный:* В контексте настоящего изобретения термин «биологически активный» относится к наблюдаемому биологическому эффекту или результату, достигаемому представляющим интерес агентом или объектом. Например, согласно некоторым аспектам взаимодействие специфического связывания представляет собой биологическую активность. Согласно некоторым аспектам модуляция (например,

индукция, усиление или ингибирование) биологического пути или события представляет собой биологическую активность. Согласно некоторым аспектам присутствие или степень биологической активности оценивают посредством обнаружения прямого или косвенного продукта, продуцируемого посредством представляющего интерес биологического пути или события.

[0144] *Клеточно-селективный промотор*: В контексте настоящего изобретения термин «клеточно-селективный промотор» относится к промотору, который преимущественно активен в определенных типах клеток (например, транскрипция конкретного гена происходит только в клетках, экспрессирующих белки, регулирующие и/или контролирующие транскрипцию, которые связываются с тканеспецифический промотор). Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой промотор, который преимущественно активен в одной или более опорных клетках внутреннего уха.

[0145] *Характерная часть*: В контексте настоящего изобретения термин «характерная часть» в самом широком смысле относится к части вещества, присутствие (или отсутствие) которой коррелирует с присутствием (или отсутствием) определенного признака, атрибута или активности вещества. Согласно некоторым аспектам характерная часть вещества представляет собой часть, которая обнаруживается в данном веществе и родственных веществах, которые имеют общий признак, атрибут или активность, но не в тех веществах, которые не имеют общий признак, атрибут или активность. Согласно некоторым аспектам характерная часть имеет по меньшей мере одну общую функциональную характеристику с интактным веществом. Например, согласно некоторым аспектам «характерная часть» белка или полипептида представляет собой часть, которая содержит непрерывный участок аминокислот или совокупность непрерывных участков аминокислот, которые вместе характерны для белка или полипептида. Согласно некоторым аспектам каждый такой непрерывный участок обычно содержит по меньшей мере 2, 5, 10, 15, 20, 50 или более аминокислот. В общем, характерная часть вещества (например, белка, антитела и т.д.) представляет собой часть, которая, помимо идентичности последовательности и/или структурной идентичности, указанных выше, имеет по меньшей мере одну общую функциональную характеристику с соответствующим интактным веществом. Согласно некоторым аспектам характерная часть может быть биологически активной.

[0146] *Характерная последовательность*: В контексте настоящего

изобретения термин «характерная последовательность» представляет собой последовательность, которая обнаруживается у всех членов семейства полипептидов или нуклеиновых кислот и, следовательно, может использоваться специалистами в данной области техники для определения членов семейства.

[0147] *Характерный элемент последовательности:* В контексте настоящего изобретения фраза «характерный элемент последовательности» относится к элементу последовательности, обнаруживаемому в полимере (например, в полипептиде или нуклеиновой кислоте), который представляет собой характерную часть этого полимера. Согласно некоторым аспектам присутствие характерного элемента последовательности коррелирует с присутствием или уровнем конкретной активности или свойства полимера. Согласно некоторым аспектам присутствие (или отсутствие) характерного элемента последовательности определяет конкретный полимер как члена (или не члена) конкретного семейства или группы таких полимеров. Характерный элемент последовательности обычно содержит по меньшей мере два мономера (например, аминокислоты или нуклеотиды). Согласно некоторым аспектам характерный элемент последовательности включает по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более мономеров (например, непрерывно связанных мономеров). Согласно некоторым аспектам характерный элемент последовательности включает по меньшей мере первый и второй участки смежных мономеров, разделенных одной или несколькими спейсерными областями, длина которых может варьироваться или не варьироваться в полимерах, которые имеют общий элемент последовательности.

[0148] *Комбинированная терапия:* В контексте настоящего изобретения термин «комбинированная терапия» относится к тем ситуациям, в которых субъект одновременно получает две или более схем лечения (например, два или более терапевтических агента). Согласно некоторым аспектам два или более агента можно вводить одновременно. Согласно некоторым аспектам два или более агента можно вводить последовательно. Согласно некоторым аспектам два или более агента можно вводить в перекрывающихся схемах введения доз.

[0149] *Сопоставимый:* В контексте настоящего изобретения термин «сопоставимый» относится к двум или более агентам, объектам, ситуациям, наборам условий, субъектам, популяциям и т.д., которые могут не быть идентичными друг другу, но достаточно схожи, чтобы обеспечить возможность сравнения между ними, так что специалисту в данной области техники очевидно, что выводы могут быть разумно сделаны

на основе наблюдаемых различий или сходств. Согласно некоторым аспектам сопоставимые наборы агентов, объектов, ситуаций, наборов условий, субъектов, популяций и т.д. характеризуются множеством по существу идентичных признаков и одним или небольшим количеством различных признаков. Специалистам в данной области техники в контексте понятно, какая степень идентичности требуется в любых данных обстоятельствах, чтобы два или более таких агентов, объектов, ситуаций, наборов условий, субъектов, популяций и т.д. считались сопоставимыми. Например, специалистам в данной области техники понятно, что наборы агентов, объектов, ситуаций, наборов условий, субъектов, популяций и т.д. сопоставимы друг с другом, когда они характеризуются достаточным количеством и типом по существу идентичных признаков, чтобы гарантировать разумный вывод о том, что различия в полученных результатах или явлениях, наблюдаемые при различных наборах обстоятельств, стимулов, агентов, объектов, ситуаций, наборов условий, субъектов, популяций и т. д., вызваны или указывают на различия в тех характеристиках, которые варьируются.

[0150] *Конструкция:* В контексте настоящего изобретения термин «конструкция» относится к композиции, включающей полинуклеотид, способный нести по меньшей мере один гетерологичный полинуклеотид. Согласно некоторым аспектам конструкция может представлять собой плазмиду, транспозон, космиду, искусственную хромосому (например, искусственную хромосому человека (HAC), искусственную хромосому дрожжей (YAC), бактериальную искусственную хромосому (BAC) или P1-производную искусственную хромосому (PAC)) или вирусный вектор, капсид, вирусную частицу и любые плазмиды Gateway®. Конструкция может, например, включать достаточное количество цис-действующих элементов для экспрессии, другие элементы для экспрессии могут быть предоставлены клеткой-хозяина примата или системой экспрессии *in vitro*. Конструкция может включать любой генетический элемент (например, плазмиду, транспозон, космиду, искусственную хромосому или вирусный вектор, капсид, вирусную частицу и т.д.), который способен реплицироваться при соединении с соответствующими элементами контроля. Таким образом, согласно некоторым аспектам «конструкция» может включать конструкцию клонирования и/или экспрессии и/или вирусную конструкцию (например, конструкцию аденоассоциированного вируса (AAV), аденовирусную конструкцию, лентивирусную конструкцию или ретровирусную конструкцию).

[0151] *Консервативный:* В контексте настоящего изобретения термин «консервативный» относится к случаям, описывающим консервативную замену

аминокислоты, включая замену аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком, имеющим группу R боковой цепи со схожими химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). В общем, консервативная аминокислотная замена существенно не изменяет представляющие интерес функциональные свойства белка, например, способность рецептора связываться с лигандом. Примеры групп аминокислот, которые имеют боковые цепи со схожими химическими свойствами, включают: алифатические боковые цепи, такие как глицин (Gly, G), аланин (Ala, A), валин (Val, V), лейцин (Leu, L) и изолейцин (Ile, I), алифатические гидроксильные боковые цепи, такие как серин (Ser, S) и треонин (Thr, T), амидсодержащие боковые цепи, такие как аспарагин (Asn, N) и глутамин (Gln, Q), ароматические боковые цепи, такие как фенилаланин (Phe, F), тирозин (Tyr, Y) и триптофан (Trp, W), основные боковые цепи, такие как лизин (Lys, K), аргинин (Arg, R) и гистидин (His, H), кислотные боковые цепи, такие как аспарагиновая кислота (Asp, D) и глутаминовая кислота (Glu, E), и серосодержащие боковые цепи, такие как цистеин (Cys, C) и метионин (Met, M). Группы консервативных аминокислотных замен включают, например, валин/лейцин/изолейцин (Val/Leu/Ile, V/L/I), фенилаланин/тирозин (Phe/Tyr, F/Y), лизин/аргинин (Lys/Arg, K/R), аланин/валин (Ala/Val, A/V), глутамат/аспартат (Glu/Asp, E/D) и аспарагин/глутамин (Asn/Gln, N/Q). Согласно некоторым аспектам консервативная аминокислотная замена может представлять собой замену любого нативного остатка в белке на аланин, как это используется, например, в аланин-сканирующем мутагенезе. Согласно некоторым аспектам проводится консервативная замена, которая имеет положительное значение в матрице логарифмического правдоподобия PAM250, раскрытой в Gonnet et al., 1992, Science 256:1443-1445, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым аспектам замена представляет собой умеренно консервативную замену, при этом замена имеет неотрицательное значение в матрице логарифмического правдоподобия PAM250. Специалисту в данной области понятно, что изменение (например, замена, добавление, делеция и т.д.) аминокислот, которые не являются консервативными в одном и том же белке разных видов, с меньшей вероятностью окажут влияние на функцию белка, и, следовательно, эти аминокислоты должны быть выбраны для мутации. Аминокислоты, консервативные в одном и том же белке разных видов, не следует изменять (например, удалять, добавлять, заменять и т.д.), поскольку эти мутации с большей вероятностью приведут к изменению функции белка. Типичные консервативные аминокислотные замены показаны в Таблице 1.

[0152] Таблица 1. Консервативные аминокислотные замены

Консервативные аминокислотные замены		
Для аминокислоты	Код	Замена на
Аланин	A	D-ala, Gly, Aib, β -Ala, Asp, L-Cys, D-Cys
Аргинин	R	D-Arg, Lys, D-Lys, гомо-Arg, D-гомо-Arg, Met, Ile, D-Met, D-Ile, Orn, D-Orn
Аспарагин	N	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Аспарагиновая кислота	D	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Цистеин	C	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr
Глютамин	Q	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
Глютаминовая кислота	E	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
Глицин	G	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, Aib, β -Ala, Asp
Изолейцин	I	D-Ile, Val, D-Val, AdaA, AdaG, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Лейцин	L	D-Leu, Val, D-Val, AdaA, AdaG, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Лизин	K	D-Lys, Arg, D-Arg, гомо-Arg, D-гомо-Arg, Met, D-Met, Ile, D-Ile, Orn, D-Orn
Метионин	M	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
Фенилаланин	F	D-Phe, Tyr, D-Thr, L-Dopa, His, D-His, Trp, D-Trp, Транс-3,4 или 5-фенилпролин, AdaA, AdaG, цис-3,4 или 5-фенилпролин, Вpa, D-Вpa
Пролин	P	D-Pro, L-1-тиоазолидин-4-карбоновая кислота, D-или-L-1-оксазолидин-4-карбоновая кислота (Kauer, патент США № 4511390)
Серин	S	D-Ser, Thr, D-Thr, allo-Thr, Met, D-Met, Met (O), D-Met (O), L-Cys, D-Cys
Треонин	T	D-Thr, Ser, D-Ser, allo-Thr, Met, D-Met, Met (O), D-Met (O), Val, D-Val
Тирозин	Y	D-Tyr, Phe, D-Phe, L-Dopa, His, D-His

Валин	V	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met, AdaA, AdaG
-------	---	---

[0153] *Контроль*: В контексте настоящего изобретения термин «контроль» относится к понятному в данной области техники значению термина «контроль», представляющего собой стандарт, с которым сравнивают результаты. Обычно средства контроля используют для повышения целостности экспериментов путем выделения переменных, чтобы сделать вывод о таких переменных. Согласно некоторым аспектам контроль представляет собой реакцию или анализ, который проводится одновременно с тестовой реакцией или анализом для получения препарата сравнения. Например, в одном эксперименте применяют «тест» (т.е. переменную тестируют). Во втором эксперименте, «контроле», тестируемую переменную не применяют. Согласно некоторым аспектам контроль представляет собой исторический контроль (например, теста или анализа, проведенного ранее, или количества или результата, которые известны ранее). Согласно некоторым аспектам контроль представляет собой или содержит распечатанную или иным образом сохраненную запись. Согласно некоторым аспектам контроль представляет собой положительный контроль. Согласно некоторым аспектам контроль представляет собой отрицательный контроль.

[0154] *Определение, измерение, оценка, оценивание, анализ и проведение анализа*: В контексте настоящего изобретения термины «определение», «измерение», «оценка», «оценивание», «анализ» и «проведение анализа» могут использоваться взаимозаменяемо для обозначения любой формы измерения и включают определение присутствия или отсутствия элемента. Эти термины включают как количественные, так и/или качественные определения. Анализ может быть относительным или абсолютным. Например, согласно некоторым аспектам «анализ на присутствие» может означать определение количества чего-либо, присутствующего и/или определение того, присутствует оно или нет.

[0155] *Эндогенный*: В контексте настоящего изобретения термин по отношению к веществам или способам относится к встречающимся в природе веществам или процессам, которые возникают внутри системы, такой как организм, ткань или клетка.

[0156] *Сконструированный*: В общем, в контексте настоящего изобретения термин «сконструированный» относится к аспекту манипулирования руками человека. Например, клетка или организм считаются «сконструированными», если ими

манипулировали таким образом, что была изменена их генетическая информация (например, был введен новый генетический материал, ранее не существовавший, например, путем трансформации, спаривания, соматической гибридизации, трансфекции, трансдукции или другого механизма, или ранее присутствующий генетический материал изменен или удален, например, путем замены или делеции мутации, посредством или протоколов спаривания). В качестве общепринятой практики, и как понятно специалистам в данной области техники, потомство сконструированного полинуклеотида или клетки обычно по-прежнему называют «сконструированным», даже если фактическая манипуляция была выполнена на предшествующем объекте.

[0157] *Вспомогательное вещество*: В контексте настоящего изобретения термин «вспомогательное вещество» относится к неактивному (например, нетерапевтическому) агенту, который может быть включен в фармацевтическую композицию, например, для обеспечения или содействия желаемой консистенции или стабилизирующего эффекта. Согласно некоторым аспектам подходящие фармацевтические вспомогательные вещества могут включать, например, крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, воду, этанол и тому подобное.

[0158] *Экспрессия*: В контексте настоящего изобретения термин «экспрессия» последовательности нуклеиновой кислоты относится к образованию любого генного продукта (например, транскрипта, например, мРНК, например, полипептида и т.д.) из последовательности нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам продукт гена может представлять собой транскрипт. Согласно некоторым аспектам генный продукт может представлять собой полипептид. Согласно некоторым аспектам экспрессия последовательности нуклеиновой кислоты включает одно или несколько из следующих действий: (1) получение матрицы РНК из последовательности ДНК (например, путем транскрипции), (2) обработка транскрипта РНК (например, путем сплайсинга, редактирования, формирования 5'-кэпа и/или образования 3'-конца), (3) трансляция РНК в полипептид или белок, и/или (4) посттрансляционная модификация полипептида или белка.

[0159] *Фланкированная*: В контексте настоящего изобретения термин «фланкированная» относится к положению относительно концов эталонного объекта. Более конкретно, применительно к эталонной последовательности (последовательностям) нуклеиновой кислоты термин «фланкированная» относится к присутствию

последовательностей, расположенных против хода транскрипции и по ходу транскрипции от эталонной последовательности (последовательностей) нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам фланкированная последовательность эталонной нуклеиновой кислоты имеет первую последовательность или серию нуклеотидных остатков, расположенных рядом с 5'-концом эталонной нуклеиновой кислоты, и вторую последовательность или серию нуклеотидных остатков, расположенных рядом с 3'-концом эталонной нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам расположенные против хода транскрипции и/или по ходу транскрипции фланкирующие последовательности непосредственно примыкают к эталонной последовательности нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам существуют промежуточные нуклеиновые кислоты между расположенными против хода транскрипции и/или по ходу транскрипции фланкирующими последовательностями и эталонной последовательностью нуклеиновой кислоты.

[0160] *Функциональный*: В контексте настоящего изобретения термин «функциональный» описывает вещество, существующее в форме, в которой оно проявляет свойство и /или активность, которыми оно характеризуется. Например, согласно некоторым аспектам «функциональная» биологическая молекула представляет собой биологическую молекулу в форме, в которой она проявляет свойство и/или активность, которыми она характеризуется. Согласно некоторым таким аспектам функциональная биологическая молекула характеризуется по сравнению с другой биологической молекулой, которая является нефункциональной, тем, что «нефункциональный» вариант не проявляет то же или эквивалентное свойство и/или активность, что и «функциональная» молекула. Биологическая молекула может иметь одну функцию, две функции (т.е. бифункциональная) или множество функций (т.е. многофункциональная).

[0161] *Ген*: В контексте настоящего изобретения термин «ген» относится к последовательности ДНК в хромосоме, которая кодирует продукт гена (например, продукт РНК, например, полипептидный продукт). Некоторые аспекты относятся к гену, который включает кодирующую последовательность (т.е. последовательность, которая кодирует конкретный продукт). Согласно некоторым аспектам ген включает некодирующую последовательность. Согласно некоторым конкретным аспектам ген может включать как кодирующую (например, экзонную), так и некодирующую (например, интронную) последовательность. Согласно некоторым аспектам ген может включать одну или несколько регуляторных последовательностей (например, промоторов, энхансеров и т.д.) и/или последовательностей интронов, которые, например, могут контролировать или

влиять на один или несколько аспектов экспрессии гена (например, специфическая для клеточного типа экспрессия, индуцибельная экспрессия и т.д.). В контексте настоящего изобретения термин «ген» обычно относится к части нуклеиновой кислоты, которая кодирует полипептид или его фрагмент, этот термин может необязательно охватывать регуляторные последовательности, как будет понятно из контекста специалистам в данной области техники. Это определение не предназначено для исключения применения термина «ген» к единицам экспрессии, не кодирующим белок, а, скорее, для пояснения того, что в большинстве случаев термин, используемый в настоящем документе, относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид. Согласно некоторым аспектам ген может кодировать полипептид, но этот полипептид может быть нефункциональным, например, вариант гена может кодировать полипептид, который не функционирует таким же образом или вообще не функционирует по сравнению с геном дикого типа. Согласно некоторым аспектам ген может кодировать транскрипт, который согласно некоторым аспектам может быть токсичным, превышающим пороговый уровень. Согласно некоторым аспектам ген может кодировать полипептид, но этот полипептид может быть нефункциональным и/или может быть токсичным, превышающим пороговый уровень.

[0162] *Потеря слуха:* В контексте настоящего изобретения термин «потеря слуха» может использоваться для обозначения частичной или полной неспособности живого организма слышать. Согласно некоторым аспектам потеря слуха может быть приобретенной. Согласно некоторым аспектам потеря слуха может быть наследственной. Согласно некоторым аспектам потеря слуха может быть генетической. Согласно некоторым аспектам потеря слуха может быть результатом заболевания или травмы (например, физической травмы, лечения одним или несколькими агентами, приводящими к потере слуха и т.д.). Согласно некоторым аспектам потеря слуха может быть обусловлена одной или несколькими известными генетическими причинами и/или синдромами. Согласно некоторым аспектам потеря слуха может иметь неизвестную этиологию. Согласно некоторым аспектам потерю слуха можно или нельзя уменьшить с помощью слуховых аппаратов или других способов лечения.

[0163] *Гетерологичный:* В контексте настоящего изобретения термин «гетерологичный» означает взаимосвязь между двумя или более последовательностями нуклеиновой кислоты или белка, которые происходят из разных источников. Согласно некоторым аспектам промотор, функционально связанный с нуклеиновой кислотой, кодирующей терапевтический белок, может происходить из гена, отличного от гена,

кодирующего терапевтический белок.

[0164] *Идентичность*: В контексте настоящего изобретения термин «идентичность» относится к общему родству между полимерными молекулами, например, между молекулами нуклеиновой кислоты (например, молекулами ДНК и/или молекулами РНК) и/или между молекулами полипептидов. Согласно некоторым аспектам полимерные молекулы считаются «по существу идентичными» друг другу, если их последовательности на по меньшей мере 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичны. Например, вычисление процента идентичности двух последовательностей нуклеиновой кислоты или полипептида может быть выполнено путем выравнивания двух последовательностей для целей оптимального сравнения (например, гэпы могут быть введены в одну или обе из первой и второй последовательностей для оптимального выравнивания и неидентичные последовательности можно не учитывать в целях сравнения). Согласно некоторым аспектам длина последовательности, выравниваемая для целей сравнения, составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, при меньшей мере 95% или по существу 100% от длины эталонной последовательности, затем сравнивают нуклеотиды в соответствующих положениях. Когда положение в первой последовательности занято тем же остатком (например, нуклеотидом или аминокислотой), что и соответствующее положение во второй последовательности, тогда две молекулы (т.е. первая и вторая) идентичны в этом положении. Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией количества идентичных положений, общих для двух сравниваемых последовательностей, с учетом количества пробелов и длины каждого пробела, которую необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями можно выполнить с использованием математического алгоритма. Например, процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями можно определить с использованием алгоритма Meyers and Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), который включен в программу ALIGN (версия 2.0). Согласно некоторым аспектам при сравнении последовательностей нуклеиновых кислот, проводимом с помощью программы ALIGN, применяют таблицы весов остатков PAM120, штраф за расширение гэпа, равный 12, и штраф за открытие гэпа, равный 4.

[0165] *Улучшить, увеличить, усилить, подавить или снизить*: В контексте настоящего изобретения термины «улучшить», «увеличить», «усилить», «подавить», «снизить» или их грамматические эквиваленты обозначают значения, которые относятся к исходному уровню или другие эталонные измерения. Согласно некоторым аспектам значение представляет собой статистически значимое отличие от исходного уровня или другого эталонного измерения. Согласно некоторым аспектам подходящее эталонное измерение может представлять собой или включать измерение в конкретной системе (например, у одного индивидуума) в других сопоставимых условиях при отсутствии (например, до и/или после) конкретного агента или лечения, или в присутствии соответствующего сопоставимого эталонного агента. Согласно некоторым аспектам подходящее эталонное измерение может представлять собой или включать измерение в сопоставимой системе, о которой известно или ожидается, что она будет реагировать определенным образом в присутствии соответствующего агента или лечения. Согласно некоторым аспектам подходящий эталон является отрицательным эталоном, согласно некоторым аспектам соответствующий эталон является положительным эталоном.

[0166] *Нокдаун*: В контексте настоящего изобретения термин «нокдаун» относится к снижению экспрессии одного или нескольких генных продуктов. Согласно некоторым аспектам ингибирующая нуклеиновая кислота обеспечивает нокдаун. Согласно некоторым аспектам система редактирования генома, описанная в настоящем документе, обеспечивает нокдаун.

[0167] *Нокаут*: В контексте настоящего изобретения термин «нокаут» относится к устранению экспрессии одного или нескольких генных продуктов. Согласно некоторым аспектам система редактирования генома, описанная в настоящем документе, обеспечивает нокаут.

[0001] *Минимальный промотор*: В контексте настоящего изобретения термин «минимальный промотор», если не указано иное, относится к промотору, который включает в себя меньше, чем полная последовательность природного промотора, который все еще способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности (например, гетерогенной или гомогенной кодирующей последовательности).

[0002] Согласно некоторым аспектам минимальный промотор может содержать один или несколько участков (включая все участки) полного встречающегося в природе промотора, который может управлять транскрипцией кодирующей последовательности.

[0003] Согласно некоторым аспектам минимальный промотор может содержать часть или части области (областей) полного встречающегося в природе промотора, который может управлять транскрипцией кодирующей последовательности.

[0004] *МикроРНК:* В контексте настоящего изобретения термин «микроРНК» или «миРНК» относится к классу биомолекул, участвующих в контроле экспрессии генов. Зрелая микроРНК обычно представляет собой некодирующую РНК из 18-25 нуклеотидов, которая регулирует экспрессию мРНК, включая последовательности, комплементарные микроРНК. Известно, что эти малые молекулы РНК контролируют экспрессию генов, регулируя стабильность и/или трансляцию мРНК. Например, микроРНК связываются с 3'-UTR целевой мРНК и подавляют трансляцию. МикроРНК также могут связываться с целевыми мРНК и опосредовать молчание генов посредством пути РНКи. МикроРНК также могут регулировать экспрессию генов, вызывая конденсацию хроматина.

[0005] Согласно некоторым аспектам микро РНК составляет от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов в длину (например, приблизительно от 10 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 24 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 22 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 20 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 18 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 16 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 14 нуклеотидов, от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 12 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 24 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 22 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 20 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 18 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 16 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 14 нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 24 нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 22 нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 20

нуклеотидов, от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 18 нуклеотидов, от приблизительно 18 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 18 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 18 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 18 нуклеотидов до приблизительно 24 нуклеотидов, от приблизительно 18 нуклеотидов до приблизительно 22 нуклеотидов, от приблизительно 18 нуклеотидов до приблизительно 20 нуклеотидов, от приблизительно 20 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 20 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 20 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 20 нуклеотидов до приблизительно 24 нуклеотидов, от приблизительно 20 нуклеотидов до приблизительно 22 нуклеотидов, от приблизительно 22 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 22 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 22 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 22 нуклеотидов до приблизительно 24 нуклеотидов, от приблизительно 24 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 24 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 24 нуклеотидов до приблизительно 26 нуклеотидов, от приблизительно 26 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 26 нуклеотидов до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 28 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов или 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов).

[0006] *Регуляторный сайт-мишень микроРНК*: В контексте настоящего изобретения термин «регуляторный целевой сайт микроРНК» или «miRTS» относится к последовательности, которая напрямую взаимодействует с микроРНК на транскрипте мРНК. Часто miRTS присутствует в 3'-нетранслируемой области (UTR) мРНК, но она также может присутствовать в кодирующей последовательности или в 5'-UTR. miRTS не обязательно являются идеальными комплементами микроРНК, обычно они имеют лишь несколько оснований комплементарности микроРНК и часто содержат одно или несколько несовпадений. miRTS может представлять собой любую последовательность, способную связываться с микроРНК в достаточной степени, чтобы трансляция гена, с которым функционально связана miRTS, подавлялась механизмом сайленсинга микроРНК, таким как RISC. Согласно некоторым аспектам включение miRTS в конструкцию нуклеиновой кислоты, содержащую полинуклеотид (например, терапевтический полинуклеотид), может привести к разрушению терапевтического полинуклеотида после транскрипции.

[0007] *Нуклеиновая кислота*: В контексте настоящего изобретения термин

«нуклеиновая кислота» в самом широком смысле относится к любому соединению и/или веществу, которое включено или может быть включено в олигонуклеотидную цепь. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота представляет собой соединение и/или вещество, которое включено или может быть включено в олигонуклеотидную цепь посредством сложной фосфодиэфирной связи. Как будет понятно из контекста, согласно некоторым аспектам «нуклеиновая кислота» относится к отдельному остатку нуклеиновой кислоты (например, нуклеотиду и/или нуклеозиду), согласно некоторым аспектам «нуклеиновая кислота» относится к олигонуклеотидной цепи, содержащей отдельные остатки нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам «нуклеиновая кислота» представляет собой или содержит РНК, согласно некоторым аспектам «нуклеиновая кислота» представляет собой или содержит ДНК. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота представляет собой, содержит или состоит из одного или нескольких остатков природной нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота представляет собой, содержит или состоит из одного или более аналогов нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам аналог нуклеиновой кислоты отличается от нуклеиновой кислоты тем, что он не использует сложный фосфодиэфирный остов. Альтернативно или дополнительно, согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота имеет одну или несколько фосфоротиоатных и/или 5'-N-фосфорамидитных связей, а не сложные фосфодиэфирные связи. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота представляет собой, содержит или состоит из одного или нескольких природных нуклеозидов (например, аденозин, тимидин, гуанозин, цитидин, уридин, дезоксиаденозин, дезокситимидин, дезоксигуанозин и дезоксицитидин). Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота представляет собой, содержит или состоит из одного или более аналогов нуклеозидов (например, 2-аминоаденозин, 2-тиотимидин, инозин, пирролопиримидин, 3-метиладенозин, 5-метилцитидин, C-5-пропинил-цитидин, C-5-пропинилуридин, 2-аминоаденозин, C5-бромурин, C5-фторуридин, C5-йодуридин, C5-пропинилуридин, C5-пропинилцитидин, C5-метилцитидин, 2-аминоаденозин, 7-дезааденозин, 7-дезагуанозин, 8-оксоаденозин, 8-оксогуанозин, O(6)-метилгуанин, 2-тиоцитидин, метилированные основания, интеркалированные основания и их комбинации). Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота содержит один или несколько модифицированных сахаров (например, 2'-фторрибоза, рибоза, 2'-дезоксирибоза, арабиноза и гексоза) по сравнению с таковыми в природных нуклеиновых кислотах. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота имеет нуклеотидную последовательность,

которая кодирует функциональный генный продукт, такой как РНК или белок. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота включает один или несколько интронов. Согласно некоторым аспектам нуклеиновые кислоты получают путем одного или нескольких способов выделения из природного источника, ферментативного синтеза путем полимеризации на основе комплементарной матрицы (*in vivo* или *in vitro*), репродукции в рекомбинантной клетке или системе и химического синтеза. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота составляет по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 или более остатков. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота частично или полностью является одноцепочечной, согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота частично или полностью является двухцепочечной. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота имеет нуклеотидную последовательность, содержащую по меньшей мере один элемент, который кодирует полипептид или комплементарен последовательности, которая кодирует полипептид. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота обладает ферментативной активностью.

[0008] *Функционально связанный*: В контексте настоящего изобретения термин относится к сопоставлению, при котором описанные компоненты находятся во взаимосвязи, позволяющей им функционировать по назначению. Элемент контроля, «функционально связанный» с функциональным элементом, связан таким образом, что экспрессия и/или активность функционального элемента достигается в условиях, совместимых с элементом контроля. Согласно некоторым аспектам «функционально связанные» элементы контроля являются смежными (например, ковалентно связаны) с представляющими интерес кодирующими элементами, согласно некоторым аспектам элементы контроля действуют в транс или иным образом от представляющего интерес функционального элемента. Согласно некоторым аспектам термин «функционально связанный» относится к функциональной связи между регуляторной последовательностью и последовательностью гетерологичной нуклеиновой кислоты, приводящей к экспрессии последней. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты помещена в функциональном взаимодействии со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, согласно некоторым

аспектам функциональная связь может включать транскрипционный контроль. Например, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если промотор влияет на транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности. Функционально связанные последовательности ДНК могут быть смежными друг с другом и, например, когда необходимо соединить две области, кодирующие белок, находиться в одной и той же рамке считывания.

[0009] *Фармацевтическая композиция*: В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, в которой активный агент составлен вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями. Согласно некоторым аспектам активный агент присутствует в количестве стандартной дозы, подходящем для введения согласно терапевтической схеме, которая показывает статистически значимую вероятность достижения заранее определенного терапевтического эффекта при введении соответствующей популяции. Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция может быть специально составлена для введения в твердой или жидкой форме, включая композиции, адаптированные, например, для введения, например, инъекционного состава, который представляет собой, например, водный или неводный раствор или суспензию или жидкие капли, предназначенные для введения в ушной канал. Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция может быть составлена для введения посредством инъекции либо в конкретный орган или компартамент, например, непосредственно в ухо, либо системного введения, например, внутривенно. Согласно некоторым аспектам состав может представлять собой или содержать пропитки (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, болюсы, порошки, гранулы, пасты, капсулы, порошки и т.д. Согласно некоторым аспектам активный агент может представлять собой или содержать выделенное, очищенное или чистое соединение.

[0010] *Фармацевтически приемлемый*: В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтически приемлемый», который, например, может использоваться в отношении носителя, разбавителя или вспомогательного вещества, используемого для составления фармацевтической композиции, как раскрыто в настоящем документе, означает, что носитель, разбавитель или вспомогательное вещество совместимы с другими ингредиентами композиции и не вредны для их реципиента.

[0011] *Фармацевтически приемлемый носитель*: В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает фармацевтически

приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество или растворитель, инкапсулирующий материал, участвующие в переноске или транспортировке у субъекта соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами состава и не причиняет вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, включают: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза, крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал, целлюлозу и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы, порошкообразный трагакант, солод, желатин, тальк, наполнители, такие как масло какао и воски для суппозиторий, масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло, гликоли, такие как пропиленгликоль, полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль, сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат, агар, буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия, альгиновая кислота, апирогенная вода, изотонический физиологический раствор, раствор Рингера, этиловый спирт, pH-буферные растворы, сложные полиэферы, поликарбонаты и/или полиангидриды, и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах.

[0012] *Полиаденилирование:* В контексте настоящего изобретения о модифицированного варианта с молекулой информационной РНК. В эукариотических организмах большинство молекул информационной РНК (мРНК) полиаденилированы на 3'-конце. Согласно некоторым аспектам 3'-поли(А)-хвост представляет собой длинную последовательность адениновых нуклеотидов (например, 50, 60, 70, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 или 5000), добавленную к пре-мРНК под действием фермента полиаденилатполимеразы. У высших эукариот хвост поли(А) может быть добавлен к транскриптам, которые содержат специфическую последовательность, сигнал полиаденилирования или «последовательность поли(А)». Поли(А)-хвост и связанные с ним белки помогают защитить мРНК от расщепления экзонуклеазами. Полиаденилирование может влиять на терминацию транскрипции, экспорт мРНК из ядра и трансляцию. Обычно полиаденилирование происходит в ядре сразу после транскрипции ДНК в РНК, но может происходить и позже в цитоплазме. После завершения транскрипции цепь мРНК может быть расщеплена под действием эндонуклеазного комплекса, связанного с РНК-

полимеразой. Сайт расщепления можно охарактеризовать наличием последовательности оснований AAUAAA рядом с сайтом расщепления. После расщепления мРНК к свободному 3'-концу сайта расщепления могут быть добавлены остатки аденозина. В настоящем документе «поли(А)-последовательность» представляет собой последовательность, которая запускает эндонуклеазное расщепление мРНК и добавление ряда аденозинов к 3'-концу расщепленной мРНК.

[0013] *Полипептид*: В контексте настоящего изобретения термин «полипептид» относится к любой полимерной цепи остатков (например, аминокислот), которые обычно связаны пептидными связями. Согласно некоторым аспектам полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая встречается в природе. Согласно некоторым аспектам полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая не встречается в природе. Согласно некоторым аспектам полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая сконструирована и/или создана человеком вручную. Согласно некоторым аспектам полипептид может содержать или состоять из природных аминокислот, неприродных аминокислот или того и другого. Согласно некоторым аспектам полипептид может включать одну или несколько подвешенных боковых групп или другие модификации, например, модификацию или присоединение к одной или нескольким боковым цепям аминокислот на N-конце полипептида, на C-конце полипептида или любую их комбинацию. Согласно некоторым аспектам такими подвешенными боковыми группами или модификациями могут быть ацетилирование, амидирование, липидирование, метилирование, пегилирование и т.д., включая их комбинации. Согласно некоторым аспектам полипептиды могут содержать L-аминокислоты, D-аминокислоты или те и другие и могут содержать любую из множества модификаций или аналогов аминокислот, известных в данной области техники. Согласно некоторым аспектам полезные модификации могут представлять собой или включать, например, терминальное ацетилирование, амидирование, метилирование и т.д. Согласно некоторым аспектам белок может содержать природные аминокислоты, неприродные аминокислоты, синтетические аминокислоты и их комбинации. Термин «пептид» обычно используется для обозначения полипептида, имеющего длину менее приблизительно 100 аминокислот, менее приблизительно 50 аминокислот, менее 20 аминокислот или менее 10 аминокислот. Согласно некоторым аспектам полипептид может представлять собой терапевтический полипептид (например, полипептид коннексина 26). Согласно некоторым аспектам полипептид может представлять собой полипептид опорных клеток (например, полипептид

коннексина 26). Согласно некоторым аспектам полипептид может представлять собой репортерный полипептид.

[0014] *Полинуклеотид*: В контексте настоящего изобретения термин «полинуклеотид» относится к любой полимерной цепи нуклеиновых кислот. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой или содержит РНК, согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой или содержит ДНК. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой, содержит или состоит из одного или нескольких остатков природной нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой, содержит или состоит из одного или более аналогов нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам аналог полинуклеотида отличается от нуклеиновой кислоты тем, что он не использует сложный фосфодиэфирный остов. Альтернативно или дополнительно, согласно некоторым аспектам полинуклеотид имеет одну или несколько фосфоротиоатных и/или 5'-N-фосфорамидитных связей, но не сложные фосфодиэфирные связи. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой, содержит или состоит из одного или нескольких природных нуклеозидов (например, аденозин, тимидин, гуанозин, цитидин, уридин, дезоксиаденозин, дезокситимидин, дезоксигуанозин и дезоксицитидин). Согласно некоторым аспектам полинуклеотид представляет собой, содержит или состоит из одного или более аналогов нуклеозидов (например, 2-аминоаденозин, 2-тиотимидин, инозин, пирролопиримидин, 3-метиладенозин, 5-метилцитидин, C-5-пропинилцитидин, C-5-пропинилуридин, 2-аминоаденозин, C5-бромурин, C5-фторуридин, C5-йодурин, C5-пропинилуридин, C5-пропинилцитидин, C5-метилцитидин, 2-аминоаденозин, 7-дезааденозин, 7-дезагуанозин, 8-оксоаденозин, 8-оксогуанозин, 0(6)-метилгуанин, 2-тиоцитидин, метилированные основания, интеркалированные основания и их комбинации). Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит один или несколько модифицированных сахаров (например, 2'-фторрибоза, рибоза, 2'-дезоксирибоза, арабиноза и гексоза) по сравнению с сахарами в природных нуклеиновых кислотах. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид имеет нуклеотидную последовательность, которая кодирует функциональный генный продукт, такой как РНК или белок. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид имеет включает один или несколько интронов. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид получают путем одного или нескольких способов выделения из природного источника, ферментативного синтеза путем полимеризации на основе комплементарной матрицы (*in vivo* или *in vitro*), репродукции в рекомбинантной клетке или

системе и химического синтеза. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид составляет по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 или более остатков в длину. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид частично или полностью является одноцепочечным, согласно некоторым аспектам полинуклеотид является частично или полностью двухцепочечным. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид имеет нуклеотидную последовательность, содержащую по меньшей мере один элемент, который кодирует полипептид или является компонентом последовательности, которая кодирует полипептид. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид обладает ферментативной активностью.

[0015] *Промотор:* В контексте настоящего изобретения термин «промотор» относится к последовательности нуклеиновой кислоты, которая контролирует транскрипцию одной или нескольких кодирующих последовательностей (например, гена или трансгена, например, кодирующего полипептид (например, терапевтического полипептида), расположенных против хода транскрипции по отношению к направлению транскрипции сайта инициации транскрипции кодирующей последовательности. Согласно некоторым аспектам промотор структурно идентифицируется по наличию сайта связывания для ДНК-зависимой РНК-полимеразы, сайтов инициации транскрипции или другой последовательности ДНК (например, сайт связывания фактора транскрипции, сайт связывания белка-репрессора и/или активатора или другие последовательности нуклеотидов, которые действуют прямо или косвенно, регулируя объем транскрипции с промотора). Согласно некоторым аспектам промотор может содержать встречающийся в природе последовательность промотора, ее функциональный фрагмент или мутант встречающийся в природе последовательности промотора или ее функционального фрагмента.

[0016] *Белок:* В контексте настоящего изобретения термин «белок» относится к полипептиду (т.е. цепочке, состоящей по меньшей мере из двух аминокислот, связанных друг с другом пептидными связями). Белки могут включать фрагменты, отличные от аминокислот (например, это могут быть гликопротеины, протеоглики и т.д.) и/или могут быть процессированы или модифицированы иным образом. Специалистам в данной области понятно, что «белок» может представлять собой полную полипептидную цепь, продуцируемую клеткой (с сигнальной последовательностью или без нее), или может

представлять собой ее характерную часть. Специалистам в данной области техники понятно, что белок иногда может включать более одной полипептидной цепи, например, связанные одной или несколькими дисульфидными связями или связанные другими способами.

[0017] *Рекомбинантный*: В контексте настоящего изобретения термин «рекомбинантный» предназначен для обозначения полипептидов, которые разработаны, сконструированы, приготовлены, экспрессированы, созданы, изготовлены и/или выделены рекомбинантными способами, например, полипептиды, экспрессированные с использованием трансфицированной рекомбинантной экспрессирующей конструкции в клетку-хозяин, полипептиды, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки полипептидов человека, полипептиды, выделенные из животного (например, мыши, кролика, овцы, рыбы и т.д.), которое является трансгенным или которым иным образом манипулировали для экспрессии гена или генов, или компонентов гена, которые кодируют и/или управляют экспрессией полипептида или одного или нескольких его компонентов, частей, элементов или доменов, и/или полипептидов, полученных, экспрессированных, созданных или выделенных любыми другими способами, которые включают сплайсинг или лигирование выбранных элементов последовательности нуклеиновой кислоты друг с другом, химический синтез выбранных элементов последовательности и/или создание иным образом нуклеиновой кислоты, которая кодирует и/или управляет экспрессией полипептида или одного или нескольких его компонентов, частей, элементов или доменов. Согласно некоторым аспектам один или несколько таких выбранных элементов последовательности встречаются в природе. Согласно некоторым аспектам один или несколько таких выбранных элементов последовательности созданы *in silico*. Согласно некоторым аспектам один или несколько таких выбранных элементов последовательности являются результатом мутагенеза (например, *in vivo* или *in vitro*) известного элемента последовательности, например, из природного или синтетического источника, как например, в зародышевой линии исходного представляющего интерес организма (например, человека, мыши и т.д.).

[0018] *Эталон*: В контексте настоящего изобретения термин «эталон» описывает стандарт или контроль, относительно которого проводят сравнение. Например, согласно некоторым аспектам представляющий интерес агент, животное, индивидуум, популяцию, образец, последовательность или значение сравнивают с эталонным или контрольным агентом, животным, индивидуумом, популяцией, образцом,

последовательностью или значением. Согласно некоторым аспектам эталонный или контрольный образец тестируют и/или определяют по существу одновременно с тестированием или определением, представляющим интерес. Согласно некоторым аспектам эталон или контроль представляют собой исторический эталон или контроль, необязательно воплощенные на материальном носителе. Обычно, как понятно специалистам в данной области, эталонный или контрольный образец определяют или характеризуют в условиях или обстоятельствах, сравнимых с теми, которые подвергаются оценке. Специалистам в данной области техники понятно, когда присутствует достаточное сходство, чтобы оправдать достоверность и/или сравнение с конкретным возможным эталоном или контролем. Согласно некоторым аспектам эталон представляет собой эталон отрицательного контроля, согласно некоторым аспектам эталон представляет собой эталон положительного контроля. Согласно некоторым аспектам эталоном может быть соединение, белок, полипептид или полинуклеотид, раскрытые в настоящем описании.

[0019] *Регуляторный элемент.* В контексте настоящего изобретения термин «регуляторный элемент» или «регуляторная последовательность» относится к некодирующим областям ДНК, которые тем или иным образом регулируют экспрессию одного или нескольких конкретных генов. Согласно некоторым аспектам такие гены расположены рядом или «по соседству» с данным регуляторным элементом. Согласно некоторым аспектам такие гены расположены достаточно далеко от данного регуляторного элемента. Согласно некоторым аспектам регуляторный элемент ухудшает или усиливает транскрипцию одного или нескольких генов. Согласно некоторым аспектам регуляторный элемент может располагаться в конфигурации цис по отношению к регулируемому гену. Согласно некоторым аспектам регуляторный элемент может располагаться в конфигурации транс по отношению к регулируемому гену. Например, согласно некоторым аспектам регуляторная последовательность относится к последовательности нуклеиновой кислоты, которая регулирует экспрессию генного продукта, функционально связанной с регуляторной последовательностью. Согласно некоторым таким аспектам эта последовательность может представлять собой энхансерную последовательность и другие регуляторные элементы, которые регулируют экспрессию генного продукта.

[0020] *Образец.* В контексте настоящего изобретения термин «образец» обычно относится к аликвоте материала, полученной или происходящей из представляющего интерес источника. Согласно некоторым аспектам представляющий интерес источник представляет собой биологический или экологический источник.

Согласно некоторым аспектам представляющий интерес источник может представлять собой или содержать клетку или организм, такой как микроб (например, вирус), растение или животное (например, человек). Согласно некоторым аспектам представляющий интерес источник представляет собой биологическую ткань или жидкость или содержит их. Согласно некоторым аспектам биологическая ткань или жидкость может представлять собой или содержать околоплодные воды, водянистую жидкость, асцит, желчь, костный мозг, кровь, грудное молоко, спинномозговую жидкость, серные пробки, хилус, химоз, эякулят, эндолимфу, экссудат, кал, желудочный сок, лимфу, слизь, перикардальную жидкость, перилимфу, перитонеальную жидкость, плевральную жидкость, гной, выделения из носа, слюна, кожное сало, сперму, сыворотку, смегму, мокроту, синовиальную жидкость, пот, слезы, мочу, вагинальные выделения, стекловидное тело, рвоту и/или их комбинации или компоненты. Согласно некоторым аспектам биологическая жидкость может представлять собой или содержать внутриклеточную жидкость, внеклеточную жидкость, внутрисосудистую жидкость (плазму крови), интерстициальную жидкость, лимфатическую жидкость и/или трансклеточную жидкость. Согласно некоторым аспектам биологическая жидкость может представлять собой растительный экссудат или содержать его. Согласно некоторым аспектам биологическая ткань или образец могут быть получены, например, путем аспирации, биопсии (например, тонкоигольной или биопсии ткани), мазка (например, мазка из полости рта, носа, кожи или влагилица), соскабливания, хирургического вмешательства, промывания или лаважа (например, бронхиоальвеолярный, протоковой, носовой, глазной, оральный, маточный, вагинальный или другое промывание или лаваж). Согласно некоторым аспектам биологический образец представляет собой или содержит клетки, полученные от индивидуума. Согласно некоторым аспектам образец представляет собой «первичный образец», полученный непосредственно из представляющего интерес источника любым подходящим способом. Согласно некоторым аспектам, как будет понятно из контекста, термин «образец» относится к препарату, который получают путем обработки (например, путем удаления одного или нескольких компонентов и/или путем добавления одного или нескольких агентов) первичного образца. Например, фильтрация с помощью полупроницаемой мембраны. Такой «обработанный образец» может содержать, например, нуклеиновые кислоты или белки, экстрагированные из образца или полученные путем воздействия на первичный образец одного или нескольких методов, таких как амплификация или обратная транскрипция нуклеиновой кислоты, выделение и/или очистка определенных компонентов, и т.д.

[0021] *Селективная экспрессия*: В контексте настоящего изобретения термин «селективная экспрессия» или «селективно экспрессирует» относится к экспрессии представляющего интерес гена или полипептида преимущественно в определенных специфических типах клеток (например, клетках внутреннего уха, например, опорных клетках внутреннего уха).

[0022] *Субъект*: В контексте настоящего изобретения термин «субъект» относится к организму, обычно млекопитающему (например, человеку, согласно некоторым аспектам включая пренатальные человеческие формы). Согласно некоторым аспектам субъект страдает соответствующим заболеванием, нарушением или состоянием. Согласно некоторым аспектам субъект восприимчив к заболеванию, нарушению или состоянию. Согласно некоторым аспектам у субъекта проявляются один или несколько симптомов или характеристик заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым аспектам у субъекта не проявляются какие-либо симптомы или характеристики заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым аспектам субъект представляет собой человека с одним или несколькими признаками, характеризующими восприимчивость или риск заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым аспектам субъектом является пациент. Согласно некоторым аспектам субъект представляет собой индивидуума, которому ставят и/или проводят диагностику и/или терапию.

[0023] *По существу*: В контексте настоящего изобретения термин «по существу» относится к качественному условию проявления полной или почти полной степени или меры представляющей интерес характеристики или свойства. Специалисту в данной области техники понятно, что биологические и химические явления редко, если вообще когда-либо, доходят до завершения и/или доходят до полноты или достигают или избегают абсолютного результата. Поэтому термин «по существу» используется в настоящем документе для обозначения потенциальной неполноты, присущей многим биологическим и химическим явлениям.

[0024] *Опорная клетка*: В контексте настоящего изобретения термин «опорная клетка», «опорная клетка», «опорная клетка внутреннего уха» или «опорная клетка внутреннего уха» относится к клеткам внутреннего уха, которые поддерживают структуру внутреннего уха и поддерживают среду чувствительного эпителия внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха включают без ограничения внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2

(DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hes), клетки Клаудиуса/внешние клетки бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клетки OC90+ (OC90), фибробласты и другие клетки боковой стенки.

[0025] *Полипептид опорной клетки*: В контексте настоящего изобретения термин «полипептид опорной клетки» или «полипептид поддерживающей клетки» относится к полипептиду, который эндогенно экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха.

[0026] *Репортерный полипептид*: В контексте настоящего изобретения термин «репортерный полипептид» относится к полипептиду, который придает организму или клетке детектируемый или селектируемый фенотип. Детектируемый фенотип может быть, например, колориметрическим, флуоресцентным или люминесцентным. Репортерные полипептиды могут включать ферменты, опосредующие реакции люминесценции (luxA, luxB, luxAB, luc, gus, pluc), ферменты, опосредующие колориметрические реакции (lacZ, HRP), флуоресцентные белки (GFP, eGFP, YFP, RFP, CFP, BFP, mCherry, около-инфракрасные флуоресцентные белки), аффинные пептиды (His-метка, 3X-FLAG) и селектируемые маркеры (amp^r, tet(M), CAT, erm). Репортерный полипептид можно использовать в качестве маркера успешного поглощения молекулы нуклеиновой кислоты или экзогенной последовательности (плазмиды) клеткой. Репортерный полипептид также можно использовать для указания присутствия целевого гена, целевой молекулы нуклеиновой кислоты, целевого полипептида, целевой внутриклеточной молекулы или клетки, как описано в настоящем документе.

[0027] *Терапевтический полипептид*: В контексте настоящего изобретения термин «терапевтический полипептид» относится к полипептиду, обладающему биологической активностью, который можно использовать для профилактики и/или лечения заболевания (например, потери слуха). Примеры терапевтических полипептидов включают полипептиды, способные предотвращать, ингибировать, стабилизировать или обращать вспять наследственные или ненаследственные генетические дефекты метаболизма, иммунной регуляции, гормональной регуляции, ферментативной или мембраносвязанной структурной функции. Например, терапевтический белок может заменить отсутствующий или дефектный клеточный белок или фермент или дополнить продукцию дефектного или слабо экспрессируемого клеточного белка или фермента.

[0028] *Лечение:* В контексте настоящего изобретения термин «лечение» (также «лечить» или «лечение») относится к любому назначению терапии, которая частично или полностью облегчает, улучшает, устраняет, обращает вспять, уменьшает, подавляет, задерживает начало, уменьшает тяжесть и/или снижает частоту возникновения одного или нескольких симптомов, особенностей и/или причин конкретного заболевания, нарушения и/или состояния. Согласно некоторым аспектам такое лечение можно проводить для субъекта, у которого нет признаков соответствующего заболевания, нарушения и/или состояния, и/или у субъекта, у которого проявляются только ранние признаки заболевания, нарушения и/или состояния. Альтернативно или дополнительно такое лечение можно проводить для субъекта, у которого проявляются один или несколько установленных признаков соответствующего заболевания, нарушения и/или состояния. Согласно некоторым аспектам лечение можно проводить для субъекта, у которого диагностировано соответствующее заболевание, нарушение и/или состояние. Согласно некоторым аспектам лечение можно проводить для субъекта, о котором известно, что он имеет один или несколько факторов восприимчивости, которые статистически коррелируют с повышенным риском развития данного заболевания, нарушения и/или состояния.

[0029] *Вариант:* В контексте настоящего изобретения термин «вариант» относится к варианту чего-либо, например, последовательности гена, который каким-то образом отличается от другого варианта. Для того, чтобы определить, является ли что-то вариантом, обычно выбирается эталонный вариант, и вариант является отличным относительно этого эталонного варианта. Согласно некоторым аспектам вариант может иметь тот же или другой (например, повышенный или пониженный) уровень активности или функциональности, чем последовательность дикого типа. Например, согласно некоторым аспектам вариант может иметь улучшенную функциональность по сравнению с последовательностью дикого типа, если он, например, оптимизирован по кодонам для устойчивости к деградации, например, с помощью ингибирующей нуклеиновой кислоты, например, миРНК. Такой вариант упоминается в настоящем документе как вариант усиления функции. Согласно некоторым аспектам вариант имеет снижение или устранение активности или функциональности или изменение активности, которое приводит к отрицательному результату (например, повышенная электрическая активность, приводящая к хронической деполяризации, которая приводит к гибели клеток). Такой вариант упоминается в настоящем документе как вариант с потерей функции. Согласно некоторым аспектам вариант с усилением функции представляет собой последовательность

с оптимизацией по кодонам, которая кодирует транскрипт или полипептид, который может иметь улучшенные свойства (например, меньшую восприимчивость к деградации, например, меньшую восприимчивость к деградации, опосредованной микроРНК), чем соответствующий ему вариант дикого типа (например, не кодон-оптимизированная). Согласно некоторым аспектам вариант с потерей функции имеет одно или несколько изменений, которые приводят к тому, что транскрипт или полипептид является каким-то образом дефектным (например, пониженная функция, отсутствие функции) по сравнению с транскриптом и/или полипептидом дикого типа.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

[0030] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к промоторам для селективной экспрессии трансгена, например, предпочтительной экспрессии в опорных клетках внутреннего уха.

[0031] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), и композициям, содержащим их, которые разработаны для селективной экспрессии трансгена, например, предпочтительной экспрессии в опорных клетках внутреннего уха и/или сниженной экспрессии в других клетках внутреннего уха, таких как волосковые клетки.

[0032] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение также относится к конструкциям, содержащим полинуклеотид, кодирующий полипептид, и композициям, содержащим их, которые разработаны для селективной экспрессии трансгена, например, предпочтительной экспрессии в опорных клетках внутреннего уха и/или сниженной экспрессии в других клетках внутреннего уха, таких как волосковые клетки.

[0033] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), и композициям, содержащим их, которые разработаны для экспрессии трансгена в опорных клетках внутреннего уха, например, предпочтительной экспрессии в опорных клетках внутреннего уха и/или сниженной экспрессии в других клетках внутреннего уха, таких как волосковые клетки. Согласно некоторым аспектам предпочтительная экспрессия и/или сниженная экспрессия приведены по отношению к соответствующей эндогенной экспрессии.

[0034] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к частицам AAV, содержащим промоторам или конструкциям, как раскрыто в настоящем документе.

[0035] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к способам применения промоторов, конструкций и частиц AAV, как раскрыто в настоящем документе, для лечения потери слуха.

Потеря слуха

[0036] В общем ухо можно описать как включающее: наружное ухо, среднее ухо, внутреннее ухо, слуховой (акустический) нерв и слуховую систему (которая обрабатывает звук при его прохождении от уха к мозгу). Помимо распознавания звука, уши также помогают сохранять баланс. Таким образом, согласно некоторым аспектам нарушения внутреннего уха могут вызывать потерю слуха, шум в ушах, головокружение, дисбаланс или их комбинацию.

[0037] Потеря слуха может быть результатом генетических факторов, факторов окружающей среды или комбинации генетических факторов и факторов окружающей среды. Около половины всех людей, страдающих тиннитусом – фантомными шумами в слуховой системе (звон, жужжание, щебетание, шум или биение) – также имеют чрезмерную чувствительность или пониженную толерантность к определенным звуковым частотам и диапазонам громкости, известным как повышенная острота слуха (также упоминается как гиперacusia). Специалистам в данной области известны различные внесиндромные и связанные с синдромом тугоухости (например, DFNB1 и DFNA3, синдром Барта-Памфри, гистриксоподобный ихтиоз с глухотой (HID), ладонно-подошвенная кератодермия с глухотой, синдром кератита-ихтиоза-глухоты (KID) и синдром Вохвинкеля, соответственно). Экологические причины нарушения или потери слуха могут включать, например, некоторые лекарственные средства, определенные инфекции до или после рождения и/или воздействие громкого шума в течение длительного периода. Согласно некоторым аспектам потеря слуха может быть результатом шума, ототоксических агентов, пресбиакюзиса, болезни, инфекции или рака, которые поражают определенные части уха. Согласно некоторым аспектам ишемическое повреждение может вызывать потерю слуха посредством патофизиологических механизмов. Согласно некоторым аспектам внутренние аномалии, такие как врожденные мутации генов, которые играют важную роль в анатомии или физиологии улитки, или генетические или

анатомические изменения в опорных и/или волосковых клетках, могут быть ответственны за потерю слуха или способствовать ее развитию.

[0038] Потеря слуха и/или глухота являются одними из наиболее распространенных сенсорных нарушений у человека и могут возникать по многим причинам. Согласно некоторым аспектам субъект может родиться с потерей слуха или без нее, в то время как другие могут терять слух медленно с течением времени. Приблизительно 36 миллионов взрослых американцев сообщают о некоторой степени потери слуха, причем каждый третий человек старше 60 лет и половина людей старше 85 лет испытывают потерю слуха. Приблизительно 1,5 из 1000 детей рождаются с глубокой потерей слуха, а еще два-три ребенка из 1000 рождаются с частичной потерей слуха (Smith et al., 2005, Lancet 365:879-890, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Более половины этих случаев основаны на генетике (Di Domenico, et al., 2011, J. Cell. Physiol. 226:2494-2499, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0039] В настоящее время способы лечения потери слуха предусматривают усиление слуха при легкой и тяжелой потере слуха и кохлеарную имплантацию при тяжелой и глубокой потере слуха (Kral and O'Donoghue, 2010, N. Engl. J. Med. 363:1438-1450, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Недавние исследования в этой области были сосредоточены на регенерации волосковых клеток улитки, применимой к наиболее распространенным формам потери слуха, включая пресбиакузис, шумовое повреждение, инфекцию и ототоксичность. Сохраняется потребность в эффективных способах лечения, таких как генная терапия, которые могут устранить и/или смягчить источник проблем со слухом (см., например, WO 2018/039375, WO 2019/165292 и PCT заявку US2019/060328, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0040] Согласно некоторым аспектам внесиндромная потеря слуха и/или глухота не связана с другими признаками и симптомами. Согласно некоторым аспектам связанная с синдромом потеря слуха и/или глухота возникает в сочетании с аномалиями в других частях тела. Приблизительно от 70 до 80 процентов случаев генетической потери слуха и/или глухоты являются внесиндромными, остальные случаи часто вызваны специфическими генетическими синдромами. Внесиндромная глухота и/или потеря слуха могут наследоваться по-разному и могут возникать в любом возрасте. Типы внесиндромной глухоты и/или потери слуха обычно называют в соответствии с характером их

наследования. Например, аутосомно-доминантные формы обозначаются DFNA, аутосомно-рецессивные формы — DFNB, а X-сцепленные формы — DFN. Каждый тип также пронумерован в том порядке, в котором он был впервые описан. Например, DFNA1 был первым описанным аутосомно-доминантным типом внесиндромной глухоты. От 75 до 80 процентов случаев генетически обусловленной потери слуха и/или глухоты наследуются по аутосомно-рецессивному типу, что означает, что обе копии гена в каждой клетке имеют мутации. Обычно каждый родитель человека с аутосомно-рецессивной тугоухостью и/или глухотой является носителем одной копии мутировавшего гена, но не подвержен этой форме тугоухости. Еще от 20 до 25 процентов случаев внесиндромной потери слуха и/или глухоты являются аутосомно-доминантными, что означает, что одной копии измененного гена в каждой клетке достаточно, чтобы привести к глухоте и/или потере слуха. Люди с аутосомно-доминантной глухотой и/или потерей слуха чаще всего наследуют измененную копию гена от глухого и/или потерявшего слух родителя. От 1 до 2 процентов случаев глухоты и/или потери слуха имеют X-сцепленный тип наследования, что означает, что мутировавший ген, ответственный за это состояние, расположен на X-хромосоме (одной из двух половых хромосом). У мужчин с X-сцепленной внесиндромной потерей слуха и/или глухотой, как правило, в более раннем возрасте развивается более тяжелая потеря слуха, чем у женщин, которые наследуют копию той же генной мутации. Характерной чертой X-сцепленного наследования является то, что отцы не могут передать X-сцепленные черты своим сыновьям. Митохондриальная внесиндромная глухота, возникающая в результате изменений в митохондриальной ДНК, в США встречается менее чем в одном проценте случаев. Измененная митохондриальная ДНК передается от матери всем ее сыновьям и дочерям. Этот тип глухоты не наследуется от отцов. Причины синдромальной и внесиндромной глухоты и/или потери слуха сложны. Исследователи выявили более 30 генов, изменение которых связано с синдромальной и/или внесиндромной глухотой и/или потерей слуха, однако, некоторые из этих генов полностью не охарактеризованы. Различные мутации в одном и том же гене могут быть связаны с разными типами глухоты и/или потери слуха, а некоторые гены связаны как с синдромальной, так и с внесиндромной глухотой и/или потерей слуха.

[0041] Согласно некоторым аспектам глухота и/или потеря слуха могут быть кондуктивными (истекающими из ушного прохода или среднего уха), нейросенсорными (истекающими из внутреннего уха или слухового нерва) или смешанными. Согласно некоторым аспектам внесиндромная глухота и/или потеря слуха связана с постоянной

потерей слуха, вызванной повреждением структур внутреннего уха (нейросенсорная глухота). Согласно некоторым аспектам нейросенсорная потеря слуха может быть связана с плохой функцией волосковых клеток. Согласно некоторым аспектам нейросенсорные нарушения слуха затрагивают восьмой черепной нерв (преддверно-улитковый нерв) или слуховые части мозга. В некоторых случаях поражаются только слуховые центры мозга. В такой ситуации может возникнуть корковая глухота, при которой звуки можно услышать с нормальным порогом, но качество воспринимаемого звука настолько плохое, что речь невозможно понять. Потеря слуха, возникающая в результате изменений в среднем ухе, называется кондуктивной тугоухостью. Некоторые формы внесиндромной глухоты и/или потери слуха включают изменения как во внутреннем, так и в среднем ухе, называемые смешанной потерей слуха. Потеря слуха и/или глухота, возникшая до того, как ребенок научится говорить, может быть классифицирована как прелингвальная или врожденная. Тугоухость и/или глухоту, возникающие после развития речи, можно отнести к постлингвальным. Большинство аутосомно-рецессивных локусов, связанных с синдромальной или внесиндромной потерей слуха, вызывают прелингвальную потерю слуха от тяжелой до глубокой степени.

[0042] Как известно специалистам в данной области техники, волосковые клетки являются сенсорными рецепторами как для слуховой, так и для вестибулярной систем ушей позвоночных. Волосковые клетки обнаруживают движение в окружающей среде, а у млекопитающих волосковые клетки расположены в улитке уха, в кортиевом органе. Известно, что уши млекопитающих имеют два типа волосковых клеток — внутренние волосковые клетки и наружные волосковые клетки. Наружные волосковые клетки могут усиливать звуковые частоты низкого уровня либо посредством механического движения пучков волосковых клеток, либо посредством электрического движения сомы волосковых клеток. Внутренние волосковые клетки преобразуют вибрации жидкости улитки в электрические сигналы, которые слуховой нерв передает в мозг. Согласно некоторым аспектам волосковые клетки могут быть аномальными при рождении или повреждены в течение жизни человека. Согласно некоторым аспектам внешние волосковые клетки могут быть способны к регенерации. Согласно некоторым аспектам внутренние волосковые клетки не способны к регенерации после болезни или травмы. Согласно некоторым аспектам нейросенсорная тугоухость обусловлена аномалиями волосковых клеток.

[0043] Как известно специалистам в данной области техники, волосковые

клетки не встречаются изолированно, и их функция поддерживается широким спектром клеток, которые в совокупности можно назвать опорными клетками. Опорные клетки могут выполнять множество функций и включают ряд типов клеток, включая без ограничения внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hes), клетки Клаудиуса/внешние клетки бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клетки OC90+ (OC90), фибробласты и другие клетки боковой стенки.

[0044] Согласно некоторым аспектам нейросенсорная тугоухость обусловлена аномалиями в опорных клетках. Согласно некоторым аспектам опорные клетки могут быть аномальными при рождении или повреждены в течение жизни человека. Согласно некоторым аспектам опорные клетки могут быть способны к регенерации. Согласно некоторым аспектам некоторые опорные клетки могут быть неспособны к регенерации.

Полипептиды

[0045] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотидам, кодирующим полипептид. Полинуклеотид может кодировать полипептид, который способен экспрессироваться в клетке (например, клетке внутреннего уха). Полинуклеотид может кодировать полноразмерный полипептид или его функциональный фрагмент.

[0046] Иллюстративные полипептиды, кодируемые полинуклеотидом, включают без ограничения трансмембранные белки, ферменты, факторы роста, цитокины, рецепторы, лиганды рецепторов, гормоны, мембранные белки, мембраносвязанные белки, антигены и антитела.

[0047] Иллюстративные полинуклеотиды, кодирующие полипептиды, включают без ограничения АТФазу, транспортирующую Ca^{2+} через плазматическую мембрану 2 (ATP2B2), никотиновую альфа-9-субъединицу холинергического рецептора (CHRNA9), кадгерин 23 (CDH23), белок 2 с суперспиралью, богатый глутаматом (CCER2), кларин 1 (CLRN1), кларин 2 (CLRN2), кохлин (COCH или DFNA9), дистротелин (DYTN), субстрат 8 пути рецептора эпидермального фактора роста (EPS8), EPS8-подобный 2

(EPS8L2), эспин (ESPN), эспин-подобный (ESPNL), белок щелевидного соединения бета 2 (GJB2), белок щелевидного соединения бета 6 (GJB6), белок щелевидного соединения бета 3 (GJB3), белок газдермин E (GSDME или DFNA5), инсулинома-ассоциированный 1 (INSM1), цинковый палец 2 семейства Ikaros (IKZF2), белок гомеобокс 3 LIM (LHX3), миозин 7A (MYO7A), миозин 11 (MYO3A), фактор роста цистинового узла норрина (NDP), протокадгерин 15 (PCDH15), протеин-тирозинфосфатаза, рецептор типа Q (PTPRQ), стереоцилин (STRC), компонент белковой сети гармонин (USH1C), ушерин (USH2A) и повтор спектрина, содержащий член семейства 4 ядерной оболочки (SYNE4).

[0048] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид может содержать ген GJB2. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид может содержать нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид коннексин 26. Согласно некоторым аспектам нуклеиновая кислота содержит кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26.

[0049] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид или нуклеиновая кислота содержит ген щелевидного соединения бета-2 (GJB2). Ген GJB2 высококонсервативен у млекопитающих и кодирует коннексин 26 (Cx26) (также называемый белком бета-2 щелевидного соединения (GJB2)). Коннексин 26 является членом семейства белков щелевидных соединений, которое также известно как семейство коннексинов. Белки щелевидных соединений представляют специализированные белки, участвующие во внутриклеточной коммуникации. Мутации в гене GJB2 человека связаны с потерей слуха и глухотой (Amorini et al., *Ann. Hum. Genet.* 79(5):341-349, 2015, Qing et al., *Genet. Test Mol. Biomarkers* 19(1):52-58, 2015).

[0050] Ген GJB2 человека расположен на хромосоме 13q12. Он содержит две изоформы транскрипции, начинающиеся с альтернативных сайтов начала транскрипции, обе из которых содержат два экзона и один интрон, охватывающие в общей сложности приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.) (приблизительно 5469 или 4675 нуклеотидов, соответственно) (идентификатор гена NCBI 2706, эталонная последовательность: NG_008358.1). Обе изоформы мРНК GJB2 человека содержат второй экзон, который полностью кодирует полноразмерный коннексин 26 во втором экзоне. Эта кодирующая последовательность состоит приблизительно из 681 нуклеотида и кодирует коннексин 26 длиной 226 аминокислот.

[0051] Мономер коннексина 26 включает четыре трансмембранные спирали, связанные двумя внеклеточными петлями и одной более короткой внутриклеточной петлей,

с N- и C-концами на цитозольной стороне плазматической мембраны. Щелевидные соединения между клетками могут быть образованы гомомерным и/или гетеромерным способом. Было показано, что коннексин 26 образует функциональные гомомерные каналы, а также функциональные гетеромерные каналы, по меньшей мере, с коннексином 30, коннексином 32, коннексином 46 и коннексином 50. Согласно некоторым аспектам нейросенсорная потеря слуха, связанная с геном GJB2 (например, внесиндромная или синдромальная), может быть связана со сложными гетерозиготными мутациями в GJB2 и альтернативном гене, кодирующем белок коннексин. Щелевидные соединения, созданные коннексином 26, транспортируют ионы калия и некоторые другие малые молекулы через клетки. Коннексин 26 помогает поддерживать правильный уровень внутриклеточных ионов калия и необходим для созревания определенных клеток органа улитки.

[0052] Ген GJB2 человека экспрессируется во многих тканях, но известно, что он участвует в важных функциях клеточного гомеостаза в эпидермисе и внутреннем ухе. Во внутреннем ухе коннексин 26 синтезируется всеми опорными клетками кортиевого органа, включая внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hes), клетки Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клетки OC90+ (OC90), клетки корня, фиброциты, фибробласты, базальные и промежуточные клетки полосок сосудистой стенки и другие клетки боковой стенки. Кроме того, известно, что коннексин 26 присутствует в мезенхимальных клетках боковой стенки и нейронах 1 типа в спиральном ганглии.

[0053] Ген GJB2 человека имеет определенный базальный/минимальный промотор длиной 128 пар оснований непосредственно перед каноническим первым экзоном в наиболее распространенной изоформе. Эта последовательность включает ТАТА-боксы и два GC-боксы, которые, как известно, связаны Sp1 и Sp3 TF.

[0054] Существует более 200 определенных мутаций GJB2, которые демонстрируют определенный уровень патогенности, а различные мутации в гене GJB2 связаны с потерей слуха (например, внесиндромная нейросенсорная тугоухость или синдромальная нейросенсорная тугоухость). Например, аллель с.35delG был обнаружен у 65,5% пациентов из Восточной Сицилии (Amorini et al., *Ann. Hum. Genet.* 79(5):341-349,

2015). Дополнительные иллюстративные мутации в гене GJB2, обнаруживаемые у субъектов с внесиндромной нейросенсорной тугоухостью или синдромальной нейросенсорной тугоухостью и способы секвенирования нуклеиновой кислоты, кодирующей GJB2, описаны, например, в Snoeckx et al., *Am. J. Hum. Genet* 77: 945-957, 2005, Welch et al., *Am. J. Med. Genet A* 143: 1567- 1573, 2007, Zelante et al., *Hum. Mol. Genet.* 6:1605-1609, 1997, и Tsukada et al., *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology.* 2015, Vol. 124(5S) 61S-76S, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Способы обнаружения мутаций в гене хорошо известны в данной области техники. Неограничивающие примеры таких способов включают: полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ОТ-ПЦР), ПЦР, секвенирование по Сэнгеру, секвенирование следующего поколения, Саузерн-блоттинг и Нозерн-блоттинг. Множественные болезненные состояния, связанные с нейросенсорной тугоухостью как с внесиндромными, так и с синдромальными проявлениями, связаны со специфическими мутациями человеческого гена GJB2 (см. Nickel & Forge, *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008 Oct, 16(5):452-7, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Мутации гена GJB2 человека, которые приводят к синдромальной или внесиндромной потере слуха, варьируются от крупных делеций, которые полностью удаляют регуляторные области гена GJB2 или GJB2, до сотен мелкомасштабных изменений, включая нонсенс, миссенс, делеции-вставки (приводящие к фазовому сдвигу) и точечные мутации сплайсинга.

[0055] Согласно некоторым аспектам мутации гена GJB2, такие как Gly59Ser и Asn52Lys, связаны с синдромом Барта-Памфри. синдром, характеризующийся проявлениями утолщения кожи, бородавчатых разрастаний и, как правило, врожденной нейросенсорной тугоухости от умеренной до глубокой. Согласно другим аспектам мутации гена GJB2, такие как Asp50Asn, связаны с гистриксоподобным ихтиозом с глухотой и синдромом кератита-ихтиоза-глухоты. Эти синдромы связаны с сухой шелушащейся кожей, как правило, с врожденной глубокой нейросенсорной тугоухостью, а при синдроме кератита-ихтиоза-глухоты связаны с дополнительным воспалением роговицы.

[0056] Согласно некоторым аспектам миссенс-мутации гена GJB2 связаны с синдромом ладонно-подошвенной кератодермии с глухотой. Синдром, связанный с толстой кожей на ладонях рук и подошвах ног, а также нейросенсорной тугоухостью от легкой до глубокой степени, которая начинается в раннем детстве и со временем ухудшается, пораженные индивидуумы могут испытывать особые проблемы со слухом при высоких

тонах. Хотя согласно другим аспектам миссенс-мутации гена GJB2 связаны с синдромом Вохвинкеля. Синдром, связанный с кожными аномалиями (например, толстыми полосами фиброзной ткани вокруг пальцев рук и ног, которые могут нарушать кровообращение в пальцах и приводить к спонтанной ампутации) и нейросенсорной тугоухостью.

[0057] Согласно некоторым аспектам мутации гена GJB2 связаны с внесиндромной тугоухостью, которая может наследоваться либо по доминантному (например, DFNA3), либо по рецессивному типу (DFNB1). Согласно некоторым аспектам мутации гена GJB2 с потерей функции связаны с внесиндромной DFNB1, который наследуется по аутосомно-рецессивному типу и проявляется как потеря слуха от легкой до глубокой степени, которая обычно является прелингвальной и не становится более тяжелой с течением времени. По оценкам, DFNB1 присутствует приблизительно у 14 из каждых 100 000 живорождений в США и ЕС-5. Было высказано предположение, что за ранним, но не всегда врожденным, нарушением слуха DFNB1 может последовать быстрое прогрессирование потери слуха. В целом варианты лечения для пациентов с DFNB1 включают обучение, слуховые аппараты и кохлеарные имплантаты. Пациенты обычно не имеют дополнительных симптомов и живут нормальной жизнью. Подсчитано, что DFNB1 является причиной приблизительно 50% врожденной аутосомно-рецессивной внесиндромной тугоухости от тяжелой до глубокой степени во многих странах первого мира (например, в США, Франции, Великобритании и Австралии).

[0058] Согласно некоторым аспектам нейросенсорная тугоухость вследствие мутаций гена GJB2 наследуется по аутосомно-доминантному типу как внесиндромная DFNA3. Эти мутации обычно представляют собой доминантные негативные миссенс-мутации, которые предотвращают образование необходимых функциональных щелевидных соединений. Это болезненное состояние проявляется потерей слуха, которая может быть как прелингвальной, так и постлингвальной, от легкой до глубокой, которая со временем обычно становится более тяжелой.

[0059] Помимо прочего, настоящее изобретение относится к полинуклеотидам, например, полинуклеотидам, содержащим ген GJB2 или его характерную часть, а также композициям, включающим такие полинуклеотиды, и способам применения таких полинуклеотидов и/или композиций.

[0060] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид, содержащий ген GJB2 или его характерную часть, может представлять собой ДНК или РНК. Согласно некоторым аспектам ДНК может представлять собой геномную ДНК или кДНК. Согласно некоторым

аспектам РНК может представлять собой мРНК. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит экзоны и/или интроны гена GJB2.

[0061] Согласно некоторым аспектам генный продукт экспрессируется из полинуклеотида, содержащего ген GJB2 или его характерную часть. Согласно некоторым аспектам экспрессия такого полинуклеотида может использовать один или несколько элементов контроля (например, промоторы, энхансеры, сайты сплайсинга, сайты полиаденилирования, сайты инициации трансляции и т.д.). Таким образом, согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению может включать один или несколько элементов контроля.

[0062] Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой ген GJB2 млекопитающего. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой мышинный ген GJB2. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой ген GJB2 примата. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой ген GJB2 человека. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 является кодон-оптимизированным. Иллюстративная последовательность кДНК, кодирующей человеческий GJB2, представляет собой или включает последовательность согласно SEQ ID NO: 117 или SEQ ID NO: 118. Иллюстративная сплайсированная последовательность кДНК, кодирующей человеческий GJB, с нетранслируемыми областями представляет собой или включает последовательность согласно SEQ ID NO: 119. Иллюстративная сплайсированная последовательность кДНК, кодирующей человеческий GJB, с альтернативным сайтом начала транскрипции и нетранслируемыми областями представляет собой или включает последовательность согласно SEQ ID NO: 120. Иллюстративная последовательность геномной ДНК человеческого GJB2 может быть обнаружена в SEQ ID NO: 121. Иллюстративные кодон-оптимизированные последовательности ДНК GJB2 могут быть обнаружены в SEQ ID NO: 123-126.

Иллюстративная последовательность кДНК человеческого GJB2 (SEQ ID NO: 117)

ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCA
 CCAGCATTTGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGT
 TGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCC
 TGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCACATCC
 GGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGC

ACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAA
 GAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCT
 CCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCT
 TCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGT
 GCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGA
 AGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGT
 CACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGT
 T

Иллюстративная последовательность кДНК человеческого GJB2 (SEQ ID NO: 118)

ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCA
 CCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGT
 TGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCC
 TGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCC
 GGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGC
 ACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAA
 GAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCT
 CCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCT
 TCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGT
 GCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGA
 AGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGT
 CACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGT
 TTAA

Иллюстративная сплайсированная кДНК изоформы 1 человеческого GJB2, включая последовательность нетранслируемых областей (SEQ ID NO: 119)

GTTGCGGCCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGG
 CGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCA
 ACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCCGACGCAGAGCAAACCG
 CCCAGAGTAGAAGATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACA
 AACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTAT
 GATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCT

GCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCT
CCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAG
TGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGG
GAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCAT
CGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGA
AGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCT
GGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCC
CACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCT
GCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAA
AAAGCCAGTTTAACGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAG
GGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACA
AAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTC
CAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTA
TGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGG
GGTTATTGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTT
TCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTG
GGTGTCTCCTGGGGTCTTTTTTGCCAACCTTCCCCACGTAAAGGTGAACATTGGTT
CTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTA
AACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGT
AAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAAT
ATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTA
TGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCA
CCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGG
CTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAAT
ACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCT
CCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCG
CTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGG
GAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCT
GTTGATTAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCT
CCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGG
TTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATG
CTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTT
CCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCTTTAA

TGATATGCTTGTAACSTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTA
AATATAATCTCTATAATAA

**Иллюстративная сплайсированная кДНК изоформы X1 человеческого GJB2,
включая последовательность нетранслируемых областей (SEQ ID NO: 120)**

TTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCCTC
AGGACGGTTCCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGA
ACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGGCCATGCACCTGG
GACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGATGGATTGGGGCACG
CTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTG
GCTCACCGTCTCTTCATTTTTTCGATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTG
TGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAA
CGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCT
GATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACA
TGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATC
GAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACAC
AAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTC
ATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCC
AACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTT
ATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGC
TAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTTAACGCATTGCCAGTTGT
TAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAA
GGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTG
AAACCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCT
AAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTCACTTAAGTT
AGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGGTACTTTCATATTT
TAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAG
GTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAAC
TTTCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTAAATCTC
TAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAA
ACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTATGTAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTT
CCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAATGGTATGTCATTTCGCTACTAT
GATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGG

CTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGT
 GAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAA
 ATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTAC
 CTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCA
 TCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCAT
 TTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTGCTTAAAAACA
 GATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTC
 AAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAAT
 AACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGG
 AAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTC
 CACATATTTAGTGAGGGTAAGTATTTTCCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGC
 ATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGT
 AATGTATCAAATACATTTAAAACATTTAAAATATAATCTCTATAATAA

**Иллюстративная последовательность геномной ДНК человеческого GJB2 (SEQ
 ID NO: 121)**

GTTGCGGCCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGG
 CGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCA
 ACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCTCCCGACGCAGGTGAGCCCG
 CCGGCCCCGGACTGCCCGGCCAGGAACCTGGCGCGGGGAGGGACCGCGAGACCCA
 GAGCGGTTGCCCGGCCGCGTGGGTCTCGGGGAACCGGGGGGCTGGACCAACACACG
 TCCTTGGGCGGGGGGGCGGGGGCCGCCTTCTGGAGCGGGCGTTTCTGCGGCCGAGC
 TCCGGAGCTGGAATGGGGCGGCCGGGGAAGTGGACGCGATGGCACCGCCCGGGGT
 GCGAGTGGGGCCGGGCGCGCGCGGGAGGGGAAAAAGGCGCGGGCGAGCCGCCAGC
 GCGAGGTTTGTGGTGTGCGCCGATGTCCCTTCGGGGTACTCTAGCGCAGCCGCCTGGC
 TACTTGACCCACTGCCACCAAACGTTTTAAATTCACCGAAAGCTTAGCTTCGAAGCA
 AAGCTCCGTTTCGCCGGTGAAGCAGGAAGCCTTCGCTGCAGGAACTGACCTTTACCT
 CTTGGAGCGGCTTCTGCAGAAAAATCCCCGGGCAGAGATTTGGGCGGAGTTTGCCT
 AGAACTAACGCGGAGCCAGCCGATCCCGGCCTACCCGGGGCCAAGATTTAGTGG
 CTCCCTTTTTCCCTAAACACTTCACGAGGGTCTGTTTCCGGGCTGTGCTCCCCGCCTA
 GAAGGAAAATTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCG
 CGTCCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGC
 AGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGGCCAT

GCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGGTACGGCCGTGTCCCCATGTGACCTTAGAG
TCCCTTTCGAAACTGCTGTGCACAGTCGGTCACAATTCAGACACTGGTGAGAAGGG
TGGAGGAACCCTCTGGGGACAGCCAGGCAAGGTCGACCACCCATCACCTAAGGGTG
GAGAAATTTAAGGGGTGAAGAGTCCCTTTTGCCTTTTCTGGATCCTGGTGATTCACC
TAGTGTCTTCCCTAAGGAACTGAACCAACTCCTCCGCTGGCCTCTGGCAGCCCTCCA
GGCGGTGCAGGATGGCGTGGGCCCGGTAGGAAGCTGCATGTAACCGCCCAGGGTCG
GGAGGCCAGGAGGGCAGCTCCTCCTCTGACTTGAATATTGAAAACAACCTTCGTCTG
CTTCTGAGCCCCCTTTAACCCATGACCCCCTAGCCCATTGGGGAGTAAATCTTAATTT
ACTCCTCTTCTGAAAAAGGATCTTTAAAACAGGTAGCTTCAACTCAAGCTTTATAA
AATAACAATATAGGGTTTCTCGGAACTGTATTTTTCTCAGCTGATGGTAACTGGACA
GGTCTGTAGAAGGGTGTATGACCTGGGTTTGGCAGGTGGAAGAGGGCAAAGGATAA
ACCCCTCCTCCTGCAGCCCCATATTCTTGGCCAGGTGTATTGTTGTAAACCAGGAGA
GAGTTTACTTCGGGGAGTATCCTGTTTTCCACTCAGTGAGGGCCAATGAAGAATGTC
TAATCCATAAGATGCTTTTGTAAAATCGGAATGTTGCTGTCCTCGGTGGTTCTGCT
GTTGGGACGGGACTGGCCTGAGCTGTGGGTGCTGTAGCAGGACAACCAGCTCACCT
AAGGGCCTCCCAGTCTGGATTATCAATGGGTCAGTGCTGAACCTGGGCTAAAATATT
GTTTTTCCAATGATGTTGTCTTTCCAAGCTCAGTGAAGCTAAATGTTTCACAGGCC
TATGTCAATCTGATGTAACCTTTCGTGGCCACCTCTCTCCTGTTAGCCTCTGACCAAGG
TGGCACTGGATGGTTTCTGCCTGACCTTGGTGCCCCGTGGCAGCGACTGTGGGTCAT
GAAAGACATTCACTACGAGCCTGCTTCTGGAGTCCATCAGAAAACGGGATGCAACT
TGCCTAAAATGAGGAGAGGAGGATGCTTTTAAGAAAAGAAGAAGGAGGATTCACT
ACCAGCTCTGAAGGGTGGAAAAGAGATGATTCATCCGGATTGTGGAGAGGGTGGAA
TCTTGTTTAGGAGAGCGTTGGTTGTGGCAGGCAGGGTGTAACCTATGAATCAGTGAAG
ACAATTCACATCCTGGGATGAAAAGAAGGCCATGGGCTCACAGGAGATTATCCACT
GGCCTCTCCACATCCGCTTGCAGTAAGGAGTGTGGGACTCTCCCAAGCTTCAGCGCT
GAACTGCAATGCAGTGACGTCGCTTAGCTGGGCCAGTAACCGAGGGAGTTGAATTT
TCTGTCATTTTAAAATAATGTGTCTTTTAAGAAACACTTTGAAATTTAAAACCACAGC
CCACAATTATAATGCACTGTTGCAGCACTTATCAAACAGATATGCTAACTGAGCCA
TCAGTGCCAGCCTGACAGTGAGGCCACCAAGCCATCCACAAAGCCTACACGAAAGT
CTGTGCTCACAGTGGCTTTTCTCCATGAAGAGGGCATTCCCTAACCTCTTCCTTTCAG
TAGGAGGAAGCAAGGTCCTTTGTAAAATTTTAACTCGGGGTGCCTCAAATGTAACT
TAACCACTGGTAACAACAGTTTCACTGCTACATGCCACGTCTGTGAAAATTCATTCA
AGACATTAAGGAAAGTGGCTCAGCAGAGAGACTAGACATCTTATCCTCACGGTTCT

CCTGTA CTTGGCCTCTCAGCCTTTGAGCAAGGTTGGCCCAAGCTAGTATCGGCCCA
GTGGTACAGCCAAA CTTGAGACTGCAAATGGATGCAGCTGTTGAACGCTGAGTAA
CTTCTGCAGAGTCAGGAAGACCCAAGGAAGCTCTGCAGAGGATGCAGGGGTACGGT
CAGAACCCTGAGTGCCTTTCAGCTAACGAGGACTTTATGACACTCCCAGCACAGC
AAATTTTTATGATGTGTTTAAAGATTGGGTGAATTACTCAGGTGAACAAGCTACTTT
TTATCAGAGAACACCTAAAAACAGTTCAAGAGGGTTTGGGAACTATACATTTAATC
CTATGACAAACTAAGTTGGTTCTGTCTTCACCTGTTTTGGTGAGGTTGTGTAAGAGTT
GGTGTGTTGCTCAGGAAGAGATTTAAGCATGCTTGCTTACCCAGACTCAGAGAAGTCT
CCCTGTTCTGTCCTAGCTAGTGATTCTGTGTTGTGTGCATTCGTCTTTTCCAGAGCA
AACCGCCCAGAGTAGAAGATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGT
GAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATTTTTCG
CATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACT
TTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCC
CCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGC
TCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATC
AAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGG
TCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCA
TCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCA
GCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCTAACACTGTGGACTGCTTTGTGTC
CCGGCCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTG
CATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAG
TCAAAAAAGCCAGTTTAAACGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCAT
GAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCC
AACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTG
AACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCT
AATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGC
TGTTAGGGGTATTGGTGTAAGGTA CTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATT
TGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGA
AGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGAAC
ATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAG
TGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAA CTTTGTAGTATGATAGGTTATT
TTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGAT
TGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTT

TGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGTC
 ATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAG
 TGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTA
 AGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAA
 CACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAA
 GAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGG
 GGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCT
 AAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCT
 TCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAA
 GCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGC
 CATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAA
 GTATTTTCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTGTAATAATAAAGAATA
 GCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAA
 ACATTAATAATAATCTCTATAATAA

**Иллюстративная расширенная последовательность геномной ДНК
 человеческого GJB2, включающая определенные регуляторные области (SEQ ID NO:
 122)**

GACTGTGAACTTAAGGCACAGCAGAGCTGGGGCTGCTCTTAAGGCCCTGCTG
 TCTCTCCTCTTAGTAACAACACCATTTACATGAAGTGACAGTGGTATCTTTTGTGTC
 CCTGGAAATGGAATACAACAATGGCTTTCCAACCTTTCTGTGGCAGAGACCTACAGA
 CAGAAGTACATTTTACACTGGATCCAGGACACACATCAGTCTGAAAACACACACAT
 GAACCAAACGTTTCCATAAGCATTACTTATCCTTGCTAATAGCAACACATTCTCATA
 TTCTTTTATACTTCATTTAATTTATATAAAAAAGAAAAGGAAAGGAAAGAAATCTA
 TTTCTCAGCCCATTAATAAGGTCAGGAGCAGCAACACCAGACTAGAAGAAAAGCTT
 ACCTATAGATTTTTCTGCCACCTCTTGAGTGCGTCCAGCTTTCCGACAAGTCTCAGTG
 CCATCTACTGTGCGCTCTGGGTATTGCAATTGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
 AGAATGAGACTAAGTCAGAGAACACAAAGAACTTCTTTCCCCACAGTGGAGATGGC
 TCTGAAAGCGTTTAAGGAATAGCTTAGATGAGTGGCTAACACATTCTCCCGGTTCTG
 AATTCTAAGACCACAGACTCCATGTCCAGTCCCCAAAGAGAGGCTTTGCAAGCTAC
 AGAATACCCCTCTGACTGGGACCTCAGGAGCTAAACTGACCACGTAATTGGTTCTAG
 AAAGTGAAACGTTTTAATTTGAAACATCCAAATGAGCATTGTTGTGAAAAGCTACTGC
 CGTCCATCAAATACAACACAGCCAGGGAGTCATCGCTCTATTGCCCTTGTCAATCCT

ACATCTATAGTTTTTTTTGCTACAGCAGTTCATGAGTGTTGACTCTATTCTAACTTGT
TCCAGAAGCCCTTCAAGATGATAGATAGCACAATATTTTTGTAGCCAGAGCTAGAAT
GTAGAGCTCTTTTTGGCTTCCTTGTGAATGATCCAGAATTTCCATGTTGGCAAGCCAC
CATAATTTACAGAATTTACTTTTTATATTCAATAGAAGTAAAAAAAATTTACCTATTT
AAGGAGTTATAGCTCTGGATTCATTTCTGACCAAATGTGCTTTTTGACACAAATAC
AATTGGAAATGTCTTTGTAATTTATCCACAGTCTGCCTAGATAATCATAAAAGAACT
GCATGGATATATTTGTGAGTAAGAGCACGTGTCCATTCAGCAAACCAAGGAGATC
AACTAATTCTACCATTGCCTTGAAACGGAGACACATCTAGCAGTTTGAATTTCCCC
AAAAGATTGTATGTGTGAAAATAAGAATAGAATGAGGAAAATTTAAAAGCCTATAT
AATAATTTCAAGTCACAACCTGGCAATTAGAATTTTATGAGATGTCTTTAATTTGGAA
GCAAAGAACAATTAATTATTGAAGGCTGGAATTTTTTTTTAACTCTTTGAATGGAA
CAACAGATTTTCCCCAAAAGATTTGACTTTAACAATTTTCAGAAAACATAAGTCAGG
GTGTGGTTCAATTACACAGAGAGAAATTGTAGTGAAATAGTGTTCCCTGTAATAATT
ACCCACAAAGGAGCACAGTGGAGCCACTCCTGCATTAATAATTACAGTATCATATGT
AAGTTATTATTAATTAACCAGAGATGCCAGGAGCTTGTGAGTTTCCAAGTCTATTT
TGAGGAGAGCTAAAGTTTCTCTTTTTTTGCCAGTTATTATTATTATTAATTTCAAC
AGCAAGGCAAGAAAAGGGAATGTGGTCCATTAATAATGGCTCTTGAAAAGACACT
CAATGAATCCAAGTGGCCCTAAAAGTCCAAAGTGGTAGGACAGTCTCTTCGCGTCTT
GCATCATTTTCTGCCATCACCTACGTGTGATTTCGTGAGTCGGAAATTCACCAAGAC
ATGTTTAATGTATATTTAGAGCATTCTTCCCGGCGGGAATTCACGGTGCCATTCCATC
AGGCAGTTGGCAAGCAGTCACTTGAAATATTAAGAAATATGATTTGTGTCCACTGA
TTTATTGCAAACAGCAACTTCTTTCTTTTTGGTTCATTTATAAAACAAGTCAAAT
TAAAATGCCAAATAGCTTTAAACATTAGCATTTCACCTTATAACCTTACAAGTGCA
TCACTTTAAACATCTGAGTAAAAGTTCAGCTCGATGACAATCACCTGGGATTTACCT
GCATGGTACTAAGCATATATGTAAAAATATTACTGATGGGTATCTCTGGCACTCTGA
AGTGACAAAGTGTAGCCTTCACAGATCTTTGTCAGTTAATCATCAATAGTTACCTGA
AAAGTGCCCACTTGCCATCATTCAAGATCAACCAGGCAGACACCACAGTGAGTTTTC
CATCAAAAACCTTCTCTATCTGGTCAGTCTCTGCACGTCAATGAGACAAAGGTGTA
TGCTGCACGCAGCAGTACTATCCTAAGCTCCCTGTGTCCTCACCATGGGGCTGGGTG
GCTGGGGTGGAGGAACACAGGATTGGGCTTCAGCTTCTCTAGGGACTGGTACATTA
AGAGATGAAGACATAAAAGGTGAGAAAAACATGGTTTATTTCCAATGTTTCCATTT
TGTTAAAAGTAATGCTTTCAACAGAAAAAAAATGCAGCAATATAAGTGTGTAATTT
ACAAAATAATTTCAAGATTTCTTTAATCATTAAATTTGTGGTGTGTCATCTGTTAACTGGA

TTTACGTCTAAGCTCATTTGTAAATAACTTCAAATATCCAAGCCTTCCCTCACCCTTT
TCCCACCTCACCTCTCCTCCTTCTCCTCCCCTACACTGGAGGACACTATGTACATGCA
TATAATGTCCTGCCCTAGAGGAGTCCTGAGCCTACTTGGGAAGAAAACACCAACTC
ACAGGAAAACAGCAGAAATCACACAAAACAGAATAAAAGCAAGCGCTGATCTGTA
AGTGAAGACTTAAGTGCTATAGGACTTCCAGCTACAAATCCTGAAAACACGGAGTG
GCTGTGATAATACGACTAGCCAACATCACACAGTAATTTTGCACATAAGGAGAACT
AAATCAAAGAAAACAAGGAAAAGAAAGTTGAGCCTATAATCGTGATACAGGCACT
AAAATCTCAGGTGACATTTTTCAATGGGGGAAAGTCAGTCAACTTCCGATCTCCAAA
CCATCTTTACTAGCGAGCTTCCCACAATGGTTCTAGAACCTTCCCTTCAATCCAACCCA
ACCAGGATTCCAACAGACTCATAAACACCACAGCCTTTGAGAAATTAAGGGAGAA
CCCACCAACCGGCGCCCCACTCCCCACCCCAAGTCACCTCTGGCTCAACCAAGATGC
GCTCAGGCCAAGAAAGCTGCCCCACCCACAGGCTTTGCCTGTCATTTTAAACAAGC
CGACTCAGCACATCTCTCAGATGGGCCATGCAAGGCTTTTCGCAGCTCCTGGGGCTT
TGCTCTTCATGAGCAGACACTCCCTCTTAGACTAAGACCTGGAGCTGGAAAGTAGG
TGGTAACCGCGGTACAAAACACTCACGCTCGTCCCTGCAGAAACTGCCTAGGTGCGCCC
ATGGCCACGGGGCGCCAATTTTTCAAGGAAAAGTCAATGCTAATAATGGTGGCAAT
CACGGGAAATCCATTCTGAGGCCAGATCTGACTTGTCAGGATTAATCATCATTTCCA
CTTAACCTCGAACTGACCTGGGTAAAACGTGAGCGCGAGGGGACCAGGCTGCACC
TCTGACCTGGCTCCCCTCTGCAAAAATCGCGAAGTGGGTGCCCCGAGGTGGGGCGGG
GGTTGGGGGAGACCTCCCCGGGAGTCCCCACCCAGCCTGCTCTGCACATCTTAGTCC
CTCATCCGCTTGCGCTGTGCAAATCTGTCTTCTGTCATTTGTATCGCAAGACATCAA
ATCCCCAACCAAATGCAAATACTGAGACCTCATAATCTGAGACAAAGTTTCACGGT
ATCCAGAAAGCCCCAGCAGGTGTGCAGTGCAGAGCCAGCCCCCAGCGGTCTTCC
GCAGAATCCTATCAGTTTCCCCCTTTCGTGCTGTGTGCATCGAGCAGGAAGGGGCTT
GGCAGGTTTTACCTGCCCTCTTTCCTTTCTGAAAAGTCTGGGCCTCCTCACCCCGAAA
GGAGTCACCTCCTTGCAGTTCCCCAGTTGCGAAAAGAGGAGGAAGTTGGCTGGGCC
GGGGGCCGCGGGGGGCACCCTCCGCAGATGGCGGGACCCCCCTGCCGGCCATGGCA
AAAACGAGGCTTGTCTCTCCACCGCCCCAACCTTAGTCCTTGGCACATTGTTGAA
AGTAATTGAATAAAATCGGAAATTCGAGAAGGCGTTCGTTTCGGATTGGTGAGATTTT
GAGGGGAGAAAGAAGCGGGGACTTCGCCGGCACCCAGCGGGCGCCCCCTCCTCGGCCA
CCGTTAACCCCCATTCCAGAGGGCACTGCCCGCCACCCAGCCTAGGTCCCCCTGCG
AGAGCCTCGCGGGGCCGCGCAGCCTCCGCGACTCGAACAGATCTTCAGTCCTTGGA
GGAATGCCTGTTTCTCTAACAATAAAAAATTAAGAAGCGCTCATAAATGCCAAGT

CCTCTCGCACTATGCGGAGTACAGAGGACAACGACCACAGCCATCCCTGAACCCCG
CCCACGGCACAGCGCCGGAGCCGGGGTCTGGGGCGCCGCTTCTGGGGGGTCCCGA
CTCTCAGCCGCCCCCGCTTACCCGGGCGCCAAGGGGCTGGGGGAGGCGGCGCTC
GGGGTAACCGGGGAGACTCAGGGCGCTGGGGGCACTTGGGGAACATGGGGGCT
CAAAGGAACTAGGAGATCGGGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTCG
GGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCG
CGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGC
GGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCCG
CAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGGCGCCCGGCCAGG
ACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGC
CCCGGCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCAGGTGAGCCCGCCGGCCCCGGACTGCC
GGCCAGGAACCTGGCGCGGGGAGGGACCGCGAGACCCAGAGCGGTTGCCCGGCCG
CGTGGGTCTCGGGGAACCGGGGGGCTGGACCAACACACGTCCTTGGGCCGGGGGGC
GGGGGCCGCCTTCTGGAGCGGGCGTTTCTGCGGCCGAGCTCCGGAGCTGGAATGGG
GCGGCCGGGGAAGTGGACGCGATGGCACCCCGGGGTGCGAGTGGGGCCGGGCG
CGCGCGGGAGGGGAAAAAGGCGCGGGCGAGCCGCCAGCGCGAGGTTTGTGGTGTC
GCCGATGTCCCTTCGGGGTACTCTAGCGCAGCCGCCTGGCTACTTGACCCACTGCCA
CCAAACGTTTTAAATTCACCGAAAGCTTAGCTTTCGAAGCAAAGCTCCGTTTTCGCCGG
TGAAGCAGGAAGCCTTCGCTGCAGGAACTGACCTTTACCTCTTGGAGCGGCTTCTGC
AGAAAAATCCCCGGGCAGAGATTTGGGCGGAGTTTGCCTAGAACTAACGCGGAGCC
AGCCGATCCCCGGCCTACCCCGGGGCCAAGATTCAGTGGCTTCCCTTTTTCTAAAC
ACTTCACGAGGGTCTGTTTCCGGGCTGTGCTCCCCGCCTAGAAGGAAAATTTTTAGG
ACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGTTCC
ATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCAC
CTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGA
GAAGCGTGGTACGGCCGTGTCCCATGTGACCTTAGAGTCCCTTTCGAAACTGCTGT
GCACAGTCGGTCACAATTCAGACACTGGTGAGAAGGGTGGAGGAACCCTCTGGGG
ACAGCCAGGCAAGGTCGACCACCCATCACCTAAGGGTGGAGAAATTTAAGGGGTGA
AGAGTCCCTTTTGCCTTTTCTGGATCCTGGTGATTACCTAGTGTCTTCCCTAAGGAA
CTGAACCAACTCCTCCGCTGGCCTCTGGCAGCCCTCCAGGCGGTGCAGGATGGCGTG
GGCCCGGTAGGAAGCTGCATGTAACCGCCAGGGTCGGGAGGCCAGGAGGGCAGCT
CCTCCTCTGACTTGAATATTGAAAACAACCTTCGTCTCTGCTTCTGAGCCCCCTTAACC
CATGACCCCTAGCCATTGGGGAGTAAATCTTAATTTACTCCTCTTCTGAAAAAG

GATCTTTAAAACAGGTAGCTTCAACTCAAGCTTTATAAAATAACAATATAGGGTTTC
TCGGAACGTGATTTTTCTCAGCTGATGGTAACTGGACAGGTCTGTAGAAGGGTGTAT
GACCTGGGTTTGGCAGGTGGAAGAGGGCAAAGGATAAACCCCTCCTCCTGCAGCCC
CATATTCTTGGCCAGGTGTATTGTTGTAAACCAGGAGAGAGTTTACTTCGGGGAGTA
TCCTGTTTTCCACTCAGTGAGGGCCAATGAAGAATGTCTAATTCCATAAGATGCTTT
TGTTAAAATCGGAATGTTGCTGTCCTCGGTGGTTCTGCTGTTGGGACGGGACTGGCC
TGAGCTGTGGGTGCTGTAGCAGGACAACCAGCTCACCTAAGGGCCTCCAGTCTGG
ATTATCAATGGGTCAGTGCTGAACCTGGGCTAAAATATTGTTTTTTCCAATGATGTT
GTCTTTCCAAGCTCAGTGAAGCTAAATGTTTCACAGGCCTATGTCAATCTGATGTA
ACTTTCGTGGCCACCTCTCTCCTGTTAGCCTCTGACCAAGGTGGCACTGGATGGTTTC
TGCCTGACCTTGGTGCCCCGTGGCAGCGACTGTGGGTGATGAAAGACATTCACTACG
AGCCTGCTTCTGGAGTCCATCAGAAAACGGGATGCAACTTGCCTAAAATGAGGAGA
GGAGGATGCTTTTAAGAAAAAGAAGAAGGAGGATTCACTACCAGCTCTGAAGGGTG
GAAAAGAGATGATTCATCCGGATTGTGGAGAGGGTGGAAATCTTGTTTAGGAGAGCG
TTGGTTGTGGCAGGCAGGGTGTAACTATGAATCAGTGAAGACAATTCACATCCTGG
GATGAAAAGAAGGCCATGGGCTCACAGGAGATTATCCACTGGCCTCTCCACATCCG
CTTGCAGTAAGGAGTGTGGGACTCTCCAAGCTTCAGCGCTGAACTGCAATGCAGTG
ACGTCGCTTAGCTGGGCCAGTAACCGAGGGAGTTGAATTTTCTGTCATTTAAAATA
ATGTGTCTTTTAAGAAACACTTTGAAATTAACCACAGCCCACAATTATAATGCAC
TGTTGCAGCACTTATCAAACAGATATGCTAACTGAGCCATCAGTGCCAGCCTGACA
GTGAGGCCACCAAGCCATCCACAAAGCCTACACGAAAGTCTGTGCTCACAGTGGCT
TTTCTCCATGAAGAGGGCATTCTAACCTCTTCTTTACGTAGGAGGAAGCAAGGT
CCTTTGTAAAATTTAACTCGGGGTGCCTCAAATGTAACTTAACCACTGGTAACAA
CAGTTTCACTGCTACATGCCACGTCTGTGAAAATTCATTCAAGACATTAAGGAAAGT
GGCTCAGCAGAGAGACTAGACATCTTATCCTCACGGTTCTCCTGTACTTGGCCTCTC
AGCCTTTGAGCAAGGTTGGCCCAAGCTAGTATCGGCCCCAGTGGTACAGCCAAAAC
TTGAGACTGCAAATGGATGCAGCTGTTGAACGCTGAGTAACTTCTGCAGAGTCAGG
AAGACCCAAGGAAGCTCTGCAGAGGATGCAGGGGTACGGTCAGAACCCTGAGTGC
CTTTCAGCTAACGAGGACTTTATGACACTCCCAGCACAGCAAATTTTTATGATGTG
TTTAAAGATTGGGTGAATTACTCAGGTGAACAAGCTACTTTTTATCAGAGAACACCT
AAAAACACGTTCAAGAGGGTTTGGGAACTATACATTTAATCCTATGACAAACTAAG
TTGGTTCTGTCTTCACCTGTTTTGGTGAGGTTGTGTAAGAGTTGGTGTGTTGCTCAGGA
AGAGATTTAAGCATGCTTGCTTACCCAGACTCAGAGAAGTCTCCCTGTTCTGTCTTA

GCTAGTGATTCCCTGTGTTGTGTGCATTCGTCTTTTCCAGAGCAAACCGCCCAGAGTA
GAAGATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCA
CCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGT
TGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCC
TGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCC
GGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGC
ACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAA
GAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCT
CCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCT
TCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGT
GCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGA
AGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGT
CACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGT
TTAACGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGC
AACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTG
ACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCA
CAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCT
TAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGG
TGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGG
ACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCC
TGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTG
CTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTT
ACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTGATGTAAAGATGT
TCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATG
GTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTT
TGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACAAC
ATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAG
CAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGA
TGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCAT
GACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATT
TTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAA
GTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTA
GATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTT

AAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAA
TATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGG
TTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGTTGTCA
AGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTT
GTA ACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAAAATATAATCT
CTATAATAATTTAAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCAAATTTAATTTTCATCT
ATCACTTTTTATATAAATACATTAATGTTTTATATTTTCATAACACCAATGGGTAAGTT
GCCAGAGTGTCTGACCCATTCTGCCCCAGTTACAGAAAAGCTTCTGTCACCAGAAA
GTTTGGTGGGGAAGGAAGGGAGGAAGATGATTTCTACCTAACCCCGTGCCACCTC
TACCAGGTTTTTGAGGCATATCAGTCTATGGACAATGTGGTGTGGTCTGGAAACG
TACCTTGGTGAATGCTGAGTTGGCTGGACATGACCCGTTTAGCTCCTGGATGAATCC
CAGAAGTGGACCTTCAAATGTTACTCATAGCATGACCTTGGCTCACTGCAACCTCT
GCCTCCAGGCTCAAGCGATCCTCCACCTCAGCGTCCCAAGTAGCTGGGACCACTG
GAGTGTGCCACCACACTCCACTAATTTTTTCATTTTTTGTAGAAACGAGGTCCCACTA
TATTGCCAGTCTGGTCTCGAACTCCTGGGCTGAAGGGATCCCCCTGCCTCAGTCTC
CTAAAGTGCAAGGATTACAGGCATGGGCCACCGCACCTGGCCTGAAACTGCTTTTTA
TTCCTCAGTGCCCACTTCCATGGGAAATAAGCCTGCCAGGTCAGCCTGTCCCCATGG
GAGTGA CTGCCTGCTACCCCCACAGGCTTGCCCGGCCCTCGTGAGCCTCTCCAGAG
ACACCACCAACAGTTCTGTTCTTTCATGGTACAAGATTTCCATCCAAGGATTTCAA
GCATTTACACATCAATAATTAGAAGTATTTTCATAGAGGACCATACACTTTTAAAA
TGGATTTCAAAGAACAAAAACCAGTCAACTATCACCCAGGTAATAGAAAATGGGAA
ATGGTTTTCTACCTGACTTCCAAAATGCTCTGCACATAGACTGTGAAAATAGGATTTT
TTAAGCTGGGTGCAGAGGCTTATACCTATAATCCCAACACTTTGGGAGGCTGAGACG
AGAGGATCACTTGAGCCCAGGAGTTCAA AACAGCCTGGGCAATATAGGGAGACAT
TGTTTCTATAAAAAATAAAAAATGTTAGCCAGGCAGGCGTGGTAACATGTGCCTGTAG
TCTCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGTGGGAAGATTGCTTGAACCTGGGAGGTCCATG
CTGCAGTGAGCTGAGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTAGGCGACAGCAAGATCCT
GTCCCAAACAACAACATCAAAAAACACAGA ACTTTTAAAATAAGTACATTCAC
TTCTACAAGCTATGTAGATTACTCTCAAGCTATTTAAAAGACCAAGCCAAAATAA
TTATGGGCTACTCTCGACCACTTGTAGGAATGGATAGAGAGGTCTGGTCACATGCCT
GGAAATTAGAGCTTGAGCTCTGAAAATGATAATCCTGACTATATCTCAAAGCATCAG
TCTGCACTTTGTATGGAGCAAGAAAAAGCCTTGTGGAAGCGGCCTCCACCCAGCC
GAGCCCTCGGCGTGGACAAGCTCTGCTTTTTATGAGCAGTGGGTGCAGCCTCGCTGC

TCCCTCCTCCTGTCAAAAGACAGTCACAGCTGGGGTGAGCAGATCGGGCCCACTTGG
 GAGGCCCAAGGAATATGCTGCAGGGGTCGGGCCTGAGCCACCCACGGGTTGGT
 CTTTGACAACACTAGAGAGCAGCTGAGAGGTGGGTAAAAGCTCACTCACTTACCCTGA
 CCTCAGTGTCTCATCTTAAAATGGGTTTCCTGAATCTTTCGCCGGCTTAGTGGAAT
 GAAATAAGATAATTTATGTAAACGTTCTCCACATAGTAAAGCACTAAGTAACATATG
 ACTGTCATCTGTTTTCCACTAGACAGATCCCAACCTGGAAGAGTGACAGATGGTATT
 TCAGATACAAGTGACTCAAGCAAAGCTTGATAAACTGGGGGCTGGAAAAAATGCA
 CATTTACACAAAGCCTGGAGTAACTGC

[0063] Согласно некоторым аспектам ген GJB2 является кодон-оптимизированным. Согласно некоторым аспектам кодон-оптимизированный ген GJB2 имеет по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 123-126. Согласно некоторым аспектам кодон-оптимизированный ген GJB2 имеет последовательность согласно любому из SEQ ID NO: 123-126.

Иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность ДНК человеческого GJB2 (SEQ ID NO: 123)

ATGGACTGGGGCACCCCTGCAGACTATCCTGGGGGGCGTCAATAAGCATTCAA
 CTAGCATCGGAAAGATTTGGCTGACTGTCCTGTTTATCTTTCGGATCATGATCCTGGT
 GGTGGCAGCAAAGGAAGTGTGGGGCGACGAGCAGGCCGATTTTCGTGTGCAACACAC
 TGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGACCACTATTTTCCCATCTCTCACATCA
 GGCTGTGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGAGCACCCCTGCCCTGCTGGTGGCAATGC
 ACGTGGCCTATCGGAGACACGAGAAGAAGCGCAAGTTTATCAAGGGCGAGATCAAG
 AGCGAGTTCAAGGATATCGAGGAGATCAAGACACAGAAGGTGAGGATCGAGGGCT
 CCCTGTGGTGGACCTACACAAGCTCCATCTTCTTTCGCGTGATCTTCGAGGCCGCCTT
 TATGTACGTGTTCTATGTGATGTACGACGGCTTTTCTATGCAGCGGCTGGTGAAGTG
 CAACGCCTGGCCCTGTCCTAATACAGTGGATTGTTTTCGTGTCCAGACCCACCGAGAA
 GACAGTGTTACCGTGTTTATGATCGCCGTGTCTGGCATCTGCATCCTGCTGAACGT
 GACCGAGCTGTGCTATCTGCTGATCCGGTACTGTAGTGGAAGAGCAAAAAACCCG
 TG

**Иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность ДНК
человеческого GJB2 (SEQ ID NO: 124)**

ATGGACTGGGGAACATTGCAAACATTTTTGGGAGGAGTCAACAAGCATTCAA
CTAGCATCGGGAAGATCTGGCTGACCGTGCTGTTCATCTTTCGCATCATGATTCTCGT
GGTGGCCGCTAAGGAAGTCTGGGGCGATGAACAGGCCGACTTCGTGTGTAACACGC
TGCAGCCC GGTTGCAAAAACGTCTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCACACATTA
GACTGTGGGCGCTGCAGCTGATTTTCGTGTCCACCCCGGCACTTCTTGTGGCGATGC
ACGTGGCCTACCGGCGGCACGAGAAGAAAAGGAAGTTCATTAAGGGCGAAATCAA
GTCCGAGTTCAAGGACATCGAAGAAATCAAGACCCAGAAGGTCCGCATTGAGGGCT
CCCTCTGGTGGACCTACACCTCGTCCATCTTCTTCCGGGTCATATTCGAGGCCGCCTT
TATGTACGTGTTTTACGTGATGTACGACGGTTTCAGCATGCAAAGACTCGTCAAGTG
CAACGCTTGGCCTTGCCCCAATACCGTGGATTGCTTCGTGTCCCGCCCGACCGAGAA
AACTGTGTTCACTGTGTTTCATGATCGCCGTGTCCGGCATCTGCATCCTGCTGAACGT
GACCGAGCTGTGCTATCTCCTGATCCGGTACTGTAGCGGAAAGTCGAAGAAGCCTGT
G

**Иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность ДНК
человеческого GJB2 (SEQ ID NO: 125)**

ATGGATTGGGGGACGCTCCAGACTATACTTGGCGGGGTAAACAAACATTCCA
CCTCAATTGGCAAAATCTGGCTCACAGTCCTCTTCATCTTCAGAATAATGATACTCG
TGGTTGCCGCTAAAGAAGTTTGGGGTGACGAGCAAGCCGATTTTCGTCTGTAACACC
TCCAACCAGGTTGCAAAAATGTCTGTTACGATCACTACTTTCCTATTAGCCATATTA
GACTCTGGGCCCTGCAACTTATCTTCGTTTCCACTCCTGCTCTGCTCGTCGCTATGCA
CGTTGCCTATCGCCGCCATGAAAAAAAACGGAAATTCATTAAGGGAGAGATTAAGA
GTGAATTCAAGGATATTGAAGAGATTA AAAACGCAAAAAGTTAGAATTGAGGGATCA
CTGTGGTGGACTTATACCAGTAGCATCTTTTTTAGGGTCATTTTCGAAGCTGCTTTCA
TGTATGTTTTCTATGTAATGTACGACGGTTTCTCCATGCAACGCTTGGTTAAATGTAA
CGCCTGGCCATGCCCTAATACGGTTGATTGCTTTGTCTCCCGCCCTACTGAAAAGAC
AGTGTTTACCGTTTTTCATGATCGCCGTAAGTGAATTTGTATCCTTCTTAACGTGACC
GAGTTGTGCTATCTCCTTATTCGCTACTGTTTCAGGAAAAAGTAAAAAACAGTA

Иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность ДНК

человеческого GJB2 (SEQ ID NO: 126)

ATGGACTGGGGCACGCTGCAGACTATCCTGGGGGGTGTCAACAAGCATTCAA
 STAGCATCGGAAAGATCTGGCTGACCGTCCTGTTCATCTTTCGCATCATGATCCTCGT
 GGTGGCCGCTAAGGAAGTGTGGGGCGACGAGCAGGCCGATTTTCGTGTGTAACACCC
 TGCAGCCAGGTTGCAAAAACGTCTGCTACGATCACTACTTTCCCATCTCCCACATTA
 GACTGTGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACCCCTGCGCTGCTAGTGGCCATGC
 ACGTGGCCTATCGGGCAGACGAGAAGAAACGGAAGTTCATTAAGGGCGAGATCAAG
 AGCGAGTTCAAGGATATCGAAGAGATCAAGACCCAGAAGGTCCGCATTGAGGGGCTC
 CCTGTGGTGGACCTACACCAGCTCCATCTTCTTTTCGGGTCATCTTCGAGGCCGCSTTT
 ATGTACGTGTTCTATGTGATGTACGACGGTTTCTCCATGCAACGGCTGGTGAAGTGC
 AACGCCTGGCCTTGCCCTAATACTGTGGATTGCTTCGTGTCCCGCCCCACCGAGAAG
 ACAGTGTTACCGTGTTTCATGATCGCCGTGTCTGGCATCTGCATCCTGCTGAACGTG
 ACCGAGCTGTGCTATCTCCTGATCCGGTACTGTAGTGGAAAGTCAAAAAAACAGT
 GTAA

[0064] Согласно настоящему изобретению обнаружено, что определенные изменения в полинуклеотидной последовательности не будут влиять на ее экспрессию или белок, кодируемый указанным полинуклеотидом. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит ген GJB2, имеющий одну или несколько молчащих мутаций. Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, который содержит ген GJB2, имеющий одну или несколько молчащих мутаций, например, ген GJB2, имеющий последовательность, отличную от SEQ ID NO: 117-126, но кодирующий ту же аминокислотную последовательность, что и функциональный ген GJB2. Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, который содержит ген GJB2, имеющий последовательность, отличную от SEQ ID NO: 117-126, который кодирует аминокислотную последовательность, включающую одну или более мутаций (например, другую аминокислотную последовательность по сравнению с полученной из функционального гена GJB2), где одна или несколько мутаций представляют собой консервативные аминокислотные замены.

[0065] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, который содержит ген GJB2, имеющий последовательность, отличную от SEQ ID NO: 117-126, который кодирует аминокислотную последовательность, включающую одну или более мутаций (например, другую аминокислотную последовательность по сравнению с полученной из функционального гена GJB2), где одна

или несколько мутаций не находятся в характерной части гена GJB2 или кодируемого белка коннексина 26. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению содержит ген GJB2, который на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 117-126. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению содержит ген GJB2, который идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 117-126. Как очевидно в данной области техники, SEQ ID NO: 117-126 можно оптимизировать (например, оптимизировать по кодонам) для достижения повышенной или оптимальной экспрессии у животного, например, млекопитающего, например, человека.

[0066] Помимо прочего, настоящее изобретение относится к полипептидам, кодируемым геном GJB2 или его характерной частью. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой ген GJB2 млекопитающих. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой мышинный ген GJB2. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой ген GJB2 примата. Согласно некоторым аспектам ген GJB2 представляет собой ген GJB2 человека.

[0067] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к полипептиду, который содержит белок коннексин 26 или его характерную часть. Согласно некоторым аспектам белок коннексин 26 или его характерная часть представляет собой белок коннексин 26 млекопитающих или его характерную часть, например, белок коннексин 26 приматов или его характерную часть. Согласно некоторым аспектам белок коннексин 26 или его характерная часть представляет собой белок коннексин 26 человека или его характерную часть.

[0068] Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит посттрансляционные модификации. Согласно некоторым аспектам белок коннексин 26 или его характерная часть, раскрытые в настоящем документе, содержат посттрансляционные модификации. Согласно некоторым аспектам посттрансляционные модификации могут включать без ограничения гликозилирование (например, N-связанное гликозилирование, O-связанное гликозилирование), фосфорилирование, ацетилирование, амидирование, гидроксильное, метилирование, убиквитилирование, сульфатирование и/или их комбинацию. Иллюстративная белковая

последовательность коннексина 26 человека представляет собой или включает последовательность SEQ ID NO: 127.

Иллюстративная последовательность белка коннексин 26 человека (SEQ ID NO: 127)

MDWGTLQTLGGVNHSTSIGKIWLTVLFIFRIMILVVAAKEVWGDEQADFVCN
TLQPGCKNVCYDHYFPISHIRLWALQLIFVSTPALLVAMHVAYRRHEKKRKFGEIKSE
FKDIEEIKTQKVRIEGLWWTYTSSIFFRVIFEAAFMYVFYVMYDGFMSMQLVKCNAWP
CPNTVDCFVSRPTEKTVFTVFMIAVSGICILLNVTCLCYLLIRYCSGKSKKPV

[0069] Согласно настоящему изобретению обнаружено, что определенные мутации в аминокислотной последовательности полипептида, описанного в настоящем документе (например, включая белок коннексин 26 или его характерную часть) не будут влиять на экспрессию, укладку или активность полипептида. Согласно некоторым аспектам полипептид (например, включая белок коннексин 26 или его характерную часть) включает одну или несколько мутаций, причем одна или несколько мутаций представляют собой консервативные аминокислотные замены. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит белок коннексин 26 или его характерную часть, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит белок коннексин 26 или его характерную часть, которая идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит белок коннексин 26 или его характерную часть, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит белок коннексин 26 или его характерную часть, которая идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127.

[0070] Согласно некоторым аспектам полипептид представляет собой терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26). Согласно некоторым аспектам полипептид представляет собой полипептид опорной клетки (например, полипептид коннексин 26). Согласно некоторым аспектам полипептид представляет собой репортерный полипептид.

Полипептиды опорных клеток

[0071] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотидам, кодирующим полипептид опорной клетки (например, полипептид коннексина 26). Полинуклеотид может кодировать полипептид, который способен экспрессироваться в клетке (например, клетке внутреннего уха). Согласно некоторым аспектам полипептид опорной клетки (например, полипептид коннексин 26) представляет собой полипептид, который эндогенно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Полинуклеотид может кодировать полноразмерный полипептид или его функциональный фрагмент.

[0072] Иллюстративные полипептиды опорных клеток, кодируемые полинуклеотидом, включают без ограничения трансмембранные белки, ферменты, факторы роста, цитокины, рецепторы, лиганды рецепторов, гормоны, мембранные белки, мембраносвязанные белки, антигены и антитела.

[0073] Иллюстративные полинуклеотиды опорных клеток, кодирующие полипептиды, включают без ограничения АТФазу, транспортирующую Ca²⁺ через плазматическую мембрану 2 (ATP2B2), никотиновую альфа-9-субъединицу холинергического рецептора (CHRNA9), кадгерин 23 (CDH23), белок 2 с суперспиралью, богатый глутаматом (CCER2), кларин 1 (CLRN1), кларин 2 (CLRN2), кохлин (COCH или DFNA9), дистротелин (DYTN), субстрат 8 пути рецептора эпидермального фактора роста (EPS8), EPS8-подобный 2 (EPS8L2), эспин (ESPN), эспин-подобный (ESPNL), белок

щелевидного соединения бета 2 (GJB2), белок щелевидного соединения бета 6 (GJB6), белок щелевидного соединения бета 3 (GJB3), белок газдермин E (GSDME или DFNA5), инсулинома-ассоциированный 1 (INSM1), цинковый палец 2 семейства Ikaros (IKZF2), белок гомеобокс 3 LIM (LHX3), миозин 7A (MYO7A), миозин 11 (MYO3A), фактор роста цистинового узла норрина (NDP), протокадгерин 15 (PCDH15), протеин-тирозинфосфатазу, рецептор типа Q (PTPRQ), стереоцилин (STRC), компонент белковой сети гармонин (USH1C), ушерин (USH2A) и повтор спектрина, содержащий член семейства 4 ядерной оболочки (SYNE4). Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит ген белка щелевидного соединения бета-2 (GJB2). Согласно некоторым аспектам полинуклеотид кодирует полипептид щелевидного соединения бета-2. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид кодирует полипептид коннексин 26. Согласно некоторым аспектам полипептид опорной клетки представляет собой полипептид белка щелевидного соединения бета-2. Согласно некоторым аспектам полипептид опорной клетки представляет собой полипептид коннексин 26.

[0074] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению содержит ген GJB2, который на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 117-126. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению содержит ген GJB2, который идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 117-126. Как очевидно в данной области техники, SEQ ID NO: 117-126 можно оптимизировать (например, оптимизировать по кодонам) для достижения повышенной или оптимальной экспрессии у животного, например, млекопитающего, например, человека.

[0075] Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит коннексин 26 или его характерную часть, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит коннексин 26 или его характерную часть, которая идентична последовательности

согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит коннексин 26 или его характерную часть, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит белок коннексин 26 или его характерную часть, которая идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127.

[0076]

Терапевтические полипептиды

[0077] Согласно определенным аспектам настоящее изобретение относится к полинуклеотидам, кодирующим полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексин 26). Полинуклеотид может кодировать полипептид, который способен экспрессироваться в клетке (например, клетке внутреннего уха). Полинуклеотид может кодировать полноразмерный полипептид или его функциональный фрагмент.

[0078] Иллюстративные полипептиды, кодируемые полинуклеотидом, включают без ограничения трансмембранные белки, ферменты, факторы роста, цитокины, рецепторы, лиганды рецепторов, гормоны, мембранные белки, мембраносвязанные белки, антигены и антитела.

[0079] Иллюстративный полинуклеотиды, кодирующие терапевтические полипептиды (например, полипептид коннексин 26), включают без ограничения АТФазу, транспортирующую Ca^{2+} через плазматическую мембрану 2 (АТФ2В2), никотиновую альфа-9-субъединицу холинергического рецептора (CHRNA9), кадгерин 23 (CDH23), белок 2 с суперспиралью, богатый глутаматом (CCER2), кларин 1 (CLRN1), кларин 2 (CLRN2), кохлин (COCH или DFNA9), дистротелин (DYTN), субстрат 8 пути рецептора эпидермального фактора роста (EPS8), EPS8-подобный 2 (EPS8L2), эспин (ESPN), эспин-подобный (ESPNL), белок щелевидного соединения бета 2 (GJB2), белок щелевидного соединения бета 6 (GJB6), белок щелевидного соединения бета 3 (GJB3), белок газдермин Е (GSDME или DFNA5), инсулинома-ассоциированный 1 (INSM1), цинковый палец 2 семейства Ikaros (IKZF2), белок гомеобокс 3 LIM (LHX3), миозин 7А (MYO7A), миозин 11 (MYO3A), фактор роста цистинового узла норрина (NDP), протокадгерин 15 (PCDH15),

протеин-тирозинфосфатазу, рецептор типа Q (PTPRQ), стереоцилин (STRC), компонент белковой сети гармонин (USH1C), ушерин (USH2A) и повтор спектрина, содержащий член семейства 4 ядерной оболочки (SYNE4). Согласно некоторым аспектам полинуклеотид содержит ген белка щелевидного соединения бета-2 (GJB2). Согласно некоторым аспектам полинуклеотид кодирует полипептид белка щелевидного соединения бета-2. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид кодирует полипептид коннексин 26. Согласно некоторым аспектам терапевтический полипептид представляет собой полипептид белка щелевидного соединения бета-2. Согласно некоторым аспектам терапевтический полипептид представляет собой полипептид коннексин 26.

[0080] Согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению содержит ген GJB2, который на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 117-126. Согласно некоторым аспектам полинуклеотид согласно настоящему изобретению содержит ген GJB2, который идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 117-126. Как очевидно в данной области техники, SEQ ID NO: 117-126 можно оптимизировать (например, оптимизировать по кодонам) для достижения повышенной или оптимальной экспрессии у животного, например, млекопитающего, например, человека.

[0081] Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит коннексин 26 или его характерную часть, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит коннексин 26 или его характерную часть, которая идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит коннексин 26 или его характерную часть, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98% или по меньшей мере 99% идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127. Согласно некоторым аспектам полипептид согласно настоящему изобретению содержит белок коннексин 26 или его характерную часть, которая идентична последовательности согласно SEQ ID NO: 127.

Конструкции

[0082] Помимо прочего, настоящее изобретение предусматривает, что некоторые полинуклеотиды, описанные в настоящем документе, представляют собой полинуклеотидные конструкции. Полинуклеотидные конструкции согласно настоящему изобретению включают все конструкции, известные в данной области техники, включая космиды, плазмиды (например, голые или содержащиеся в липосомах) и вирусные конструкции (например, лентивирусные, ретровирусные, аденовирусные и аденоассоциированные вирусные конструкции), которые включают полинуклеотид, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты (например, ген GJB2) или ее характерную часть, кодирующую полипептид (например, коннексин 26). Специалисты в данной области техники способны выбрать подходящие конструкции, а также клетки для получения любого из описанных в настоящем документе полинуклеотидов. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой плазмиду (т.е. кольцевую молекулу ДНК, которая может автономно реплицироваться внутри клетки). Согласно некоторым аспектам конструкция может представлять собой космиду (например, серию pWE или sCos). Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой вектор млекопитающего или вирусный вектор.

[0083] Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой вирусную конструкцию. Согласно некоторым аспектам вирусная конструкция представляет собой лентивирусную, ретровирусную, аденовирусную или аденоассоциированную вирусную конструкцию. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой конструкцию аденоассоциированного вируса (AAV) (см., например, Asokan et al., Mol. Ther. 20: 699-7080, 2012, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой вирусный вектор. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой лентивирусный, ретровирусный, аденовирусный или аденоассоциированный вирусный вектор. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой вектор AAV. Согласно некоторым аспектам вирусная конструкция

представляет собой аденовирусную конструкцию. Согласно некоторым аспектам вирусная конструкция также может быть основана на альфавирусе или получена из него. Альфавирусы включают вирус Синдбис (и VEEV), вирус Аура, вирус Бабанки, вирус леса Бармах, вирус Бебару, вирус Кабассоу, вирус Чикунгунья, вирус восточного энцефалита лошадей, вирус Эверглейда, вирус Форт-Морган, вирус Гета, вирус Хайлендс J высокогорья, вируса Кызылагач, вирус Майяро, вирус Ме-Три, вирус Мидделбурга, вирус Моссо дас Педрас, вирус Мукамбо, вирус Ндumu, вирус О'ньонг-ньонг, вирус Пиксуна, вирус Рио Негро, вирус реки Росс, вирус болезни поджелудочной железы лосося, вирус леса Семлики, вирус южных морских слонов, вирус Тонат, вирус Трокара, вирус Уна, вирус венесуэльского энцефалита лошадей, вирус западного энцефалита лошадей и вирус Ватароа. Как правило, геном таких вирусов кодирует неструктурные (например, репликон) и структурные белки (например, капсид и оболочка), которые могут транслироваться в цитоплазме клетки-хозяина. Все из вируса реки Росс, вируса Синдбис, вируса леса Семлики (SFV) и вируса венесуэльского энцефалита лошадей (VEEV) используют для разработки вирусных векторов для переноса для доставки трансгенов. Псевдотипированные вирусы могут быть получены путем комбинирования гликопротеинов оболочки альфа-вирусов и капсидов ретровирусов. Примеры альфавирусных векторов могут быть найдены в публикациях США № 20150050243, 20090305344 и 20060177819, конструкции и способы их получения включены в настоящий документ посредством ссылки на каждую из публикаций во всей ее полноте.

[0084] Конструкции, раскрытые в настоящем документе, могут иметь различные размеры. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой плазмиду и может включать общую длину до приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов, до приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 9 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 10 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 11 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 12 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 13 тысяч пар нуклеотидов, до приблизительно 14 тысяч пар нуклеотидов или до приблизительно 15 тысяч пар нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой плазмиду и может включать общую длину в диапазоне от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар

до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов, приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов, приблизительно 6 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов или приблизительно 7 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 8 тысяч пар нуклеотидов.

[0089] Любая из описанных в настоящем документе конструкций может дополнительно включать контрольную последовательность, например, контрольную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательности инициации транскрипции, последовательности терминации транскрипции, последовательности промотора, энхансерной последовательности, последовательности сплайсинга РНК, последовательности полиаденилирования (поли(А)), консенсусной последовательности Козака и/или дополнительных нетранслируемых областей, которые могут содержать пре-

или посттранскрипционные регуляторные и/или контрольные элементы домашнего хозяйства. Согласно некоторым аспектам промотор может представлять собой нативный промотор, конститутивный промотор, индуцибельный промотор и/или тканеспецифичный промотор. В настоящем документе описаны неограничивающие примеры контрольных последовательностей.

[0090] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), 3' UTR, полиА и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, полиА и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА и 3' ITR.

[0091] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), 3' UTR, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR.

[0092] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке). Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, конститутивный промотор, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, конститутивный промотор, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА и 3' ITR.

[0093] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке). Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, промотор, который селективно экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, конститутивный промотор, 5' UTR, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит 5' ITR, конститутивный промотор, 5' UTR,

полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), метку, 3' UTR, регуляторный сайт-мишень микроРНК, полиА, и 3' ITR.

[0094] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0095] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0096] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%,

по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99.

[0097] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере

мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%,

по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98.

[0098] Согласно некоторым аспектам конструкция дополнительно содержит минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0099] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность

нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0100] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере

80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым

аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 95, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0101] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5'

инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iv) 3' ITR.

[0102] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iv) 3' ITR.

[0103] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iii) 3' нетранслируемую область (UTR), и (iv) 3' ITR.

[0104] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iii) 3' нетранслируемую область (UTR), и (iv) 3' ITR.

[0105] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (iv) 3' нетранслируемую область (UTR), и (v) 3' ITR.

[0106] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (iv) 3' нетранслируемую область (UTR), и (v) 3' ITR.

[0107] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в

опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

[0108] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

[0109] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0110] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0111] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке).

[0112] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), и (iv) 3' ITR.

[0113] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой

клетке), и (v) 3' ITR.

[0114] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (iv) 3' нетранслируемую область (UTR) и (v) 3' ITR.

[0115] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0116] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0117] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0118] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по

меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99.

[0119] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит

последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по

меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 95. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iv) 3' ITR.

[0120] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iv) 3' ITR.

[0121] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iii) 3' нетранслируемую область (UTR), и (iv) 3' ITR.

[0122] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) 3' нетранслируемую область (UTR), и (iv) 3' ITR.

[0123] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (iv) 3' нетранслируемую область (UTR), и (v) 3' ITR.

[0124] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (iv) 3' нетранслируемую область (UTR), и (v) 3' ITR.

[0125] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

[0126] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii)

полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

[0127] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0128] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0129] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке).

[0130] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), и (iv) 3' ITR.

[0131] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26),

функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), и (v) 3' ITR.

[0132] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (iv) 3' нетранслируемую область (UTR) и (v) 3' ITR.

[0133] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0134] Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0135] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%

идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0136] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii)

полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где

промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 95, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, и (iii) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере

мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98, и минимальный промотор GJB2, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

Частицы AAV

[0137] Помимо прочего, настоящее изобретение относится к частицам AAV, которые содержат конструкцию, кодирующую терапевтический полипептид (например, полипептид коннексин 26), и капсид, описанный в настоящем документе. Помимо прочего, настоящее изобретение относится к частицам AAV, которые содержат конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты (например, ген), кодирующую полипептид, и капсид, описанный в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам частицы AAV можно описать как имеющие серотип, который представляет собой описание штамма конструкции и штамма капсида. Согласно некоторым аспектам частица AAV имеет серотип AAV1, AAV2, AAV3 (например, AAV3B), AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV2-tYF, AAV2-P2V2, AAV2-P2V3, AAV2-MeBtYFTV, AAV2-MeB, AAV2-P2V6, AAV2-DGEDF или AAV Anc80. Согласно некоторым аспектам частица AAV имеет серотип AAVAnc80 (включая, например, AAVAnc80L65). Согласно некоторым аспектам частица AAV2 может быть описана как AAV2, при этом частица имеет капсид AAV2 и конструкцию, которая содержит характерные инвертированные концевые повторы AAV2 (ITR). Согласно некоторым аспектам частица AAV может быть описана как псевдотип, где капсид и конструкция происходят из разных штаммов AAV, например, AAV2/9 будет относиться к частице AAV, которая содержит конструкцию, использующую ITR AAV2 и капсид AAV9.

Конструкция AAV

[0138] Настоящее изобретение относится к конструкциям, которые содержат последовательность нуклеиновой кислоты (например, ген), кодирующую полипептид или его характерную часть. Согласно некоторым аспектам, описанным в настоящем документе, конструкция, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты (например, ген),

кодирующую полипептид или его характерную часть, может быть включена в частицу AAV.

[0139] Настоящее изобретение относится к полинуклеотидным конструкциям, которые содержат последовательность нуклеиновой кислоты (например, ген), кодирующую терапевтический полипептид (например, полипептид коннексина 26) или его характерную часть). Согласно некоторым аспектам, описанным в настоящем документе, полинуклеотид, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты (например, ген), кодирующую терапевтический полипептид (например, полипептид коннексина 26) или его характерную часть, может быть включен в частицу AAV.

[0140] Согласно некоторым аспектам полинуклеотидная конструкция содержит один или несколько компонентов, полученных или модифицированных из встречающейся в природе геномной конструкции AAV. Согласно некоторым аспектам последовательность, полученная из конструкции AAV, представляет собой конструкцию AAV1, конструкцию AAV2, конструкцию AAV3, конструкцию AAV4, конструкцию AAV5, конструкцию AAV6, конструкцию AAV7, конструкцию AAV8, конструкцию AAV9, конструкцию AAV2.7m8, конструкцию AAV8BP2, конструкцию AAV293, конструкцию AAV2-tYF, конструкцию AAV2-P2V2, конструкцию AAV2-P2V3, конструкцию AAV2-MeBtYFTV, конструкцию AAV2-MeB, конструкцию AAV2-P2V6, конструкцию AAV2-DGEDF или конструкцию AAV Anc80. Согласно некоторым аспектам конструкция происходит из конструкции AAV Anc80 (включая, например, AAVAnc80L65). Дополнительные иллюстративные конструкции AAV, которые можно использовать согласно настоящему изобретению, известны в данной области техники. См., например, Kanaan et al., *Mol. Ther. Nucleic Acids* 8:184-197, 2017, Li et al., *Mol. Ther.* 16(7): 1252-1260, 2008, Adachi et al., *Nat. Commun.* 5: 3075, 2014, Isgrig et al., *Nat. Commun.* 10(1): 427, 2019, и Gao et al., *J. Virol.* 78(12): 6381-6388, 2004, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0141] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим кодирующую последовательность, например, нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26), одну или несколько регуляторных и/или контрольных последовательностей и необязательно 5' и 3' AAV-происходящие инвертированные концевые повторы (ITR). Согласно некоторым аспектам, где 5' и 3' AAV-производные ITR применяются, полинуклеотидная конструкция может упоминаться как рекомбинантная AAV (rAAV)

конструкция. Согласно некоторым аспектам представленные rAAV конструкции упакованы в капсид AAV с образованием частицы AAV. Согласно некоторым аспектам капсид AAV представляет собой капсид Anc80 (например, капсид Anc80L65).

[0142] Согласно некоторым аспектам последовательности, полученные из AAV (которые содержатся в полинуклеотидной конструкции), обычно включают cis-действующие 5'- и 3'-последовательности ITR (см., например, В. J. Carter, in "Handbook of Parvoviruses," ed., P. Tijsser, CRC Press, pp. 155-168, 1990, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Иллюстративные последовательности ITR, полученные из AAV2, имеют длину приблизительно 145 нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам по меньшей мере 75% иллюстративной последовательности ITR (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%) включено в конструкцию согласно настоящему изобретению. Возможность модификации этих последовательностей ITR находится в компетенции специалистов в данной области техники. (См., например, Sambrook et al., "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989, and K. Fisher et al., J Virol. 70:520-532, 1996, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам любая из кодирующих последовательностей и/или конструкций, описанных в настоящем документе, фланкирована 5'- и 3'-последовательностями AAV ITR. Последовательности AAV ITR могут быть получены из любого известного AAV, включая идентифицированные в настоящее время типы AAV.

[0143] Согласно некоторым аспектам полинуклеотидные конструкции, описанные в соответствии с настоящим описанием и по схеме, известной в данной области техники (см., например, Asokan et al., Mol. Ther. 20: 699-7080, 2012, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), которая включена в настоящий документ посредством ссылки в ее полноте) обычно состоят из кодирующей последовательности или ее части, по меньшей мере одной и/или контрольной последовательности и необязательно 5'- и 3'-инвертированных концевых повторов AAV (ITR). Согласно некоторым аспектам предоставленные конструкции могут быть упакованы в капсид с получением частицы AAV. Частица AAV может быть доставлена в выбранную клетку-мишень. Согласно некоторым аспектам предлагаемые конструкции содержат дополнительную необязательную кодирующую последовательность, которая представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты (например, ингибирующую

последовательность нуклеиновой кислоты), гетерологичную последовательностям конструкции, которая кодирует полипептид, белок, функциональную молекулу РНК (например, микроРНК, ингибитор микроРНК) или другой представляющий интерес генный продукт. Согласно некоторым аспектам кодирующая последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана с компонентами и/или контролирует их таким образом, который обеспечивает транскрипцию, трансляцию и/или экспрессию кодирующей последовательности в клетке ткани-мишени.

[0144] Как показано на фиг. 1А, немодифицированный эндогенный геном AAV включает две открытые рамки считывания, «сар» и «гер», которые фланкированы ITR. Как показано на фиг. 1В, иллюстративные конструкции гAAV аналогичным образом включают ITR, фланкирующие кодирующую область, например, кодирующую последовательность (например, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26)). Согласно некоторым аспектам конструкция гAAV также содержит традиционные элементы контроля, которые функционально связаны с кодирующей последовательностью таким образом, что обеспечивают ее транскрипцию, трансляцию и/или экспрессию в клетке, трансфицированной плазмидной конструкцией или инфицированной вирусом, получаемым согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым аспектам конструкция гAAV необязательно содержит промотор (показан на фиг. 1, панель (В)), энхансер, нетранслируемую область (например, 5'-UTR, 3'-UTR), последовательность Козака, внутренний сайт связывания рибосомы (IRES), сайты сплайсинга (например, акцепторный сайт, донорный сайт), сайт полиаденилирования (показанный на фиг. 1, панель (В)) или любую их комбинацию. Согласно некоторым аспектам гAAV конструкция содержит промотор, 5'-UTR и сайт полиаденилирования. Согласно некоторым аспектам гAAV конструкция содержит промотор, 5'-UTR, 3'-UTR и сайт полиаденилирования. Такие дополнительные элементы описаны далее в настоящем документе.

[0145] Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой конструкцию гAAV. Согласно некоторым аспектам конструкция гAAV может включать по меньшей мере 500 пар оснований, по меньшей мере 1 тысячу пар нуклеотидов, по меньшей мере 1,5 тысячи пар нуклеотидов, по меньшей мере 2 тысячи пар нуклеотидов, по меньшей мере 2,5 тысячи пар нуклеотидов, по меньшей мере 3 тысячи пар нуклеотидов, по меньшей мере 3,5 тысячи пар нуклеотидов, по меньшей мере 4 тысячи пар нуклеотидов или по меньшей мере 4,5 тысяч пар нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам конструкция AAV

может включать самое большее 7,5 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 7 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 6,5 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 6 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 5,5 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 5 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 4,5 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 4 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 3,5 тысяч пар нуклеотидов, самое большее 3 тысяч пар нуклеотидов, или самое большее 2,5 тысяч пар нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам конструкция AAV может включать от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 1 тысячи пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 2 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов, от приблизительно 3 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов или от приблизительно 4 тысяч пар нуклеотидов до приблизительно 5 тысяч пар нуклеотидов.

[0146] Любая из описанных в настоящем документе конструкций может дополнительно включать регуляторные и/или контрольные последовательности, например, контрольную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательности инициации транскрипции, последовательности терминации транскрипции, последовательности промотора, энхансерной последовательности, последовательности сплайсинга РНК, последовательность полиаденилирования (поли(А)), консенсусной последовательности Козака и/или любой их комбинацию. Согласно некоторым аспектам промотор может представлять собой нативный промотор, конститутивный промотор, индуцибельный промотор и/или тканеспецифичный промотор. В настоящем документе описаны неограничивающие примеры контрольных последовательностей.

[0147] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор

является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0148] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%,

по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0149] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91, и (iii) 3' ITR, где

промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 95, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию,

содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0150] Согласно некоторым аспектам конструкция дополнительно содержит минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0151] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит

конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к

полинуклеотиду.

[0152] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере

96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность

нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 95 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%

идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, имеющим по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0153] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0154] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99.

[0155] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного

вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5'

инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98.

[0156] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха (например, волосковой клетке), (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0157] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

[0158] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii)

полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, полипептид коннексин 26), функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

[0159] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

[0160] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере

мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 90 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 99 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

[0161] Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii)

полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 28 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 57 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно

некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 91 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 92 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 93 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты

с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 94 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 96 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере

мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 97 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам частица аденоассоциированного вируса (AAV) (например, частица Anc80) содержит конструкцию, содержащую: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид (например полипептид коннексин 26), функционально связанную с промотором, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 98 и минимальным промотором GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

Иллюстративные компоненты конструкции

Последовательности инвертированного концевого повтора (ITR)

[0162] Последовательности конструкции, полученные из AAV, обычно содержат цис-действующие 5'- и 3'-ITR (см., например, В. J. Carter, in "Handbook of Parvoviruses", ed., P. Tijsser, CRC Press, pp. 155 168 (1990), который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). В общем, ITR способны образовывать шпильку. Способность образовывать шпильку может способствовать способности ITR к самозапуску, обеспечивая независимый от примазы синтез второй цепи ДНК. ITR также играют роль в интеграции конструкции AAV (например, кодирующей последовательности, например, полинуклеотида, кодирующего полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26) в геном клетки субъекта. ITR также могут способствовать эффективной инкапсидации конструкции AAV в частицу AAV.

[0163] Частица гAAV (например, частица AAV2/Anc80) согласно настоящему изобретению может содержать конструкцию гAAV, содержащую кодирующую

последовательность (например, полинуклеотид, кодирующий полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26)) и ассоциированные элементы, фланкированные с помощью 5'- и 3'-последовательностей AAV ITR. Согласно некоторым аспектам ITR представляет собой или содержит приблизительно 145 нуклеиновых кислот. Согласно некоторым аспектам ITR представляет собой или содержит приблизительно 119 нуклеиновых кислот. Согласно некоторым аспектам ITR представляет собой или содержит приблизительно 130 нуклеиновых кислот. Согласно некоторым аспектам используется вся или практически вся последовательность, кодирующая ITR. Последовательность ITR AAV может быть получена из любого известного AAV, включая идентифицированные в настоящее время типы AAV млекопитающих. Согласно некоторым аспектам ITR представляет собой ITR AAV2.

[0164] Примером молекулы конструкции, используемой согласно настоящему изобретению, является конструкция «цис-действующая», содержащая трансген, в которой выбранная последовательность трансгена и связанные с ней регуляторные элементы фланкированы 5'-или «левыми» и 3'-или «правым» ITR-последовательностями AAV. 5' и левые обозначения относятся к положению последовательности ITR относительно всей конструкции, читаемой слева направо, в смысловом направлении. Например, согласно некоторым аспектам 5'- или левый ITR представляет собой ITR, который наиболее близок к промотору (в отличие от последовательности полиаденилирования) для данной конструкции, когда конструкция изображена в смысловой ориентации линейно. Одновременно обозначения 3' и справа относятся к положению последовательности ITR относительно всей конструкции, читаемой слева направо, в смысловом направлении. Например, согласно некоторым аспектам 3'- или правый ITR представляет собой ITR, который наиболее близок к последовательности полиаденилирования (в отличие от последовательности промотора) для данной конструкции, когда конструкция изображена в смысловой ориентации линейно. ITR, представленные в настоящем документе, изображены в порядке от 5' к 3' в соответствии со смысловой цепью. Соответственно, специалисту в данной области техники понятно, что ITR 5'- или «левой» ориентации также может быть изображен как 3'-или «правый» ITR при преобразовании из смыслового направления в антисмысловое. Кроме того, специалист в данной области техники способен преобразовать данную смысловую последовательность ITR (например, 5'/левый AAV ITR) в антисмысловую последовательность (например, 3'/правую последовательность ITR). Специалисту в данной области техники понятно, как

модифицировать данную последовательность ITR для использования в качестве 5'/левого или 3'/правого ITR или ее антисмыслового варианта.

[0165] Например, согласно некоторым аспектам ITR (например, 5' ITR) может иметь последовательность согласно SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым аспектам ITR (например, 3' ITR) может иметь последовательность согласно SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым аспектам ITR (например, 3' ITR) может иметь последовательность согласно SEQ ID NO: 8. НЕТ: 9. Согласно некоторым аспектам ITR включает одну или несколько модификаций, например, усечения, делеции, замены или вставки, как известно в данной области техники. Согласно некоторым аспектам ITR содержит менее 145 нуклеотидов, например, 119, 127, 130, 134 или 141 нуклеотид. Например, согласно некоторым аспектам ITR содержит 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144 или 145 нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам ITR содержит приблизительно 119 нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам ITR содержит приблизительно 130 нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам ITR (например, 5'-ITR) может иметь последовательность согласно SEQ ID NO: 52. Согласно некоторым аспектам ITR (например, 3'-ITR) может иметь последовательность согласно SEQ ID NO: 53.

[0166] Неограничивающий пример последовательностей 5' AAV ITR включает SEQ ID NO: 8 или 52. Неограничивающий пример последовательностей 3' AAV ITR включает SEQ ID NO: 9 или 53. Согласно некоторым аспектам 5' и 3' ITR AAV (например, SEQ ID NO: 8 и 9 или SEQ ID NO: 52 и 53) фланкируют часть кодирующей последовательности, например, весь или часть полинуклеотида, кодирующего полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексин 26). Возможность модификации этих последовательностей ITR находится в компетенции специалистов в данной области техники. (См., например, Sambrook et al. "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989), и K. Fisher et al., J Virol., 70:520-532 (1996), каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам 5' ITR последовательность на по меньшей мере по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентична 5' ITR последовательности, представленной SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым аспектам 3' ITR последовательность на по меньшей мере по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%,

по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична 3' ITR последовательности, представленной SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым аспектам 5' ITR последовательность на по меньшей мере по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности 5' ITR, представленной SEQ ID NO: 52. Согласно некоторым аспектам 3' ITR последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности 3' ITR, представленной SEQ ID NO: 53.

[0167] Согласно некоторым аспектам 3' ITR последовательность на по меньшей мере по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична 3' ITR последовательности, представленной SEQ ID NO: 116. Согласно некоторым аспектам 3' ITR последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична 3' ITR последовательности, представленной SEQ ID NO: 116.

Иллюстративный 5' AAV ITR (SEQ ID NO: 8)

TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGG
CGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCA
ACTCCATCACTAGGGGTTTCCT

Иллюстративный 3' AAV ITR (SEQ ID NO: 9)

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGG
CCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGC
GCGCAGAGAGGGAGTGGCCAA

Иллюстративный 5' AAV ITR (SEQ ID NO: 52)

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGC
CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGGGGTTTCCT

Иллюстративный 3' AAV ITR (SEQ ID NO: 53)

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGG
CCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGC
GCGCAG

Иллюстративный 3' ITR (SEQ ID NO: 116)

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGG
CCGCCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCCGGGCGACCTTTGGTCCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGC
GCGCAGAGAGGGGAGTGGCCAA

Промоторы

[0168] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим клеточно-селективный промотор, который можно использовать для регулирования (например, увеличения) экспрессии полинуклеотида, кодирующего терапевтический полипептид (например, полипептид коннексина 26), в клетке (например, клетке внутреннего уха, например, опорной клетке). Согласно некоторым аспектам конструкции обеспечивают пониженную токсичность, связанную с экспрессией терапевтического полипептида (например, полипептида коннексина 26) в некоторых клетках (например, клетке внутреннего уха, например, волосковой клетке).

[0169] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим клеточно-селективный промотор, который можно использовать для регулирования (например, увеличения) экспрессии полинуклеотида, кодирующего полипептид, в клетке (например, клетке внутреннего уха, например, опорной клетке). Согласно некоторым аспектам конструкции обеспечивают пониженную токсичность, связанную с экспрессией полипептида в некоторых клетках (например, клетках внутреннего уха, например, волосковых клетках).

[0170] Согласно некоторым аспектам конструкция (например, конструкции гAAV), которая содержит промотор. Термин «промотор» относится к последовательности ДНК, распознаваемой ферментами/белками, которая может стимулировать и/или инициировать транскрипцию функционально связанного гена (например, полинуклеотида, кодирующего полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26)). Например, промотор обычно относится, например, к нуклеотидной последовательности, с которой связывается РНК-полимераза и/или любой связанный

фактор и с которой она может инициировать транскрипцию. Таким образом, согласно некоторым аспектам конструкция (например, конструкция rAAV) содержит полинуклеотид, функционально связанный с одним из неограничивающих примеров промоторов, описанных в настоящем документе.

[0171] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой индуцибельный промотор, конститутивный промотор, промотор клеток млекопитающих, вирусный промотор, химерный промотор, сконструированный промотор, тканеспецифичный промотор, клеточно-селективный промотор или любой другой известный тип промотора, известный в данной области техники. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой промотор РНК-полимеразы II, такой как промотор РНК-полимеразы II млекопитающих. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой промотор РНК-полимеразы III, включая без ограничения промотор HI, промотор U6 человека, промотор U6 мыши или промотор U6 свиньи. Промотором обычно является промотор, который способен стимулировать транскрипцию в клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный для улитки промотор или промотор, ориентированный на улитку. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный промотор волосковых клеток или селективный промотор опорных клеток. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный промотор опорной клетки внутреннего уха.

[0172] Термин «конститутивный» промотор относится к нуклеотидной последовательности, которая при функциональном соединении с нуклеиновой кислотой, кодирующей белок (например, полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексин 26)), вызывает транскрипцию РНК из нуклеиновой кислоты в клетке в большинстве или во всех физиологических условиях.

[0173] Примеры конститутивных промоторов включают без ограничения промотор LTR ретровирусного вируса саркомы Рауса (RSV), промотор цитомегаловируса (CMV) (см., например, Boshart et al., Cell 41:521-530, 1985, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), SV40 промотор, промотор дигидрофолатредуктазы, промотор бета-актина, промотор фосфоглицеринкиназы (PGK) и промотор EF1-альфа (Invitrogen). Согласно некоторым аспектам промотор является конститутивным промотором. Согласно некоторым аспектам конститутивный промотор представляет собой CAG промотор, CBA промотор, CMV промотор, CMV/CBA энхансер/промотор или CB7 промотор. Согласно некоторым аспектам CMV/CBA

энхансер/промотор содержит нуклеиновую кислоту с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 12 или 13. Согласно некоторым аспектам CMV/CBA энхансер/промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым аспектам CMV/CBA энхансер/промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 13. Согласно некоторым аспектам CBA промотор содержит нуклеиновую кислоту с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 10 или 11. Согласно некоторым аспектам CBA промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 10. Согласно некоторым аспектам CBA промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 11.

[0174] Согласно некоторым аспектам CAG промотор содержит нуклеиновую кислоту с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 14 или 15. Согласно некоторым аспектам CAG промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым аспектам CAG промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 15.

[0175] Согласно некоторым аспектам регуляторные и/или контрольные последовательности придают возможность клеточно-селективной экспрессии генов. В некоторых случаях клеточно-селективные регуляторные и/или контрольные последовательности связывают клеточно-селективные факторы транскрипции, которые индуцируют транскрипцию клеточно-селективным образом.

[0176] Согласно некоторым аспектам клеточно-селективный промотор представляет собой селективный промотор для клеток уха. Согласно некоторым аспектам клеточно-селективный промотор представляет собой селективный промотор для клеток внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой характерный фрагмент клеточно-селективного промотора. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный промотор опорной клетки внутреннего уха.

[0177] Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток

(IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0178] Согласно некоторым аспектам селективные промоторы опорной клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из GJB2, GJB6, IGFBP2, RBP7, GDF6, PARM1, GFAP, BACE2, DBI2, FABP3, KLHL14, MMP15, SPARC, TSPAN8, VIM, их производных или их фрагментов.

[0179] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GDF6 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой PARM1 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой MMP15 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой VIM промотор.

[0180] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GJB2 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GJB6 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой IGFBP2 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой RBP7 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GFAP промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой BACE2 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой DBI2 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой FABP3. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой KLHL14 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой SPARC промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой TSPAN8 промотор.

[0181] Согласно некоторым аспектам их производные могут включать модифицированную родительскую последовательность (например, встречающуюся в природе последовательность промотора), одну или несколько частей родительской последовательности, фрагменты родительской последовательности и т.п.

[0182] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный промотор средней опорной клетки внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам средние опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких клеток латерального большого эпителиального гребня и внутренних клеток бороздки. Согласно некоторым аспектам селективные промоторы средних опорных клеток внутреннего уха выбраны из одного или нескольких из GJB6, IGFBP2, GDF6, PARM1, их производных или их фрагментов. Согласно некоторым аспектам селективный промотор средних опорных клеток внутреннего уха представляет собой промотор GDF6. Согласно некоторым аспектам селективный промотор средних опорных клеток внутреннего уха представляет собой промотор PARM1. Согласно некоторым аспектам селективный промотор средних опорных клеток внутреннего уха представляет собой промотор IGFBP2. Согласно некоторым аспектам селективный промотор средних опорных клеток внутреннего уха представляет собой промотор GJB6.

[0183] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки сенсорного эпителия выбраны из одной или нескольких из внутренних столбовых клеток, внешних столбовых клеток, клеток Дитера и внутренних фаланговых клеток. Согласно некоторым аспектам селективные промоторы опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха выбраны из одного или нескольких из GJB6, IGFBP2, RBP7, GDF6, PARM1, FABP3, BACE2, их производных или их фрагментов.

[0184] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха представляет собой GDF6 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха представляет собой PARM1 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха представляет собой GJB6 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха представляет собой IGFBP2 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия

внутреннего уха представляет собой RBP7 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха представляет собой FABP3 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорных клеток сенсорного эпителия внутреннего уха представляет собой BACE2 промотор.

[0185] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой селективный промотор внутренних фаланговых клеток. Согласно некоторым аспектам селективные промоторы внутренних фаланговых клеток выбраны из одной или нескольких из IGFBP2, GDF6, FABP3, BACE2, их производных или их фрагментов. Согласно некоторым аспектам селективный промотор внутренних фаланговых клеток представляет собой IGFBP2 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор внутренних фаланговых клеток представляет собой GDF6 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор внутренних фаланговых клеток представляет собой FABP3 промотор. Согласно некоторым аспектам селективный промотор внутренних фаланговых клеток представляет собой BACE2 промотор.

[0186] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой промотор, селективный в отношении интердентальных клеток. Согласно некоторым аспектам промотор, селективный в отношении интердентальных клеток, представляет собой IGFBP2, его производное или его фрагмент.

[0187] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GJB2 промотор. Согласно некоторым аспектам GJB2 энхансер содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 65. Согласно некоторым аспектам GJB2 энхансер содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 65. Согласно некоторым аспектам GJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам GJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0188] Согласно некоторым аспектам промотор происходит из GJB2 промотора и имеет длину 1000-1050 нуклеотидов. Согласно некоторым аспектам

селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GJB6 промотор. Согласно некоторым аспектам GJB6 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам GJB6 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из GJB6 промотор и имеет длину 700-750 нуклеотидов.

[0189] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой IGFBP2 промотор. Согласно некоторым аспектам IGFBP2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам IGFBP2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из IGFBP2 промотор и имеет длину 1500-1550 нуклеотидов.

[0190] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой RBP7 промотор. Согласно некоторым аспектам RBP7 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам RBP7 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из RBP7 промотор и имеет длину 1050-1100 нуклеотиды.

[0191] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GDF6 промотор. Согласно некоторым аспектам GDF6 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90. Согласно некоторым аспектам GDF6 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 90.

Согласно некоторым аспектам промотор происходит из GDF6 промотора и имеет длину 1150-1200 нуклеотидов.

[0192] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой PARM1 промотор. Согласно некоторым аспектам PARM1 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам PARM1 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из PARM1 промотора и имеет длину 1300-1350 нуклеотидов.

[0193] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит два или более промоторов. Согласно некоторым аспектам первый промотор выбран из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора, VIM промотора и любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам второй промотор выбран из GJB2 промотора или минимального промотора GJB2.

[0194] Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой GDF6 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой PARM1 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой MMP15 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой VIM промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2.

[0195] Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой GJB6 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой IGFBP2 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой GDF6 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный RBP7 промотор. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой GFAP промотор, и второй промотор представляет собой

минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой BACE2 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой DBI2 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой FABP3 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой KLHL14 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой SPARC промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам первый промотор представляет собой TSPAN8 промотор, и второй промотор представляет собой минимальный промотор GJB2. Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит GJB6, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам GJB6 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 16, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам GJB6 имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 16, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0196] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит IGFBP2 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам IGFBP2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 57, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам IGFBP2 имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно

SEQ ID NO: 57, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0197] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит RBP7 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам RBP7 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 28, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам RBP7 имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 28, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0198] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит GJB6 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам GJB6 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 16, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам GJB6 имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 16, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0199] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит PARM1 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам PARM1 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам PARM1 имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 40, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0200] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой BACE2 промотор. Согласно некоторым аспектам BACE2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым аспектам BACE2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из BACE2 промотора и имеет длину 1400-1450 нуклеотидов.

[0201] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой DBI2 промотор. Согласно некоторым аспектам DBI2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 93. Согласно некоторым аспектам DBI2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 93. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из DBI2 промотора и имеет длину 1450-1500 нуклеотидов.

[0202] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой FABP3 промотор. Согласно некоторым аспектам FABP3 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 94. Согласно некоторым аспектам FABP3 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 94. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из FABP3 промотор и имеет длину 1750-1800 нуклеотиды.

[0203] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки

внутреннего уха представляет собой KLHL14 промотор. Согласно некоторым аспектам KLHL14 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 95. Согласно некоторым аспектам KLHL14 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 95. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из KLHL14 промотора и имеет длину 1250-1300 нуклеотидов.

[0204] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой MMP15 промотор. Согласно некоторым аспектам MMP15 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам MMP15 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из MMP15 промотора и имеет длину 1000-1050 нуклеотидов.

[0205] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой SPARC промотор. Согласно некоторым аспектам SPARC промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 97. Согласно некоторым аспектам SPARC промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 97. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из SPARC промоторов и имеет длину 1000-1050 нуклеотидов.

[0206] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой TSPAN8 промотор. Согласно некоторым аспектам TSPAN8 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 98. Согласно некоторым аспектам TSPAN8 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 98.

Согласно некоторым аспектам промотор происходит из TSPAN8 промотора и имеет длину 1200-1250 нуклеотидов.

[0207] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GFAP промотор. Согласно некоторым аспектам GFAP промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 91. Согласно некоторым аспектам GFAP промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 91. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из GFAP промотора и имеет длину 650-700 нуклеотидов.

[0208] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой VIM промотор. Согласно некоторым аспектам VIM промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99. Согласно некоторым аспектам VIM промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 99. Согласно некоторым аспектам промотор происходит из VIM промотора и имеет длину 1050-1100 нуклеотидов.

[0209] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит BACE2 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам BACE2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 92, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам BACE2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 92, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0210] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки

внутреннего уха содержит DBI2 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам DBI2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 93, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам DBI2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 93, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0211] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит FABP3 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам FABP3 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 94, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам FABP3 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 94, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0212] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит KLHL14 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам KLHL14 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 95, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам KLHL14 промотор содержит последовательность нуклеиновой

кислоты согласно SEQ ID NO: 95, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0213] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит MMP15 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам MMP15 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам MMP15 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 96, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0214] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит SPARC промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам SPARC промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 97, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам SPARC промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 97, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0215] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит TSPAN8 промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам TSPAN8 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 98, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам TSPAN8 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 98, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

[0216] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит VIM промотор, и hGJB2 минимальный промотор. Согласно некоторым аспектам VIM промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99, и hGJB2 минимальный промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% с SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам VIM промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 99, и hGJB2 минимальный промотор имеет последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86.

Иллюстративный СВА промотор (SEQ ID NO: 10)

GTTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCA
 ATTTTGTATTTATTTATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGC
 GCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAG
 CCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGGCGGCGGCCCTA
 TAAAAAGCGAAGCGCGCGGGGCG

Иллюстративный СВА промотор (SEQ ID NO: 11)

GTTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCA
 ATTTTGTATTTATTTATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGC
 GCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGC
 AGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGGCGGCGGCC
 TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGGCG

Иллюстративный CMV/СВА энхансер/промотор (SEQ ID NO: 12)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCC
 CATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGA
 CCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCAT
 TGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCSTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTA
 CATGACCTTATGGGACTTTCCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG
 GGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATT
 TTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCG
 CCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCA
 ATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAA
 AAAGCGAAGCGCGCGGGCG

Иллюстративный CMV/СВА энхансер/промотор (SEQ ID NO: 13)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCC
 CATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGA
 CCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCAT
 TGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCSTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTA
 CATGACCTTATGGGACTTTCCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG
 GGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATT
 TTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCG
 CGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGC
 CAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTAT
 AAAAAGCGAAGCGCGCGGGCG

Иллюстративный СAG энхансер/промотор (SEQ ID NO: 14)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCC
 CATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGA
 CCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCAT
 TGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCSTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTA
 CATGACCTTATGGGACTTTCCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG
 GGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATT

TTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCG
 CCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCA
 ATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGGCGGCCCTATAA
 AAAGCGAAGCGCGCGGGCGGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCGTGCCCCGCTCCGCGCC
 GCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGACG
 GCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCT
 GCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC
 GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCT
 GCGGGCGCGGCGGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGGGCCGGGGGCGGT
 GCCCCGCGGTGCGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGG
 GTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTCGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGT
 TGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGCGCGGGGCTCGCCGTG
 CCGGGCGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCGCTCGGGCCGGGGAGG
 GCTCGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCGGAGCGCCGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGCAG
 CCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCAAATCTGTGCG
 GAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCCGCCACCCCCTTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCG
 CCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTGC CGCGCCGCGCTCCCCTTCTCC
 TCTCCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGG
 TTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCT
 TTTTCCTACAG

Иллюстративный CAG энхансер/промотор (SEQ ID NO: 15)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCC
 CATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGA
 CCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCAT
 TGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTA
 CATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG
 GGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCAATT
 TTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCG
 CGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGC
 CAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCCCTAT
 AAAAAGCGAAGCGCGCGGGCGGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCGTGCCCCGCTCCGCG
 CCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGA

CGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTAATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGG
 CTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGT
 GCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCG
 CTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGCG
 GTGCCCCGCGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGG
 GGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGA
 GTTGTGAGCACGGCCCCGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCG
 TGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCGCTCGGGCCGGGGA
 GGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCGCGGCGAGCCGC
 AGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCAGAGGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTG
 CGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCGCACCCCCCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGG
 CGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCGTCCCCTTCTC
 CCTCTCCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGG
 GGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTT
 CTTTTTCCTACAG

[0217] Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой GJB2 минимальный промотор, как представлено в SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым аспектам промотор на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичен последовательности согласно SEQ ID NO: 86.

Иллюстративный человеческий GJB2 минимальный промотор (SEQ ID NO: 86)

AAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCCCT
 CCGTAACTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTAAAAGG
 CGCCACGGCGGGAGACAGGT

[0218] Согласно определенным аспектам промотор представляет собой GDF6 промотор, как представлено в SEQ ID NO: 90. Согласно некоторым аспектам последовательность промотора на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичен последовательности, представленной SEQ ID NO: 90. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой последовательность GDF6 промотора, содержащую последовательность согласно SEQ ID NO: 90.

Иллюстративный человеческий GDF6 промотор (SEQ ID NO: 90)

CCACAGGTAAC TCCGTCGGCGTCCACAGGGGGGCAGGAGATACCATACTGCACAGTTGTA
 CGTCTTCCATCTGTTTGGTGTAGAAAAATCTAACCACTACAAGAATGCCACGGGCACTGTGGCA
 GACAGAAGCAGCGCTACGCCGCATCGCCTTTCAGCGTGCAGGCCCAGGAATGAGCGAGGCAGTG
 GCGGGGAAGACAGGCACGGGGAATCTGGGGACAGATAAAGGAAACTCGTGATGGGGCGAGGCT
 GGGCTGAAGAGAAACAGATTGGGGTAGAGCTGCAAAGGGAGGGGTCCACTGGAAGGCGAGGGGG
 GAGGCCGGGAAGAGAGAGGGTGGGAAGGCAGTGTGAGATGGGAGGGCAGTGTGAGAAGAAAAGC
 AGGCTGGGGAAGAGGGATTGGAATGCAGAAGGAACTTGGGGAAGGAGGAAGTCCTGCAGGCGGG
 AGGAAAGAAGAGAGGGGGAGCAGCTAAAGTCTGCGTCAGAAGAGGTTGGGACTGCGAGAGGA
 GAGGCTGGGGCCTGCAGGGGAGCGCAGCAGCTTTTAGCATCGATCCAACTCTAAAGACTCGTG
 GCCTTTGCCTGACCTCGAGGGTTCGGGAATAGACGCCTGTCTTTGTGGAGAGCGATACCCAACCG
 AGAAAATGGGGCTGTTCCGAGCTGGGCCCTGCGCCTGGCCCAGGGCGAGGCTTCTCTGGCTCCG
 GGCTGGCCCCTGAGGGGCAGCACGCAGCCTGCAGCAGAGGGCGCCTGCTCCAAGCTGTCTCTTGG
 GGGCGCCGCCCGCTTCCCTCCTCCGGGGCCGCTCGCTCCCAGGAAAGTGGAGGGCGGCTGGCG
 AGGACCGAGAGCCGGGGCCGCGCTGCGGAGGGACCACACCTCCGGGAGTTCGAGGGGGACCCTG
 GCGCGGCGGGCCAGCCTTTCGGGCCGGCAGCGCCCGCCTTCCCCCGGTCAGCGCTTGCGGCCCG
 CGCCGCGCGCACCGCCCGCAACCCCGCGCGCTCCCGCGGGGGCGCTGCGTCTTCTGCCACA
 CCGGCGCACCGCGGCCCTCTCCCCACACCTCCGGCCCGCACCCACCGGCTCTCCTCCCACCC
 TCCCCACCCCTCCTCTGCCCTCCCTCCCATTCCTCCCTCCCGGCGAGGGGGCGGGAGGGGGCG
 TGCGGGGGCCGGGTTTTGTGTGGCTGGGACCCGGCTCCTC

[0219] Согласно определенным аспектам промотор представляет собой человеческий IGFBP2 промотор, как представлено в SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам последовательность промотора на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности, представленной SEQ ID NO: 57. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой последовательность человеческого IGFBP2 промотора, содержащуюся в SEQ ID NO: 57.

Иллюстративный человеческий IGFBP2 промотор (SEQ ID NO: 57)

AAGAAACTTGCCCGAGTTTACACAGCTAGTAAATGGTTGCATTAGTCAGGACAGCTAGCC
 TATATTACAATAACAACCTCTCAAATCCTAATGGCTTAAAACAACAGAGGTTTAAATTTATACT
 CATTAGCTGTTCAAGGCAGGAGGCTCTATTCTCTAATCCATACAGTCACTCAGGATCCAGGCTG
 GTGGAGACCCTGCCATATTGTAGCCTCACCATTTAAAACATGAAGAAGATAGAAAGTGAGGAGT
 CATGTAGGTTTTGTTCCGTTGCCTCAGGCTAGGAGTGACAGGTCCTTCATCTCACTCACAGCT

CACTGCCCACAACACTAGTCACTTGTGACTGTGCGAGTTAAGCTTCTGTGTGTGAAGGAAGGAAAA
 GAGAATGGGATAAAGGTGAACATCAGCAGGCTCTACCACAGTAGTTTGAACCAAGACTTGAGCC
 TAGGTCATGTGGCTTCAGAATCTTTGCTCTTAATCACACTAAACAGCCTCTGTAAGTCATCTTT
 CCTTCATCCAGTGCCTAAGAACATGCAGTCCAATGCCCTCATCCTTCAGAAGAACTTGAGTGAA
 CTCAGAGAAATTGAGTAGAGTGCCACAGCATGCCCAAGGCCACACACCCTGAGGTTGGCAGTAG
 GTCCTGAGTTAGAGTTGTCATTTCTTGGCTCCCCTGGTAGTAGTGGAAGGTAAGGTTTTGACA
 TACTAGTTGGATGACCACGGGCAGGTCACTTAAATTGTCTAAGCATCGTTTGACCCTTGTAAGA
 ATTAAATGAAATAGCACCTGTAAAAGTGTCTGCACGGACTTACTGCTGTTAGTTTTGTTCCSTTT
 CTTCCTGTTGTCACTGCACTTCCCTGCCTGTTACCCAGGCCATGCAGACCAGCCAGGCCTTCGA
 CTTACAGTGCGGATAAGATTCCAAATCTCCACGGCTGGTTTTCCATGCTTTCTTCCAGGCTTCTG
 AGGACCCTGTGCTCTGGTTTTCTTCTATTTCTTTTCTATTACTTTTCTGTTACTCTTGAGCACAC
 TTGCTGGAAGCAATATGCATCCAGTTCTCCCTCTCTTGCCTCATTACACTTTGCAGAACAACCTC
 CAATCCCTTCCAACCAAGTAGTCCCTTTGAATTTCTTGTCAACCAAGGAATCTCTCTGACAGGG
 GTCTTTGTTAGGGTCACACCCCAGGAGATGGTTGATTATGGCTGAGTCCAGCCTGGAATGATGG
 GGGTTGGGGGCAGCTTGGGTAGATGACTCAGTAAATCAAACAGAACAATGAAAGGAGGTCATGC
 TTGTCCATCTGCATTATTGAAGACAGCCATAAATGGCCTTACCCCAGAGCGGGTCTGTCACACC
 TGGAGAGCTGATCTGACCTCTCCAAGACCCCTGCAACTGAGTGTCTGGGATCTGTCCTGCAAC
 AAGTGCCTCGAGATTTGTAGGTGGGGGCCAGAGGGAGGGGTCTGCAGACGAAGGGGGCAGGT
 TTTGCGGGGCACTTAGGGTTCTCATAGGTTGTAGTCACGAGCTCC

[0220] Согласно определенным аспектам промотор представляет собой человеческий RBP7 промотор, как представлено в SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам последовательность промотора на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности, представленной SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой последовательность человеческого RBP7 промотора, содержащуюся в SEQ ID NO: 28.

Иллюстративный человеческий RBP7 промотор (SEQ ID NO: 28)

CCCATGGCTCTGTAAAATCAAAGAAACATCTTTTCCAACAGCCCTTTCAAACTCCTCAT
 CGCATCTCACTGGCTGATTCAGTCATTTAAACCTGCTTCTCCCTAAAGCTGATCACTGGCTAAG
 СТААТАGGGTTTTCCGGGATTGGTTTAGCCTGATACTAATCCAGGTCTACCTTCAGGAGCCAGAC
 CAAACTGCCTATTGGCATTGCATTCTTGCAGTAGGGAGGGGAGGTATGGATGGTGTGGAGTCCA
 CCACAAGGTCCATGCCAGTCTTTGCTGAACCAGCATCAGACTCCATCAAGCAACAGATGAGAGG
 TTCCATGATAAAGTGGCCCTCAGCAATCCCCATCCATTGCTGTCTAGGAAGAACAGTGCTTGTA

CACAGGTTTAGGACCTCAGTCTTGGCTGTAATCTTCTGGTTTACTTTGCCAGCACCAAACAGAA
 GGAAAGAAAGGGCTCAAATTTGACCAAATAAATTATGCTTCTCCTTCCAGAGATAACCTTGAGT
 CCTGTCTAGGAAGATATTAGAATTGTAAAGAAAAAATAAATTAATCCTTATCCTATGGCAAGTG
 GAGTCTATGTCTACTTCAGCTGAAATTAAATCCTGTCCATAATAGATGACCCTTGCTCAAGCTG
 GCCAGAAGCCATAACCAACCAGCACGAAGGTTAAACTATTATTAGTTTTTTCTGTGATTTTCAT
 TTTCAGGCCAAGTTTTAGAACAAATAAGATTTTAAGAATAGGAAGTAAGTAAAGATTTCTGCATAT
 CCTGTTCTCTTAGTCAGCTGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGTCCTAACTCAGCCTCCCAAAG
 TGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCACCAAGCCTGGAATCTATGTCTTACAGTTATGAGAA
 TCAACAGCTAGCTCATTATGGGCAAGGTGATGTCACTCTGGCTTCTCAATGAAAATGGCATTTTC
 TCCCTTGAAAAGGTCATAGCCAGTCAGTCAGTCAGTCACGGGAGCGCAGCGGCTTCTAGGGGT
 GAGTGGGACCCACGCGGCCCCACCTGCTCCTCCCGCGCGCGGCCCCACCCCCCTGCCCCGCCCC
 GCCTGGTTTATAG

[0221] Согласно определенным аспектам промотор представляет собой человеческий GJB6 промотор, как представлено в SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам последовательность промотора на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности промотора, представленной SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой последовательность человеческого GJB6 промотора, содержащуюся в SEQ ID NO: 16.

Иллюстративный человеческий GJB6 промотор (SEQ ID NO: 16)

AAATAGCTTCCAACGTTTCCACCCCACCAGCCCTTGCACCACTCCCTGTAAGTGGCCCTGA
 GCTTTCTAGTCTTGACTGAAAAGCGGGGAGGCAATGTGGTCTCTCCTGGTGCCTGTCCCGAGG
 AAGGCCTGCTCCGCTTCCCCGGAGGAGTCTTCAAAGGATGGAGGTAATTAATAAAAACAACCCC
 TGTACCTCCTCTAAGTGGTCATTAATTAATAAAGAACCTCCAGGCTCCTATAGGAGAGGTCTGT
 GCACCCCGCGGGCTATGAGAAGGCTGGATCACCCAGAAAGACTGAGGATGTGTCTGGCAAAAA
 CACAGCCTGCCCTCACACTGCTCCCCACGGGTGCACTAGGGAGGAAGAGTTCCTCGAGGGCC
 TGAGCAGGCGCCCCACACCTGCACCCGTGCAGAGGGGGCTGGGCCCCGCTCTGCGCTCCCGAG
 GGAGAGCCCTACCCCTGCATCCCCGGTACCCCGTTCCTCCAAGGGCCGGAAAGAGGGCCCCG
 CGCACTGTGCACTTCTTAGGGGTCCCCACCTGCGCCCCGCCACGGGAAAAAGGTCCCCGCT
 CTGCGCATCCGGCCCCGGAGGGACAGCCCCGGTCTGCACTCCTTGCTCCTCAGGGGGACGGTC
 CGCGCCCAGCGGCTAGTGCGCCCGGGTAGGTGGGGGCGGGGGGCTCGTCGAGTGACAGCGCTC
 GCCTCCCCGAGCCCGCCGAGCCGCGTCAGGGCAG

[0222] Согласно определенным аспектам промотор представляет собой человеческий PARM1 промотор, как представлено в SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам последовательность промотора на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности промотора, представленной SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым аспектам промотор представляет собой последовательность человеческого PARM1 промотора, содержащуюся в SEQ ID NO: 40.

Иллюстративный человеческий PARM1 промотор (SEQ ID NO: 40)

TGTACAGGAGATAGTCAGGGAATTAGTAATTTTCAAAGAGGTGACTTTGAATTCAAACTT
 AAATATCATCTTCAGCTGAAACAAAGAAGGGGTGCAGTTATGAGGAAGTGACCAGGTAAAGCAT
 GGCAAACAAAGGTAAAGTTTGTATGCGTATTTAAGTCAGAGCCCTCTCCATTGATAAGAGTTT
 CCAGTAATTTAGTGCCATCCTTTTCTTGCTATAGAGTTCTCGTCTCTATCTGAGCACGCAAAAA
 TAACATGCTTTCTTGCTTTCTTGAAGTTGGGCATGGCCATTGACTTGCCTTAGCCCATATTTTT
 CTGTGAAGTGGTCTTCAAAAACCTATATTTCTGCCATAGAGTCACTTACTTAACCTGCCCTATT
 TAAAGGGGCTAATGCCTGATAGAATGTCGCTGCATAACTCCATCTGTGTGTGGTCCCTGCATCC
 ATGACAACCAAAACCCAGATGCAGAAATTGTTCCCTAATCACATAGATTACCCTAGAAACCGGAA
 GGGCCTTGAAGTCAAAGCATTCAGAGAACATGCTGAACAAATTGAATTTGCAGTTTATCTGGC
 CAGGGAGGATGGAGAGGGGATGGGCACTTGGTCTGAGTATTTTTTGTCTCATTTCCAACAGAA
 ATTACTAGATTTACCAAAAAATCTACAAGTGGTAGTGTGATAGAGTCAGGCAGAGGAATTGACC
 ATAGATAAGGTGCTCAGGACTCCTAGAGTCAGCTTCTGGTATGTGAGAAAGAAGTGAGAACAGA
 GCCCATGGCATATGAAGAAGATATTACAGAAAAAAGAAAGCTGCCTTCCACGCAAATCATTTCT
 TTACAAAGGCTTGTTAACTCCTGCAGTGCCAAGAAGCTGAATGCAGCGGCAGACATCCTGGTTC
 GGGCCCCAGGAAGCTCAGCCGGGTTTAAATGTGGATGAGGGTTTAAATGATGTACACGCAGAAGTG
 TTTTGACAAATGAAGAAGTCTCATTCTTGAACATGTGCCGGTTCTCCGAGGGAACCTCCTAA
 AAGGCTGTAAGCTCATGTAGGAAAAGCTGAGCTAGATTCCCTAAGGGCAGAGATGTGCTCACATT
 TCTTTGCATCCCTAGTTCCCAGCACAGTGCAAGGCGCTGCAAACATTTGCTGAACCCAGGGTCT
 CGTGTCTTGAAGTGTCCAGCAGAGGCCGCTCTGGGCCGGGGCTCTCGGGACCTGAGGGCTGAGAG
 AAGGAAGGCCAGGGGGTGGCCCAGTCATCGCCGCGGGGCCGGGTGGGAGGGGTTTGGCAGCGG
 CAGGCGCGGCGGGCGGGCGGAGGCGGAGGCGGCCCCGGG

[0223] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой BACE2 промотор. Согласно некоторым аспектам BACE2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере

85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым аспектам BACE2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 92.

Иллюстративный BACE2 промотор (SEQ ID NO: 92)

TGTGCTGCGAGGGCTTCATCTCCTAAGCACTAAATGCTAAATCCCCCTCCCA
CGCCCATCGCCACTGTCCTCACGGATCCTCGCAGCAGCTTCCCAATCGGTCTCCCTG
TCTCCAGCCTCACCACCCCAACTAAGACCATTCATGAAAACAGAGACAACCAAGG
AGACAGTCACCCAATGCTGTCCCTTCAGCTTGCATTATTTTCTGACAAGACAGCTCT
GCCATCCATGGAAGCCTGTGTTTGAAGATCTCTGACATAAAGGTCCCTTGCAGAGCT
AGACGTGATTCTAAAATTGGGAACACAGGAATAAAAATCAAATCTTGAGTAGAAGT
AGCTGAAAATTGCAGTGATTCGGGGAAGCTTGGCTTCTAACTCCCCACTGTTTGAAG
ATGGGCTTGTTTGTTTTTTAAAACAGCCAACATAATTCAGCTGGAGGAGGTACAAAG
AATTTTCTATTCCTTGTTTCTGTAGAAATCGATGGACTTTAGCTTGTCTAATTGTCCC
CCCTGCCTTTAGTATCTAAAATAAAAATAACCTCGTTGCTTGCATTACTCAACGCATT
TCTGCGTCTTGGCGTCTATGGCTAAACGAGTATTAATTAGACAGTCCGCAGAGAGCT
GGCTGGGGATAGAAGGGGAGGTGGGGGAGAAGGGCAGGGATCACAGCAGGGTGGGA
CTCGTGGCCCTGATTTGGGATCCTGACAGCAACTTACTAGGTGGCCTGAGGGCTGGG
TGCCAGGGGAGGCAGCGGGTTCCAGTAGCATCTGACCTGCATTAGGGACAGGGGCG
CGGCGGAGGGGGCGAAGGGGGCGGGGGTGGGGGGAAGGTGGCTGGGGTGAAGCCC
AGCTTCGCAGCTAGCTGTGGGCAACAGAGGGAGTAAGGGGGGGCAATGAGGCTGG
GGCCAGGCGCCAGCAGCAGCCACGCCCCCACCTCCCCGATTTTTAGGGAAAATTC
TCCAAAGCTCTCGCATCCTCCTCTGCCTCCTTCCACCCTCCACCCTCCAGCCTCCAC
TGAGACCTCTTTAAAACCACCCAGGGGCGCCGGGGGATGAGGCCGGGGAACGGGC
TGACTGAGGGCGGGGGCTCGGGGGCAGCGGACGGGAAACGCCTCGAAAGCAGCC
AGACCCGGCGACTGAAATGAGGCGGAGGAGCTTGGCGAGGGGAGGCGCAGGCTCG
GAAAGGCGCGGAGGCTCCAGGCTCCTTCCCGATCCACCGCTCTCCTCGCTGACCTC
CGAGTCACCCCGGAAGCTCCCGCCACTGCCGGGCGAATAGACCCCGCGGACCCC
CAAGCGCGCGGGGCCGGGGCCCTAGTTCAGGCCCTCGCTGCCCTTTAAGGGTTCTC
GAAACTTTCCCCCGGTATCAGATGAGCCTCGTCACATCCGTTGGCCGTGGC

[0224] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой DBI2 промотор. Согласно некоторым аспектам DBI2

промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 93. Согласно некоторым аспектам DBI2 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 93.

Иллюстративный DBI2 промотор (SEQ ID NO: 93)

GAAGAAACCTGCATTTCTTACACTTCAGTGTACTTTCCCCATATTTAACTCCA
AGATTTTTGTAAATTTGTTTGGTTTTCTTTCTCAAACAAAATTATGCTCAGACTGAA
AACCTAGATTTGTTCCCTATTGCATCTTCATTTCTCCCAAACATTCCATAAAACGT
GACCTACATTAAGTTAGCAAGTTAAGTCTGAAAGCGTCTACCTTCCCTGGGGAGGGG
GAAGGTGTAGGCAGGGCAGAGATTTGTAGTCCAGCCCTCTTGCCACAAATTATGAA
TTAGAGAGGAATGACTTTGCTTTTTTAATGATCTCCAGAGAATTTTCCATCATTTC
TCTCTCACCCAGCTCCTTTGCAACCACTGCCAGAGAAGTCTTCCTTTAGCTTCTTAA
ACATCGATCCTAAAACACTTCCAGACACCTGTGCTGCTCCTTTCAGTTCATGGAG
ATTAGGCTGTGTAACAATCTCGCAAAGACGTTCCCTCCGTCTCCTCATCCTCTTTTC
AAACCCTTTTACGATTTCCCATCTCACTCAGCATGACAGTCAAAGTCCCTGTGATGG
CCAACCTTCTGCATCACCTAGCCAGTCTGCCACCGCCAAAACCTTCCAGCCTCATCTT
ACACTTGTCTCTGCTTGGAAATCTTCCCTCCCCTCCTTGAGGAACTTTCTCAAATGTC
ACCTTCCCTCAATACTCCCCCTCCTCCATTTAAAACATAAACTTCCAACCTCTCTAAG
CCCCTAAAGTACTCTATATTTAACTTATTGTATAAACTACTGTCCTACTTGTAAGTT
CCAAGATTGCAGGGATTCACCCGCTTTGTTCACTGCTGTCTGCCAAGGTCTAGAACA
GTGCAAGTTACCCAACAGGAGTTCAATAAACAGCCATTCATTTAACAATAATTTGCT
GAGCACTTCGTCCCGTCCAAGTTTGTAAATCAAGACAAATAAGACACCGTCCCTGC
CTTTAACGCACCAGATGGAGAAATGCACCACAGACATAAATGTGCAATACAGGCCT
GACACTACGGCCACAAGCAAGTCAAAGAACGTGCCAAAAGTTCAGAGGAAGAAGC
CTCGGCTTCGCCTTTCGGGAGACCAGTCCAGCTTTCCACCATCACGCTGCTCATCAG
GGACCATCTCCGGGGGTCTCCTCTAGACCCCAAGGGAGGAGCGGGTCCC GCCCGCC
ATTCCAGGTCTCAGAGTTTACTTGTCCAGAGATGCAACTTCCGGCCTCTCAGGCC
GGGCAAGATTTAAGGAAAGAAAAGAAACATAAGGACCTCCGTTCTTCGGTCTCCGT
CCCCTCCCCTTCCCCCGCGTGCCCCACCTGTTCCCGGCGTCCCCTTCGGTACTCCCG
GCGTTTGCGCAAGCGGTCCCACGTGGGCTCGGGCGGGGCTAGCGCCGCGGGCGGGG
CTGGGCACGCCCTAGCGCATAGCTGGCTTCTGATTGGCTTTCC

[0225] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой FABP3 промотор. Согласно некоторым аспектам FABP3 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 94. Согласно некоторым аспектам FABP3 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 94.

Иллюстративный FABP3 промотор (SEQ ID NO: 94)

TACCATTCTGCCTTTCACCTGATGTTGCTATCCTCCTCCCTCTTGTTTCCTTCCA
 CCCATCCTTTCCCTCCCACATTACTCTTTATCCCACCCTATTTTACAACCAGTAGCC
 TAGGGAAAAGAGCATAGCTCAAATGAGGAAGAAGGCAGGACAGGCAGTCATGGCT
 TAGCTGGACTGAGCTGCAGTGCTTCTCCTTCTGGGGAAGGGGGTGCACCTGTCATCTG
 CТАCTGACACATCCCTCCAAGGCACTCAGCCCTGCAGGGAGCAACCTGATTCTATGA
 CTGACATCTAATCTTCACATTCACCTTGCAGGAAGGCAAGAAGTGATCCCAGCCTCC
 AGATGGAAAGATCAAGGCCCAGAGAAGGTCAGTGGTGGTTGGAGGCCTGAGGTCAC
 ACAGCAGCCAAGTCTGGAGTCACTAGTCAAGGTGACCTTGACTAGCCACCCACCTC
 CCCTTCCCTGCCCCACCATGGCCCTGGGAGATCTGTTGTCCTGTGAGGGAAAGGGGC
 TCCAGGCTGGGCTGCATCTGAAGCCCCTAGATCCAGAGACTTCATTTCTTAGGCTAT
 CTATAAAATCCACCTTCCTTTCTTTTCCCAGGACCCCCATAACCCTGCTCCCAGCATCG
 TCTGCCTCAGCTAAGCCATGGGGATTGAGAGACCAGGCCTGGTGCCCAGATAAACT
 GACCCTGGGTGAGGGGACAGGGGCCAGAATGGGCAGGTAGAGACTGAATACTGA
 AGAAGAATCCTCTGGAGTCTGTTAGCAGAAGCAGATGGGCCTTGCCTGACTATTGGC
 AGGCGGACCTGGTGGTCAGACCTCAGTGATCCTCAGGGACCAGTGAATATTTCAGG
 CTGGGGCTGAGCATCACCTGCTCCCTTGGCCCCACTTATAGGGCAAAGGGGAGTCTA
 CCAGCCTACTCACTGATGACAAACTGGAAAAGTTTGTCTGTCTCTGCTCTGGCCCC
 ACCTCGCCCTCTCCCTACTTGGAAAGTTCCTTTCTGAACCACTGACTGCCAAAGCTT
 GAGGGATTAATAAATCATCTGGCCCAACCTCCTACCATAGAGTTGGGAACACTGA
 AGAAAAGAGACTGGCCCAAGGTCACAGAGAAGGCAGGGTGAACACTGTCACAGGG
 AGAGCCAGTGTAGAATAATGGTTAAGCCACGCAAGCTCTAGAACCACTCTATCTGA
 GTGCAAATCCTGGCTGTCATCTGGTACTTGCTTCCTGGAACACATCTGGCCTCAGAC
 TCCTGAGGCCAAGACACACTCCCTGCCCTAAGACTTGCTGGTTCTATGGCAGGCAGA
 GGCAGAAAGAGCCCCACCATCATTCCCAGCAAATGGGAAAAGTTCCCAGTTGCAGA

TATTAGGGGTGGGATGGGGCGGGGGTAGTCAGCAACCATAGACTTAGACCCTGAAG
 AGGCAAAAAGGAGGGCCATGTTCTTGGGTCAGCAGAGCTTCTACTCAGCTTCTTCA
 GCCTCTAGCTCTTTCCTGGTGCTAGTAGCACATTCTCTAGTGGAGGCATCCAGATGG
 CAGGGAGGGTCCAGGAAACAGCTGAACATGCTGAGCAGGCCTCCCTTGTCCCCGCT
 CCCCATGGCCCCATGGATCATCCGGTGCTGCAGCTCATCTCATTGGCTGGCTTCTGG
 TTA CT CATCTCTCCTCTTCTCCATCTTCCCAGCCTGTGGTTGCCGTGGAAACATAGAA
 CAGTGACCTCACCATAGGATGAGGGCTGGGGAGATGCTGTTCTTGGCAGGCGCT

[0226] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой KLHL14 промотор. Согласно некоторым аспектам KLHL14 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 95. Согласно некоторым аспектам KLHL14 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 95.

Иллюстративный KLHL14 промотор (SEQ ID NO: 95)

GAAACAGCAGCCATTGATGTAGCTCAGGGTTCTGTGGATCTGTCATTTGGAG
 CATGTTGGTTCTCCTGTCTCAGCTGGGCTCATTCATGCATCTGAGTTCAGCTATTGGG
 CAATCTGGGGAATGTTTTGTCCATGTGATGTGTCATCTTCTACCAGGCTAGCCTGGG
 CTTCATCACATGGTATCTGGCAGGGCTCTAAGAGGGAGAGTTGAAACACACAAGGC
 CTCTTGAAGCTTAGACTCAGAATTGGCACAAGGTCGCTTCTGGCACATTCCATTGGT
 CAAAGCAAGTTACAAGGCCAGCTCACATTCAAGGATTAGGTAAGTCGATTCCACTCT
 TGATGAGAAGTCTGAAGGATTTGGAACAGTGTCCACCATGCAGTAATAAACTCAAT
 AAGTAGTAGCCATTATTATTCTGTTAGAGGTTGCCAGGAAAAGTTTTATAGTGGAAA
 GAAATCTGAGTTTACTCTTGAGAGGTAAGTGGAAATTTCTATTTGTAGAGAATGAAGG
 CCTCTCAAAAAGACACAGCCTAACAATAGGTGCTGCAGTTTAAACAGTGGAGCGTGT
 CCAGAACAGGCTGCCCTTTTAGGCAAGGGCTAGTGTCTTTCAGGACAGACCCAAAC
 CCCAAATACCAAAACAGAATAAAGTAGTGTCTTAGCATACTTTGAGATCAGACTGTT
 TCTGCATTTACAGTGCTGGGGGTGGGGGGGAGGTGTGGGGGGAAGGGAAAAGCA
 GCATACCAATGTAGTGAAATCTGGAAACAACAGCCAAAAAAGTTTGCATATTGCA
 CAGAGCACTTGAAGATCATAAATCTATGCATGAGAAAGATGTAGTGGAAATTTTGG
 GGGGATTAGAGTTTATTTTTGTTCATCTCTGTGAGACAGCTACTCATTCATCCAGATC
 ACAGCTAAGAAAAAGCTGGTCACAGAAATTAGCAGTTTCAGCTCAGCAGCGAAGT

CGCCAGCCTGTGAAGGCAGAGAGAAATTGACTAATTAGCAATGCGCACTAAAACCTT
 GACGGTTCTTTATAGAGAGAGAGAAGAGAGAGGGAGAGAGAGGGAGAGGGAGGGGA
 GGGGGGGCTCGCTTTTTCCCCTTCTTTCTTCCAAAGATGTTTGAAATCGCAGTCATTT
 ACGCTCGACAATTTTTACAATAGCCTTGAGCCATAATTTTGCAGTCTCTCCAGCAT
 CCATCCCCCTGTATGGTCTCTCTCTACTGGCCAAGCACGACCGTTTCTCTCCCCAACC
 GTGGATTTCCSTATT

[0227] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой MMP15 промотор. Согласно некоторым аспектам MMP15 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96. Согласно некоторым аспектам MMP15 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 96.

Иллюстративный MMP15 промотор (SEQ ID NO: 96)

CCTTCCTCCTCCAGGGCCCTCTGCAGACCAGGCTGAGATGGAGGAACCTGCT
 AAAATCGATGGAGATGCTTCTAGCCTCCCAGTAGGAGGCCCCAGCCATGCCTTCAAC
 CTGGCAGGAGGTGTAGCCACTCCTCATCCTTGGGTTGCAGGTTGGGTGCTGCTGTTG
 TGGTCCTTCCCAGAAACTGCCAGTAGAGGGCAGCCTGGGCATCCTAATGCTTACTCT
 GGTGTTACACAAAGAAAATATTGGGGTCACTGGCGAGCCCACCCACACTCACCAG
 AATCTCCACTGTAGTCCCCCTAACAAACAGCCCTTCACTTCCTCTCCCACTTCAGCAA
 TTTGTATTTTGATGCCATTGGCCTCAGATCAGAGTGTTTTAAATCATCACGCCCTGGC
 TTATCCCTGGTCGAGCCAGGACACGGGGTGCTTCAGTGGGTCTGTCACCCCTCTCTCC
 TTGAAGCATGTTGCTTTTATTTATTTACTTTTACTCTCACCCCTGCTCCTGTACCAGCA
 GGGGCCACTTCAAAGCCAAGGTACAGGGTGATAACTTGTGGTCCAGCATCAGTTTTTC
 TCCACTTCTTTCTCCCACTCACCCCCAGCAAGGTGCCTGGGGAGACTTGAGCAGATG
 TTTCATTTTGGCCTGGCCAGTGGCTGAAAGCCAGGCCTCCAATGCACTGTGACCTCT
 GGCTTCCCCAGCAGCTTTCCCAGAGAGGCAGAGGGAGTCTTCATTCTTCCCAGGCGG
 GGAGACCACGCCTTCCCTGCCTCCTCCCTCCGCGGGGGTTCGCGTTGGAGGTCACCC
 CCGCCCCCTAGGCGCTGGGTGGGAGTGACGCGGGGTGGGCTGGAGAGGTTTCCTG
 CCGTCTGGGAAGCGTAAACGGACCGCCACCTGTTCGGCCTCGGCCGCCCGCACCT
 GCTTGTGAGAAGCCTGCGGCTGGGGCACCGCCCCCGGTCCCCGCCCGGGTCCGCGC
 ATTGGGAGCACACTGGCCCTTTAAGAGCGCGGGCGGCCGCGCGCGGG

[0228] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой SPARC промотор. Согласно некоторым аспектам SPARC промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 97. Согласно некоторым аспектам SPARC промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 97.

Иллюстративный SPARC промотор (SEQ ID NO: 97)

CAGGCTACCTCTCAGGCTGACTGAGTCATGCAGCATAGGCTGCCACGTCTCTG
 GGCTGGCGGGGCCGTCATTATTCCTGGCCTCACTGCAGCTAAATTGAAGAAACGTTT
 GGTTTGTGGGCCACGTCAAGGAATGTGTAAGAGCTGCCACGTTGTCGGGTCTGGGTT
 ATTGGGCTTTTCCCCTCCTTCAGAGAAGATTTCCAGGCGTGTGGGTGGGGTTTCAGA
 AGAAAATTGATGCCTGCGTGTGAGTGTTCCTGGACCTGGACCAGCAGCGGCAATA
 TTACAGACCCGGGGGTTGGGGCAGACTGAGCCAATCTCTGCACCGTCAAAGTTATG
 GATACAGAGCCCTGGAAAAAGGCTGAAGGATAAGATAGCTGACATTTATGAAGTGC
 TTCATTCATGTAGCAGTGGGCCAAATGCGTACTTTACACTTGAGGAAGCTGAGGCTG
 GAGGTTGATAACATGCCTCAAGTCTTCTAGAGTTAAATAACTTTGACCCAGGACCCA
 AGCCCAGAGTTCTGACTCAAAAAGCTAGGCCTCCTAAACATCCTCTTATATGAGGTTA
 AATTCATCTTCCTCTGTTTGGCCTTGGCCTGGTTGGTGGATGCTCTGCTTCGGGGAC
 CCAGGGCCAGATGACAATGGGTCTTTGTGCCCTTCAGACAATGGGAAGGGCTGCCT
 GGGGAAAGATACAGTAACAAGGCAACAGGCTGAGTCAGCCTCCAATGTGCTTGAAC
 CTTCTTAGCTTGGCAGCCTTGACATTCAGCCAGCCACACAAAGGGTATATCAAGGAT
 GATACCACTAGTAGCAGCTTGTCTTGTCTGTACCTCTGAACAAGAAAGAGGCTGTTC
 TGGGTCATCCCTCCAGGCCTGTCCAGCCCTGGCACTCTGTGAGTCGGTTTAGGCAGC
 AGCCCCGGAACAGATGAGGCAGGCAGGGTTGGGACGTTTGGTCAGGACAGCCCACC
 AGGAGGAAAGAAATGAAAGACAGAGACAGCTTTGGCTATGGGAGAAGGAGGAGGC
 CGGGGGAAGGAGGAGACAGGAGGAGGAGGGACCACGGGGTGGAGGGGAGATAGA
 CCCAGCCCA

[0229] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой TSPAN8 промотор. Согласно некоторым аспектам TSPAN8 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере

97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 98. Согласно некоторым аспектам TSPAN8 промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 98.

Иллюстративный TSPAN8 промотор (SEQ ID NO: 98)

CCAAGGACTCTTTTTTCTAAACTTCCCTTCATCTTCTAGTTTGACGCCCTTGGT
GGGAAAAGTGTCTGAGATAAGGAAAAGGCATCCTTTCAGTTCTCTGATACTATCTTG
AAGCGAGGGATGGAGAAAGGCAAAGAGAGACACAGGAGAAGCGTATCCCCTGGGA
ACAGGTGTCTAGTGGAGTCCAGTAACTCACAGTCTCTCAGTTCCGTCAGCACTGTCC
CTTGGGTCGCAAATTTCTTCCATTAGCCCTTCCACCAGCTGTATTTCAAATGGGGCTG
GACAATAATTGTGGCCAGTGGCCTTGTGTTGTTTGTACTTGCGGACTAGTAGTTCTC
ACCTGTCTTTCTCTGACTCCTATTAGCCACTGGGATTTTCAGCAGCTGGTTCAGCCAAT
TCTACTCAATTCAACATTAAGTTGCAGTGGGCTAGAACTCATGGGCCGATTTAACAA
GTGAAATTCTACCAAGATACATCAAAAATAGCAACAGGACTAGATACTCAGCTCAT
TTTGTTTTATTTGTAATATAACCAGTTGTGGCTTTAGTGCCAGTCTGATTCATCTCTCTA
CTACAAAATGAGGCTCTATAAAGGAAAATATTGCAACTGGAGTGAGGAATTTGAAT
CTTATAGGAAGGAATTTGTCTTCTCATGAAGACTTCAGTTTACCAGAAGTATCTATT
GAGGAAGTGTTTACAAGAAAATGTGCCATTTAGCTTTATTCTAAATTTGCATAATAA
CTGAACCAAAACAAAAAATATAGATAGATAGATTGTTCTATCTATAGATAGATAGG
GAACATTGGCAGTAGGTGGCAGTAAGTCCCCTGAGCACATGGAGGACACAGTTAA
ATGCATTTGAGGTATGTGGGAAATGGTTTAAAGCAGAATTTTATGCCAACTTTTAGT
AACGGAAGCCTAACAAATGTTTGTCTTTCAAGTGAGAGAAGCAAGCAATCTGGAA
СТАТTCATAAGCTTATTTTCTGTATCCTTAAACATATTTTATAATGAATGTATGATTT
AAATAGTAAGTTAAGTGTCTGGGGTACTGCACACCTCCCTTGCATACAGTCAAAC
TCTTCAGGGTGATGGGGAAGAGGAGTTATAGGCTGCCAAGCAAAATTGCCAAACTG
GTCTCAGAAATTCACTGCATTGGAGAGCGCGGGATCCTTGCAACACTGACTTTAGCA
GTAAACTAGAGTGGTTGGGGATGAGTATTCT

[0230] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой VIM промотор. Согласно некоторым аспектам VIM промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99. Согласно некоторым аспектам VIM

промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 99.

Иллюстративный VIM промотор (SEQ ID NO: 99)

ATTCACAATGCATTCCCTCTGCCACCACATTAATTATCAACTCCTTTTCCTGG
 CATTTACTCATCCAACGCATGGCCCCACGTAACTTTCAGTTCCTTTCTCCCCTACA
 AATACTCCATAATCCAGCAACCCTGGGATCCCTGAGATGATGAAGAGGACCAGTGC
 CCATTCAGGAGACATCACCGCAGCCCTGAGGAATCGGCTATGGGCACCAGCAGGG
 CACAGTGCCACACCTCGCCAATGCCTTGTCTCCTTTTCCATAGTGAGTCAGTCAGC
 AAGCGTGTAGAAGTGAGTTCCACACTCTCTTCTCCCATAGGGAGATCACTTTTCTC
 ATTCTAAGGGTTCCAGGCACACTCACAAATGGTGGCATTGCTGAGCAGTGGCTTGAA
 TAAAGGGCTCTCAGAAAGCAAGATGTAAGTCAAGAGCATAGGCTAGCCCCAGGAATG
 CTCTTGGGGAATGACCTGCAGCCTCCCAGTGAAAGAGAGAATAAAAGAAAGCCCCA
 GCAGGCGAGCTGGGCAGTAGAGAGTCCTGTAATTCCACCTTGGCAAGCACCATTG
 CAAGAACGAACTGGGATAAGGTAAACAAAATATTGCCTAAAAGAGGCTTGTCCAAA
 GAAGTCAGAATACGCTCTTCATTTACCTCTAAATTTTCAGTACACCATAAATCTAAAT
 ACTCAAAAAACCTGTGCCTTTTCAATCAAGGTCAATTGCACGAATTCTTTTGGAAA
 ACAGGACSTATGGCATTTCAGACAAATCACCGTGAACCCTGTAAGTGTGCATTGCT
 GTCCTAAAATCCAAAGATTCTGTTCATTTGTGTTACATAATTGCCTTTCATTTGAACTC
 ATTAATCAAATTGGGGTTTTTAAGCAACACCTAATTAATTCTTTAACTGGCTCATCCA
 CTGATCACTGAGTTCTATTTTGAAGTACGGACGTCGAGTTTCTCTTTTACCCAGAA
 TTTTCAGATCTTGTTTAAAAGTTGGGTGTGGTTTCATGGGGGGAGGGGGAAGAGCG
 AGAGGAGACCAGAGGGACGGGGGCGGGGACTCTGCAAGAAAAACCTTCCCGGTGC
 AATCGTGATCT

[0231] Согласно некоторым аспектам селективный промотор опорной клетки внутреннего уха представляет собой GFAP промотор. Согласно некоторым аспектам GFAP промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 91. Согласно некоторым аспектам GFAP промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 91.

Иллюстративный GFAP промотор (SEQ ID NO: 91)

GAACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGG

CCTGAGCTGGCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAG
 CAGACCTGGCAGCATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCCAGTGA
 ATGACTCACCTTGGCACAGACACAATGTTCTGGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGC
 CGCACCCCAGCCCCCTCAAATGCCTTCCGAGAAGCCCATTGAGCAGGGGGCTTGC
 ATTGCACCCCAGCCTGACAGCCTGGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGCCCCCTA
 GGGGCTGCCCTTGCTGTGTGGCGCCACCGGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTCAGC
 CTGTGCCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCCCAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGG
 GGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCAGAAAGTCCAAGGACACAAATGGGTGAGG
 GGAGCTCTCCCCATAGCTGGGCTGCGGCCCAACCCACCCCTCAGGCTATGCCAGG
 GGGTGTTCAGGGGCACCCGGGCATCGCCAGTCTAGCCCACTCCTTCATAAAGCCC
 TCGCATCCCAGGAGCGAGCAGAGCCAGAGCAGGTTGGAGAGGAGACGCATCACCTC
 CGCTGCTCGC

Таблица 2. Иллюстративные промоторы

Промотор	SEQ ID NO
PARM1 производное	40
GJB6 производное	16
RBP7 производное	28
IGFBP2 производное	57
GDF6 производное	90
GFAP производное	91
BACE2 производное	92
DBI2 производное	93
FABP3 производное	94
KLHL14 производное	95
MMP15 производное	96
SPARC производное	97
TSPAN8 производное	98
VIM производное	99
GJB2 минимальный промотор	86
1. CAG энхансер/промотор	15
2. CAG энхансер/промотор	14

1. CMV/CBA энхансер/промотор	13
2. CMV/CBA энхансер/промотор	12
1. CBA промотор	11
2. CBA промотор	10

Энхансеры

[0232] В некоторых случаях конструкция может включать энхансерную последовательность. Термин «энхансер» относится к нуклеотидной последовательности, которая может повышать уровень транскрипции нуклеиновой кислоты, кодирующей представляющий интерес белок (например, полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26)). Последовательности энхансеров (обычно длиной 50-1500 пар оснований) обычно повышают уровень транскрипции, обеспечивая дополнительные сайты связывания для белков, связанных с транскрипцией (например, факторов транскрипции). Согласно некоторым аспектам энхансерная последовательность обнаруживается внутри интронной последовательности. В отличие от промоторных последовательностей, энхансерные последовательности могут действовать на гораздо большем расстоянии от сайта начала транскрипции (например, по сравнению с промотором). Неограничивающие примеры энхансеров включают энхансер RSV, энхансер CMV и/или энхансер SV40. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит энхансер CMV, представленный SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит энхансер CMV, представленный SEQ ID NO: 63. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит энхансер химерного интрона, представленный SEQ ID NO: 63. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит энхансер химерного интрона, представленный SEQ ID NO: 63. ID NO: 64. Согласно некоторым аспектам энхансерная последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична энхансерной последовательности, представленной SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым аспектам энхансерная последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична энхансерной последовательности, представленной SEQ ID NO: 63. Согласно некоторым аспектам

энхансерная последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична энхансерной последовательности, представленной SEQ ID NO: 64. Согласно некоторым аспектам энхансерная последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична энхансерной последовательности, представленной SEQ ID NO: 65. Согласно некоторым аспектам энхансер, происходящий из SV-40, представляет собой последовательность интрона Т SV-40, пример которой представлен SEQ ID NO: 19. Согласно некоторым аспектам энхансерная последовательность на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична энхансерной последовательности, представленной SEQ ID NO: 19.

[0233] В некоторых случаях конструкция не включает энхансерную последовательность.

Иллюстративный CMV энхансер (SEQ ID NO: 18)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCC
 CATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGA
 CCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCAT
 TGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCSTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTTATGCCAGTA
 CATGACSTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG
 G

Иллюстративный CMV энхансер (SEQ ID NO: 63)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCC
 CATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGA
 CCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCAT
 TGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCSTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTTATGCCAGTA
 CATGACSTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATG
 GT

Иллюстративный SV-40 синтетический интрон (SEQ ID NO: 19)

GGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCC
 CGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGGCT
 GTAATTAGCGCTTGGTTAATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGG
 GCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGT
 GGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGGGGGC
 TTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGCCCGCGGTGCGGGGGG
 GCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGG
 CGCGGCGGTGCGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCCGGC
 TTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGG
 CAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCG
 GCGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTA
 ATCGTGCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGG
 CGCCGCCGCACCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGG
 GCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCCCGCGCCCGCTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGCTG
 TCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTG
 ACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAG

Иллюстративный химерный интрон (SEQ ID NO: 64)

GGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCC
 CGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGGCT
 GTAATTAGCGCTTGGTTAATGACGGCTTGTTCCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGG
 GCTCCGGGAGCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAG

Фланкирующие нетранслируемые области, 5' UTR и 3' UTR

[0234] Согласно некоторым аспектам любая из конструкций, описанных в настоящем документе, может включать нетранслируемую область (UTR), такую как 5'-UTR или 3'-UTR. UTR гена транскрибируются, но не транслируются. 5'-UTR начинается в сайте начала транскрипции и продолжается до стартового кодона, но не включает стартовый кодон. 3'-UTR начинается сразу после стоп-кодона и продолжается до сигнала терминации транскрипции. Регуляторные и/или контрольные признаки UTR могут быть включены в любую из конструкций, композиций, наборов или способов, описанных в настоящем документе, для усиления или иной модуляции экспрессии полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26).

[0235] Природные 5'-UTR включают последовательность, которая играет роль в инициации трансляции. Согласно некоторым аспектам 5'-UTR может содержать последовательности, подобные последовательностям Козака, которые, как известно, участвуют в процессе, посредством которого рибосома инициирует трансляцию многих генов. Последовательности Козака имеют консенсусную последовательность CCR(A/G)CCAUGG, где R представляет собой пурин (A или G) на три основания против хода транскрипции от стартового кодона (AUG), а за стартовым кодоном следует еще один «G». Также известно, что 5'-UTR образуют вторичные структуры, которые участвуют в связывании фактора элонгации.

[0236] Согласно некоторым аспектам 5' UTR включена в любую из конструкций, описанных в настоящем документе. Неограничивающие примеры 5'-UTR, включая следующих генов: альбумин, сывороточный амилоид А, аполипопротеин А/В/Е, трансферрин, альфа-фетопроtein, эритропоэтин и фактор VIII, можно использовать для усиления экспрессии молекула нуклеиновой кислоты, такой как мРНК.

[0237] Согласно некоторым аспектам 5' UTR из мРНК, которая транскрибируется клеткой улитки, может быть включена в любую из конструкций, композиций, наборов и способов, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам 5'-UTR происходит из локусов эндогенного гена GJB2 и может включать всю или часть эндогенной последовательности, представленной SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 66. Согласно некоторым аспектам последовательность 5'-UTR на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности 5' UTR, представленной SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 66.

[0238] 3'-UTR обнаруживаются непосредственно у 3'-конца стоп-кодона представляющего интерес гена. Согласно некоторым аспектам 3' UTR из мРНК, которая транскрибируется клеткой улитки, может быть включена в любую из конструкций, композиций, наборов и способов, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам 3'-UTR происходит из локусов эндогенного гена GJB2 и может включать всю или часть эндогенной последовательности, представленной SEQ ID NO: 22. Согласно некоторым аспектам последовательность 3'-UTR на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности 3' UTR,

представленной SEQ ID NO: 22. Согласно некоторым аспектам 3' UTR происходит из локусов эндогенного гена GJB2 и может включать всю или часть эндогенной последовательности, представленной SEQ ID NO: 67 или SEQ ID NO: 68. Согласно некоторым аспектам последовательность 3'-UTR на по меньшей мере 85. %, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности 3'-UTR, представленной SEQ ID NO: 67, или SEQ ID NO: 68.

[0239] Известно, что 3'-UTR содержат встроенные в них участки аденозина и уридинов (в форме РНК) или тимидинов (в форме ДНК). Эти богатые AU сигнатуры особенно распространены в генах с высокой скоростью оборота. На основании особенностей их последовательности и функциональных свойств элементы, богатые AU (ARE), можно разделить на три класса (Chen et al., Mol. Cell. Biol. 15:5777-5788, 1995, Chen et al., Mol. Cell Biol. 15:2010-2018, 1995, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте): ARE класса I содержат несколько диспергированных копий мотива AUUUA в областях, богатых U. Например, мРНК с-Мус и MyoD содержат ARE класса I. ARE класса II обладают двумя или более перекрывающимися нонамерами (U/A) UUAUUUA(U/A). мРНК GM-CSF и TNF-альфа являются примерами, которые содержат ARE класса II. ARE класса III определены менее четко. Эти богатые U области не содержат мотива AUUUA, двумя хорошо изученными примерами этого класса являются мРНК с-Jun и миогенина.

[0240] Известно, что большинство белков, связывающихся с ARE, дестабилизируют мессенджер, тогда как члены семейства ELAV, особенно HuR, как известно, повышают стабильность мРНК. HuR связывается с ARE всех трех классов. Создание сайтов специфического связывания HuR в 3'-UTR молекул нуклеиновой кислоты приведет к связыванию HuR и, таким образом, к стабилизации сообщения *in vivo*.

[0241] Согласно некоторым аспектам введение, удаление или модификация 3'-UTR ARE можно использовать для модуляции стабильности мРНК, кодирующей полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26). Согласно другим аспектам ARE можно удалить или мутировать для повышения внутриклеточной стабильности и, таким образом, увеличения трансляции и продукции полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26).

[0242] Согласно другим аспектам последовательности, отличные от ARE, могут быть включены в 5'- или 3'-UTR. Согласно некоторым аспектам интроны или части

последовательностей интронов могут быть включены во фланкирующие области полинуклеотидов в любой из конструкций, композиций, наборов и способов, представленных в настоящем документе. Включение интронных последовательностей может увеличить продукцию белка, а также уровни мРНК.

Иллюстративная последовательность 5' UTR (SEQ ID NO: 20)

GTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCC
CGGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCG
CCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCTCCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAG

Иллюстративная последовательность 5' UTR (SEQ ID NO: 21)

TTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGT
TCCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACСТААС
ТААСАГСТГСТГАГАГСТГГГТТССГТГССАТГСАСТГГГАСТГССТТГАГААГСТГАГСА
ААССГСССАГАТГААГ

Иллюстративная последовательность 5' UTR (SEQ ID NO: 66)

GTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCC
CGGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCG
CCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCTCCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTG
CGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGG
AAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACСТААСТААСАГСТГСТГАГАГСТГГГТТССГТГССАТГСА
CCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAG

Иллюстративная последовательность 3' UTR (SEQ ID NO: 22)

CGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTG
CTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACSTTAAATGCAACC
ATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCCTCTGCTCCCСТА
AAGCCTCAAAACAAAGGCСТААТТСТАТГССТГТСТТААТТТСТТТСАСТТААГТТАГТТССА
СТГАГАССССАГГСТГТТАГГГГТТАТТГГТГТААГТАСТТТСАТАТТТТАААСАГАГГАТАТ
CGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAA
GGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTCCCCACGTТАААГГТГААСАТТГГТТ
СТТТСАТТТГСТТТГГААГТТТТААТСТТААСАГТГГАСАААГТТАССАГТГССТТАААСТСТ
ГТТАСАСТТТТТГГААГТГАААСТТТГТАГТАТГАТАГГТТАТТТТГАТГТАААГАТГТТСТГ

GATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATT
CGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGA
GGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGTCATAGCACCTAACCAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGA
CAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGT
AATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTC
CAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGG
TCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGG
AGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGAT
GAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAA
TATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATA
GGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACAT
ATTTCAAGTGAGGGTAAGTATTTTCCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATA
TAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTA
AAACATTTAAAATATAATCTCTATAATAA

Иллюстративная последовательность 3' UTR (SEQ ID NO: 67)

GAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCT
AGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAG
GTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTC
TATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTT
ATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGA
CAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCT
TTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAA
TCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAACT
TTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTATGTAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTT
TCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATA
TGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGT
CATAGCACCTAACCAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGC
TTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTG
GATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACT
GTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAG
TACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGA
TTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTG
TTTGTGTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAA

TAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCA
 TTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCC
 TGTGTCAAGAATAGCATTGTAAGCATTGTAATAATAAGAATAGCTTTAATGATATGCT
 TGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTTAAAATATAATCTCTATAA
 TAA

Иллюстративная последовательность 3' UTR (SEQ ID NO: 68)

CGCATTGCCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTG
 CTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACC
 ATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCCTCTGCTCCCCTA
 AAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCA
 CTGAGACCCCAGGCTGTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATAT
 CGGCATTTGTTTCTTTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAA
 GGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTCTTTTTGCCAACTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTT
 CTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCT
 GTTACACTTTTTGGAAGTAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTG
 GATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATT
 CGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGA
 GGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGA
 CAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGT
 AATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTC
 CAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGG
 TCGCTTGGGAATTTTATGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGG
 AGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAGAT
 GAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAA
 TATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGTTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATA
 GGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGAC

Иллюстративная последовательность 3' UTR (SEQ ID NO: 69)

GAGCTCAGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAACTCGAGCAGTGAATTCTACCAGTGCCATAG
 GATCCAGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAAGGTACCCAGTGAATTCTACCAGTGCCATAGTTAAC
 CGCATTGCCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCA
 GCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTT
 GAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCCTCTGCTCCCCTAAAGC

CTCAAAACAAAGGCCSTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCTACTGA
 GACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGC
 ATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTT
 TGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTT
 CATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTA
 CACTTTTTGGAAGTGAAAACSTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATA
 CCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCT
 ACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCT
 GTCTGTTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGA
 CTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATT
 TTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAAC
 ACATCTCCSTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGC
 TTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAA
 GTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAGATGAGC
 TTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATA
 GCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTTGAGCAGATCTATAGGAA
 GATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGAC

Регуляторные сайт-мишени микроРНК (miRTS)

[0243] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS), который можно использовать для регулирования (например, снижения) экспрессии полинуклеотида, кодирующего терапевтический полипептид (например, полипептид коннексина 26) в клетке (например, клетке внутреннего уха, например, волосковой клетке). Согласно некоторым аспектам конструкции обеспечивают пониженную токсичность, связанную с экспрессией терапевтического полипептида (например, полипептида коннексина 26) в некоторых клетках (например, клетках внутреннего уха, например, волосковых клетках). Согласно некоторым аспектам конструкция, содержащая полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид (например, полипептид коннексина 26), содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS). Иллюстративная полинуклеотидная конструкция, содержащая miRTS, представлена на фиг. 2F. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать miRTS. Согласно некоторым аспектам 3'-UTR может содержать miRTS. Согласно некоторым аспектам 5'-UTR может содержать miRTS.

[0244] Согласно некоторым аспектам экспрессия терапевтического полипептида (например, полипептида коннексина 26) снижается, подавляется, ингибируется или устраняется в клетках, которые экспрессируют микроРНК. Согласно некоторым аспектам терапевтический полипептид преимущественно экспрессируется в клетках, которые не экспрессируют микроРНК. Согласно некоторым аспектам токсичность, связанная с экспрессией терапевтического полипептида (например, полипептида коннексина 26), снижается, подавляется, ингибируется или устраняется в клетках, которые экспрессируют микроРНК.

[0245] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к конструкциям, содержащим регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS), который можно использовать для регулирования (например, снижения) экспрессии полинуклеотида, кодирующего полипептид, в клетке (например, клетке внутреннего уха, например, волосковой клетке). Согласно некоторым аспектам конструкции обеспечивают пониженную токсичность, связанную с экспрессией полипептида в некоторых клетках (например, клетках внутреннего уха, например, волосковых клетках). Согласно некоторым аспектам конструкция, содержащая полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS). Иллюстративная полинуклеотидная конструкция, содержащая miRTS, представлена на фиг. 2F. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать miRTS. Согласно некоторым аспектам 3'-UTR может содержать miRTS. Согласно некоторым аспектам 5'-UTR может содержать miRTS.

[0246] Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется, ингибируется или устраняется в клетках, которые экспрессируют микроРНК (например, волосковые клетки). Согласно некоторым аспектам полипептид преимущественно экспрессируется в клетках, которые не экспрессируют микроРНК (например, опорные клетки). Согласно некоторым аспектам токсичность, связанная с экспрессией полипептида, снижается, подавляется, ингибируется или устраняется в клетках, которые экспрессируют микроРНК.

[0247] Согласно некоторым аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в волосковых клетках внутреннего уха. Согласно некоторым

аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в клетках спирального ганглия. Согласно некоторым аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в латеральных опорных клетках. Согласно некоторым аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в клетках базилярной мембраны. Согласно некоторым аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в средних опорных клетках. Согласно некоторым аспектам miRTS представляет собой специфические микроРНК, экспрессируемые в клетках спирального лимба.

[0248] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-182, микроРНК-183, микроРНК-194, микроРНК-140, микроРНК-18а, микроРНК-99а, микроРНК-30b, микроРНК-15а. Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-182. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-182. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-182. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-182 могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-182. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-182. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-182 могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 78.

[0249] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-183. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-183. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-183. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-183 могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно

некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-183. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-183. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-183 могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 79. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 79.

[0250] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-194. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-194. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-194. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-194 могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-194. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-194. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-194 могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-194 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым аспектам микроРНК-194 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 1.

[0251] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-140. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-140. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-140. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень

микроРНК-140 могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-140. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-140. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-140 могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-140 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым аспектам микроРНК-140 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 2.

[0252] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-18a. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-18a. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-18a. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-18a могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-18a. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-18a. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-18a могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-18a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 3. Согласно некоторым аспектам микроРНК-18a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 3.

[0253] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-99a. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-99a. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень

микроРНК-99а. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-99а могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-99а. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-99а. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-99а могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-99а последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым аспектам микроРНК-99а последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 4.

[0254] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-30b. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-30b. Согласно некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-30b. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-30b могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-30b. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-30b. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-30b могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-30b последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым аспектам микроРНК-30b последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 5.

[0255] Согласно некоторым аспектам miRTS может представлять собой последовательность-мишень человеческой микроРНК-15а. Согласно некоторым аспектам UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-15а. Согласно

некоторым аспектам UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-15а. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-15а могут быть рассредоточены во множестве положений в UTR. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может включать всю или часть последовательности-мишени микроРНК-15а. Согласно некоторым аспектам 3' UTR может содержать более чем одну последовательность-мишень микроРНК-15а. Согласно некоторым аспектам более чем одна последовательность-мишень микроРНК-15а могут быть распределены во множестве положений в 3' UTR. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15а последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15а последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 6.

[0256] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в специфических клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации.

[0257] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха, снижает, подавляет, ингибирует или устраняет экспрессию полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в волосковых клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которые экспрессируются в волосковых клетках внутреннего уха, представляют собой miR-194, miR-140, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха, представляет собой miR-194. Согласно некоторым аспектам микроРНК-194 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей

нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха, представляет собой miR-15a. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха, представляет собой miR-182. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха, представляет собой miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 79. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 79.

[0258] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в клетках спирального ганглия. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в клетках спирального ганглия снижает, подавляет, ингибирует или устраняет экспрессию полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в клетках спирального ганглия. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которые экспрессируются в клетках спирального ганглия, представляют собой miR-194, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха, представляет собой miR-194. Согласно некоторым аспектам микроРНК-194 последовательность-мишень содержит

NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15а последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-182. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 79. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 79.

[0259] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в клетках базиллярной мембраны. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в клетках базиллярной мембраны снижает, подавляет, ингибирует или устраняет экспрессию полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в клетках базиллярной мембраны. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которые экспрессируются в клетках базиллярной мембраны, представляют собой miR-99a, miR-30b и miR-15a. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-99a. Согласно некоторым аспектам микроРНК-99a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым аспектам микроРНК-99a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-30b. Согласно

некоторым аспектам микроРНК-30b последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым аспектам микроРНК-30b последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-15a. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 6.

[0260] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в латеральных опорных клетках. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в латеральных опорных клетках, снижает, подавляет, ингибирует или устраняет экспрессию полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в латеральных опорных клетках. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которые экспрессируются в латеральных опорных клетках, представляют собой miR-99a, miR-30b и miR-15a. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-99a. Согласно некоторым аспектам микроРНК-99a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым аспектам микроРНК-99a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-30b. Согласно некоторым аспектам микроРНК-30b последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%,

по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым аспектам микроРНК-30b последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-15a. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым аспектам микроРНК-15a последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 6.

[0261] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в средних опорных клетках. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в средних опорных клетках, снижает, подавляет, ингибирует или устраняет экспрессию полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в средних опорных клетках. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которые экспрессируются в средних опорных клетках представляют собой miR182 и miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-182. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 79. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 79.

[0262] Согласно некоторым аспектам miRTS может быть последовательностью-мишенью для микроРНК, которая экспрессируется в клетках спирального лимба. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в клетках спирального лимба снижает, подавляет, ингибирует или устраняет экспрессию полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в клетках спирального лимба. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которые экспрессируются в клетках спирального лимба, представляют собой miR182 и miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-182. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК-182 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 78. Согласно некоторым аспектам микроРНК, которая экспрессируется в волосковых клетках уха представляет собой miR-183. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 79. Согласно некоторым аспектам микроРНК-183 последовательность-мишень содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 79.

[0263] Согласно некоторым аспектам неэндогенная регуляторная область, включенная в UTR, может содержать множество регуляторных сайтов-мишеней микроРНК (miRTS). Согласно некоторым аспектам UTR может содержать по меньшей мере один сайт-мишень микроРНК-182 и по меньшей мере один сайт-мишень микроРНК-183. Согласно некоторым аспектам неэндогенная регуляторная область, включенная в UTR, представляет собой домен дестабилизации и проиллюстрирована посредством SEQ ID NO: 80. Согласно некоторым аспектам UTR может включать последовательность, которая на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентична неэндогенной регуляторной области, представленной SEQ ID NO: 80.

микроРНК-182 мишень-последовательность (SEQ ID NO: 78)

AGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAA

микроРНК-183 мишень-последовательность (SEQ ID NO: 79)

AGTGAATTCTACCCAGTGCCATA

микроРНК-194 мишень-последовательность (SEQ ID NO: 1)

TCCACATGGAGTTGCTGTTACA

микроРНК-140 мишень-последовательность (SEQ ID NO: 2)

CCGTGGTTCTACCCCTGTGGTA

микроРНК-18а мишень-последовательность (SEQ ID NO: 3)

STATCTGCACTAGATGCACCTTA

микроРНК-99а мишень-последовательность (SEQ ID NO: 4)

CACAAGATCGGATCTACGGGTT

микроРНК-30b мишень-последовательность (SEQ ID NO: 5)

CTGAGTGTAGGATGTTTACA

микроРНК-15а мишень-последовательность (SEQ ID NO: 6)

CASAAACCATTTATGTGCTGCTA

Иллюстративная последовательность домена дестабилизации мРНК (SEQ ID NO: 80)

GAGCTCAGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAACTCGAGCAGTGAATTCTACCCAGT
GCCATAGGATCCAGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAAGGTACCCAGTGAATTCTACCA
GTGCCATAGTTAAC

Таблица 3. Иллюстративные регуляторные сайты-мишени микроРНК

Регуляторные сайты-мишени микроРНК	SEQ ID NO
микроРНК-182 мишень-последовательность	78

микроРНК-183 мишень-последовательность	79
микроРНК-194 мишень-последовательность	1
микроРНК-140 мишень-последовательность	2
микроРНК-18a мишень-последовательность	3
микроРНК-99a мишень-последовательность	4
микроРНК-30b мишень-последовательность	5
микроРНК-15a мишень-последовательность	6

Участки внутренней посадки рибосомы (IRES)

[0264] Согласно некоторым аспектам конструкция, кодирующая полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26), может включать участок внутренней посадки рибосомы (IRES). IRES образует сложную вторичную структуру, которая позволяет инициировать трансляцию из любого положения, при этом мРНК находится непосредственно по ходу транскрипции от места расположения IRES (см., например, Pelletier and Sonenberg, *Mol. Cell. Biol.* 8(3):1103-1112, 1988).

[0265] Специалистам в данной области техники известно несколько последовательностей IRES, включая последовательности, например, вируса ящура (FMDV), вируса энцефаломиокардита (EMCV), риновируса человека (HRV), вируса паралича сверчка, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вируса гепатита А (HAV), вируса гепатита С (HCV) и полиовируса (PV). См., например, Alberts, *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science, 2002, и Hellen et al., *Genes Dev.* 15(13):1593-612, 2001, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0266] Согласно некоторым аспектам последовательность IRES, которая включена в конструкцию, кодирующую полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26), представляет собой последовательность 2А вируса ящура (FMDV). Последовательность вируса ящура 2А представляет собой небольшой пептид (длиной приблизительно 18 аминокислот), который, как было показано, опосредует расщепление полипротеинов (Ryan, MD et al., *EMBO* 4:928-933, 1994, Mattion et al., *J Virology* 70:8124-8127, 1996, Furler et al., *Gene Therapy* 8:864-873, 2001, и Halpin et al., *Plant Journal* 4:453-459, 1999, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Активность расщепления последовательности 2А ранее была продемонстрирована в искусственных системах, включая плазмиды и конструкции генной терапии (AAV и ретровирусы) (Ryan et al., *EMBO* 4:928-933, 1994,

Mattion et al., J Virology 70:8124-8127, 1996, Furler et al., Gene Therapy 8:864-873, 2001, и Halpin et al., Plant Journal 4:453-459, 1999, de Felipe et al., Gene Therapy 6:198-208, 1999, de Felipe et al., Human Gene Therapy I I: 1921-1931, 2000, и Klump et al., Gene Therapy 8:811-817, 2001, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

Сайты сплайсинга

[0267] Согласно некоторым аспектам любая из конструкций согласно настоящему изобретению может включать донорные и/или акцепторные последовательности сплайсинга, которые являются функциональными во время процессинга РНК, происходящего во время транскрипции. Согласно некоторым аспектам сайты сплайсинга участвуют в транс-сплайсинге.

Иллюстративный интрон донора сплайсинга (SEQ ID NO: SEQ ID NO: 23)

GTAAGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTTAAGGAGACCAATAGAAACTGGGCTTGTTCGAGA
CAGAGAAGACTCTTGCCTTTC

Иллюстративный интрон акцептора сплайсинга (SEQ ID NO: SEQ ID NO: 24)

GATAGGCACSTATTTGGTCTTACTGACATCCACTTTGCCTTTCTCTCCACAG

Последовательности полиаденилирования

[0268] Согласно некоторым аспектам конструкция согласно настоящему изобретению может включать сигнальную последовательность полиаденилирования (поли(А)). Большинство зарождающихся эукариотических мРНК обладают поли(А)-хвостом на своем 3'-конце, который добавляется во время сложного процесса, включающего расщепление первичного транскрипта и сопряженную реакцию полиаденилирования, управляемую сигнальной последовательностью поли(А) (см., например, Proudfoot et al., Cell 108:501-512, 2002, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Поли(А)-хвост обеспечивает стабильность и переносимость мРНК (Molecular Biology of the Cell, Third Edition by B. Alberts et al., Garland Publishing, 1994, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам сигнальная последовательность поли(А) расположена 3' от кодирующей последовательности.

[0269] В контексте настоящего изобретения термин «полиаденилирование» относится к ковалентной связи фрагмента полиаденилила или его модифицированного варианта с молекулой информационной РНК. В эукариотических организмах большинство молекул информационной РНК (мРНК) полиаденилированы на 3'-конце. 3'-поли(А)-хвост представляет собой длинную последовательность адениновых нуклеотидов (например, 50, 60, 70, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 или 5000), добавленных к пре-мРНК посредством действия фермента полиаденилатполимеразы. Согласно некоторым аспектам поли(А)-хвост добавляется к транскриптам, которые содержат специфическую последовательность, например, сигнал полиаденилирования (или поли(А)). Поли(А)-хвост и связанные с ним белки помогают защитить мРНК от расщепления экзонуклеазами. Полиаденилирование также играет роль в терминации транскрипции, экспорте мРНК из ядра и трансляции. Полиаденилирование обычно происходит в ядре сразу после транскрипции ДНК в РНК, но может происходить и позже в цитоплазме. После завершения транскрипции цепь мРНК расщепляется под действием эндонуклеазного комплекса, связанного с РНК-полимеразой. Сайт расщепления обычно характеризуется наличием последовательности оснований AAUAAA рядом с сайтом расщепления. После расщепления мРНК к свободному 3'-концу в сайте расщепления добавляются остатки аденозина.

[0270] В контексте настоящего изобретения «сигнальная последовательность поли(А)» или «сигнальная последовательность полиаденилирования» представляет собой последовательность, которая запускает эндонуклеазное расщепление мРНК и добавление ряда аденозинов к 3'-концу расщепленной мРНК.

[0271] Существует несколько сигнальных последовательностей поли(А), которые можно использовать, в том числе полученные из гормона роста крупного рогатого скота (bGH) (Woychik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. US.A. 81(13):3944-3948, 1984, патент США № 5122458, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), мышинового β -глобина, мышинового α -глобина (Orkin et al., EMBO J 4(2):453-456, 1985, Thein et al., Blood 71(2):313-319, 1988, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), человеческого коллагена, вируса полиомы (Batt et al., Mol. Cell Biol. 15(9):4783-4790, 1995, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), гена тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV TK), сигнала полиаденилирования гена тяжелой цепи IgG (US 2006/0040354, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей

своей полноте), человеческого гормона роста (hGH) (Szymanski et al., Mol. Therapy 15(7):1340-1347, 2007, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте), группы, содержащей поли(A) сайт SV40, как например сайт поли(A) позднего и раннего SV40 (Schek et al., Mol. Cell Biol. 12(12):5386- 5393, 1992, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0272] Сигнальная последовательность поли(A) может представлять собой ААТAAA. Последовательность ААТAAA может быть заменена другими гексануклеотидными последовательностями, гомологичными ААТAAA и способными сигнализировать полиаденилирование, включая АТТAAA, АГТAAA, САТAAA, ТАТAAA, ГАТAAA, АСТAAA, ААТAA, ААГAAA, ААТААТ, АААААА, ААТГАА, ААТСАА, ААСААА, ААТСАА, ААТААС, ААТАГА, ААТТАА или ААТААГ (см., например, WO 06/12414, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0273] Согласно некоторым аспектам сигнальная последовательность поли(A) может представлять собой синтетический сайт полиаденилирования (см., например, экспрессионную конструкцию pCl-neo Promega, на основании Levitt et al., Genes Dev. 3(7):1019-1025, 1989, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам сигнальная последовательность поли(A) представляет собой сигнал полиаденилирования растворимого нейропиллина-1 (sNRP) (AAATAAAATACGAAATG, SEQ ID NO: 89) (см., например, WO 05/073384, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам Согласно некоторым аспектам сигнальная последовательность поли(A) содержит или состоит из сайта поли(A) SV40. Согласно некоторым аспектам сигнал поли(A) содержит или состоит из SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым аспектам сигнальная последовательность поли(A) содержит или состоит из bGHpA. Согласно некоторым аспектам сигнал поли(A) содержит или состоит из SEQ ID NO: 26. Дополнительные примеры сигнальных последовательностей поли(A) известны в данной области техники. Согласно некоторым аспектам последовательность поли(A) на по меньшей мере на 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентична последовательности поли(A), представленной SEQ ID NO: 25.

Иллюстративная сигнальная последовательность поли(А) bGH (SEQ ID NO: 25)

CTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCC
 TGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCTTTTCCCTAATAAAAATGAGGAAATTCATCGCATTTGTCTGAG
 TAGGTGTCATTTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAC
 AATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGG

Иллюстративная сигнальная последовательность поли(А) SV40 (SEQ ID NO: 26)

AACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACA
 AATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTA

Дополнительные последовательности

[0274] Согласно некоторым аспектам конструкции согласно настоящему изобретению могут включать одну или несколько последовательностей-наполнителей. Согласно некоторым аспектам последовательности-наполнители могут действовать как регуляторные элементы, изменяя экспрессию конструкции. Согласно некоторым таким аспектам последовательности-наполнители не могут быть полностью удалены перед получением для введения субъекту. Согласно некоторым аспектам последовательности-наполнители могут выполнять функциональные роли, в том числе в качестве линкерных последовательностей, регуляторных областей или стабилизирующих областей. Как понятно специалистам в данной области техники, последовательности-наполнители могут значительно различаться по первичной последовательности, сохраняя при этом свою желаемую функцию. Согласно некоторым аспектам конструкции могут содержать любую комбинацию последовательностей-наполнителей, иллюстративные последовательности-наполнители, которые могут функционировать как регуляторные последовательности, представлены SEQ ID NO: 128 или 129.

[0275] Согласно некоторым аспектам конструкции согласно настоящему изобретению могут содержать элемент или последовательность T2A. Согласно некоторым аспектам конструкции согласно настоящему изобретению могут включать один или несколько сайтов клонирования. Согласно некоторым таким аспектам сайты клонирования не могут быть полностью удалены перед получением для введения субъекту. Согласно некоторым аспектам сайты клонирования могут выполнять функциональные роли, в том числе выступать в качестве линкерных последовательностей, частей сайта Козака или

сайтов, кодирующих стоп-кодон. Как понятно специалистам в данной области техники, сайты клонирования могут значительно различаться по первичной последовательности, сохраняя при этом желаемую функцию. Согласно некоторым аспектам конструкции могут содержать любую комбинацию сайтов клонирования, иллюстративные сайты клонирования представлены SEQ ID NO: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 или 85. Согласно некоторым аспектам конструкции могут содержать дополнительные сайты клонирования длиной менее пяти нуклеотидов.

Иллюстративная регуляторная последовательность C3 (SEQ ID NO: 128)

```
СТТСТТСТGGAGTСТТТТСТGGAATAАТТСТGGGAGTGGGCTCAGCCTGCGGGAGAGTAA  
САТТТТТТАААСТТGATAGATGTAGCTGAGATGCCTCCCAGAGGGGAGACCCGCCTCTCCTCCG  
GCAGCTGTGCACGTAGGCTTGTТCCCAGCAGCCTGGCCAGGGTGGTCCACCTGGTGTТТТСТСАТ  
СТТСТТТCCCСGGAGCGCTGACTCCTGCGCGTCTCTTGGAAAGACTCTTGACAGGACGGGTGTТ  
ТТАТGGGTGTGАТТCAGTGTCTCTTGCATCAGTТCAATGTGGTGGTGTТCAATCAACCCTTGT  
AGCGTTAGCAAAАТТTGGCTCAAGTCAТТCCGCAGGAATGTCTGTGTCTTGCTТCCAAGAAAGCT  
TGTAAGTGCCGGCAACAGGCCAAGCAGCTCACAAACCTGACCACAAGCCTGTGAGTAАТТGTGG  
GGCAGCACTTAGCAGTСТТТТТАТТТТCGACTTATTAAGTCTCATCTTGGCCTCACСТТТCTCCC  
TGGAAGGTGGCGTGGGTGGGAACCACTGGGTСAGATСТТТТТCACCCTTGCCGTGGAGCCAGTT  
ТCCTGTТGCATGTGGGGGAAGCAACATGTGGTGAAGAGTATAGAAAACGAAAACATGTGGGTAC  
AGTATGTATAAGTGGAGGGAACAAACTCATAАТТCCAАСТAGТТТТСТСАТGAGAGACTCATGAA  
TCATТGTGGTAGTTCTCAATATAAACTTAAТCTAGGCCGGATGTGGTGGCTCACACCTGTAATC  
TCAGCACTCTGGGTGGATCACTTГAGGTCAGGAGТТTГAGACCAGTCTGACCAACATGGAGAAA  
CCCATCGCTACTAAAАTACAАААТТATCCAGATGTGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCAC  
ТТТGGGAGGCTGAGGCGGGTGGATCACTTГAGGTCAGGAGТТTГAGACCAGCCTGACCAACATG  
GAGAAACTGTGTCTCTACTAAAАTACAАААТTAGCTGGGCGTGGTGACGCATGCCTGTAATCC  
CAGCTATТTGGAGGCCGAAGCAGG
```

Иллюстративная регуляторная последовательность D7 (SEQ ID NO: 129)

```
СТТСТТСТGGAGTСТТТТСТGGAATAАТТСТGGGAGTGGGCTCAGCCTGCGGGAGAGTAA  
САТТТТТТАААСТТGATAGATGTAGCTGAGATGCCTCCCAGAGGGGAGACCCGCCTCTCCTCCG  
GCAGCTGTGCACGTAGGCTTGTТCCCAGCAGCCTGGCCAGGGTGGTCCACCTGGTGTТТТСТСАТ  
СТТСТТТCCCСGGAGCGCTGACTCCTGCGCGTCTCTTGGAAAGACTCTTGACAGGACGGGTGTТ  
ТТАТGGGTGTGАТТCAGTGTCTCTTGCATCAGTТCAATGTGGTGGTGTТCAATCAACCCTTGT  
AGCGTTAGCAAAАТТTGGCTCAAGTCAТТCCGCAGGAATGTCTGTGTCTTGCTТCCAAGAAAGCT
```

TGTAAGTGCCGGCAACAGGCCAAGCAGCTCACAAACCTGACCACAAGCCTGTGAGTAATTGTGG
GGCAGCACTTAGCAGTCTTTTATTTTCGACTTATTAAAGTCTCATCTTGGCCTCACCTTCTCCC
TGGAAGGTGGCGTGGGTGGGAACCACTGGGTGAGATCTTTTTCACCCTTGCCGTGGAGCCAGTT
TCCTGTTGCATGTGGGGGAAGCAACATGTGGTGAAGAGTATAGAAAACGAAAACATGTGGGTAC
AGTATGTATAAGTGGAGGGAAACAAACTCATAATTCCAAC TAGTTTCTCATGAGAGACTCATGAA
TCATTGTGGTAGTTCTCAATATAAACTTAATCTAGGCCGGATGTGGTGGCTCACACCTGTAATC
TCAGCACTCTGGGTGGATCACTTGAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGTCTGACCAACATGGAGAAA
CCCCATCGCTACTAAAAATACAAAATTATCCAGATGTGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCAC
TTTGGGAGGCTGAGGCGGGTGGATCACTTGAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGACCAACATG
GAGAACTGTGTCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCTGGGCGTGGTGACGCATGCCTGTAATCC
CAGCTATTTGGAGGCCGAAGCAGG

Иллюстративный сайт клонирования А (SEQ ID NO: 29)

TTGTCGACGCGGCCGCACGCGT

Иллюстративный сайт клонирования В (SEQ ID NO: 30)

CTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGTGCCACC

Иллюстративный сайт клонирования С (SEQ ID NO: 31)

TAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGA

Иллюстративный сайт клонирования D (SEQ ID NO: 32)

AAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCCTAGG

Иллюстративный сайт клонирования E (SEQ ID NO: 33)

TAAGAGCTC

Иллюстративный сайт клонирования F (SEQ ID NO: 34)

GCTGATCAGCCTCGA

Иллюстративный сайт клонирования G (SEQ ID NO: 35)

GGCATTCCGGTACTGTTGGTAAAGCCACCAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGACCGGTGGC
CACC

Иллюстративный сайт клонирования H (SEQ ID NO: 36)

AAGCTTGAATTC

Иллюстративный сайт клонирования I (SEQ ID NO: 37)

AGCTGACGTGCCTCGGACCGCCTAGG

Иллюстративный сайт клонирования J (SEQ ID NO: 70)

GCGGCCGCACGCGT

Иллюстративный сайт клонирования K (SEQ ID NO: 71)

GCGGCCGCACGCGTGGT

Иллюстративный сайт клонирования L (SEQ ID NO: 72)

CTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGT

Иллюстративный сайт клонирования M (SEQ ID NO: 73)

CGCTAGCCACC

Иллюстративный сайт клонирования N (SEQ ID NO: 74)

ACCGGTCGCTAGCCACC

Иллюстративный сайт клонирования O (SEQ ID NO: 75)

GAGCTCGCTGATCAGCCTCGA

Иллюстративный сайт клонирования P (SEQ ID NO: 76)

AAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCT

Иллюстративный сайт клонирования Q (SEQ ID NO: 85)

CTCACCGGT

Иллюстративная линкерная последовательность (SEQ ID NO: 77)

GGATCCCGGGCT

Репортерные последовательности, элементы или репортерные полипептиды

[0276] Согласно некоторым аспектам конструкции, предложенные в настоящем документе, необязательно могут включать последовательность, кодирующую репортерный полипептид и/или белок («репортерную последовательность»). Неограничивающие примеры репортерных последовательностей включают последовательности ДНК, кодирующие: бета-лактамазу, бета-галактозидазу (LacZ), щелочную фосфатазу, тимидинкиназу, зеленый флуоресцентный белок (GFP), красный флуоресцентный белок, флуоресцентный белок mCherry, желтый флуоресцентный белок, хлорамфениколацетилтрансферазу (CAT), FLAG и люциферазу. Дополнительные примеры репортерных последовательностей известны в данной области техники. Неограничивающие примеры репортерных полипептидов включают бета-лактамазу, бета-галактозидазу (LacZ), щелочную фосфатазу, тимидинкиназу, зеленый флуоресцентный белок (GFP), красный флуоресцентный белок, флуоресцентный белок mCherry, желтый флуоресцентный белок, хлорамфениколацетилтрансферазу (CAT), FLAG и люциферазу. Когда репортерная последовательность связана с элементами контроля, которые управляют ее экспрессией, она может обеспечивать сигналы, обнаруживаемые обычными способами, включая ферментативные, рентгенографические, колориметрические, флуоресцентные или другие спектрографические анализы, анализы сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS), иммунологические анализы (например, иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунологический анализ (RIA) и иммуногистохимия).

[0277] Согласно некоторым аспектам репортерной последовательностью является ген LacZ, и присутствие конструкции, несущей ген LacZ, в клетке млекопитающего (например, волосковой клетке улитки) выявляют с помощью анализов активности бета-галактозидазы. Когда репортерный полипептид представляет собой флуоресцентный белок (например, зеленый флуоресцентный белок) или люциферазу, наличие конструкции, несущей флуоресцентный белок или люциферазу, в клетке млекопитающего (например, волосковой клетке улитки) можно измерить с помощью флуоресцентных методов (например, флуоресцентная микроскопия или FACS) или продукции света в люминометре (например, спектрофотометре или приборе для визуализации IVIS). Согласно некоторым аспектам репортерную последовательность можно использовать для проверки способности тканеспецифического нацеливания и регуляторной и/или контрольной активности тканеспецифического промотора любой из конструкций, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам

репортерный полипептид можно использовать для проверки способности к тканеспецифическому нацеливанию и регуляторной и/или контрольной активности тканеспецифического промотора любой из конструкций, описанных в настоящем документе.

[0278] Согласно некоторым аспектам репортерная последовательность представляет собой метку FLAG (например, метку 3xFLAG) и наличие конструкции, несущей метку FLAG, в клетке млекопитающего (например, клетке внутреннего уха, например, волосе улитки или опорной клетке) обнаруживаются с помощью анализов связывания или обнаружения белков (например, вестерн-блоттинга, иммуногистохимии, радиоиммуноанализа (RIA), масс-спектрометрии). Иллюстративная последовательность тега 3xFLAG представлена как SEQ ID NO: 42.

Иллюстративная последовательность метки 3xFLAG (SEQ ID NO: 42)

GGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTAC
AAGGATGACGATGACAAG

Иллюстративная последовательность метки 3xFLAG со стоп-кодом (SEQ ID NO: 81)

GACTACAAAGACCCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGAT
GACAAGTAA

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 62)

GTGTCACC

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 55)

CACAACCT

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 27)

CGTGTGTT

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 41)

TCGTGGGT

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 39)

GCAAACTG

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 108)

CCTACGCT

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 109)

GCCAAAGC

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 110)

CCATCCAC

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 111)

CCCGTTCT

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 112)

TTCACTGG

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 113)

ATACTCTC

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 114)

GGCACTTC

Иллюстративная метка баркод (SEQ ID NO: 115)

TTTCAGGT

Капсиды AAV

[0279] Настоящее изобретение относится к одной или нескольким полинуклеотидным конструкциям, упакованным в капсид AAV. Согласно некоторым аспектам капсид AAV получен из или происходит из капсида AAV серотипа AAV2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, rh8, rh10, rh39, rh43, AAV2-tYF, AAV2-P2V2, AAV2-P2V3, AAV2-MeBtYFTV, AAV2-MeB, AAV2-P2V6, AAV2-DGEDF или Anc80, или одного или нескольких их

гибридов. Согласно некоторым аспектам капсид AAV происходит из предкового серотипа AAV. Согласно некоторым аспектам капсид AAV представляет собой предковый (Anc) капсид AAV. Капсид Anc создают из последовательности конструкции, которая сконструирована с использованием эволюционных вероятностей и эволюционного моделирования для определения вероятной наследственной последовательности. Таким образом, неизвестно, существует ли последовательность капсида/конструкции Anc в природе. Например, согласно некоторым аспектам капсид AAV представляет собой капсид Anc80 (например, капсид Anc80L65). Согласно некоторым аспектам капсид AAV создают с использованием матричной нуклеотидной кодирующей последовательности, содержащей SEQ ID NO: 43. Согласно некоторым аспектам капсид содержит полипептид, представленный SEQ ID NO: 44. Согласно некоторым аспектам капсид содержит полипептид с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности полипептиду, представленному SEQ ID NO: 44.

[0280] Согласно настоящему изобретению любая комбинация капсидов AAV и конструкций AAV (например, содержащих ITR AAV) может быть использована в рекомбинантных частицах AAV (rAAV) согласно настоящему изобретению. Например, ITR AAV2 дикого типа или варианта и капсид Anc80 (например, капсид Anc80L65), ITR AAV2 дикого типа или варианта и капсид AAV6 и т.д. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения частица AAV полностью состоит из компонентов AAV2 (например, капсид и ITR относятся к серотипу AAV2). Согласно некоторым аспектам частица AAV представляет собой частицу AAV2/6, AAV2/8 или AAV2/9 (например, капсид AAV6, AAV8 или AAV9 с конструкцией AAV, имеющей ITR AAV2). Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения частица AAV представляет собой частицу AAV2/Anc80, которая содержит капсид Anc80 (например, содержащий полипептид с SEQ ID NO: 44), который инкапсидирует конструкцию AAV с ITR AAV2 (например, SEQ ID NO: 8 и 9), фланкирующими часть кодирующей последовательности, например, нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26). Другие частицы AAV известны в данной области и описаны, например, в Sharma et al., Brain Res Bull. 2010 Feb 15; 81(2-3): 273, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно некоторым аспектам капсидная последовательность на по меньшей мере на 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%,

по меньшей мере 99% или 100% идентична капсидному нуклеотиду или аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 43 или 44, соответственно.

Иллюстративная последовательность ДНК AAV Anc80 капсида (SEQ ID NO: 43)

ATGGCTGCCGATGGTTATCTTCCAGATTGGCTCGAGGACAACCTCTCTGAGGGCATTCGC
 GAGTGGTGGGACTTGAACCTGGAGCCCCGAAACCCAAAGCCAACCAGCAAAAGCAGGACGACG
 GCCGGGGTCTGGTGCTTCCTGGCTACAAGTACCTCGGACCCTTCAACGGACTCGACAAGGGGGA
 GCCCGTCAACGCGGCGGACGCAGCGGCCCTCGAGCACGACAAGGCCTACGACCAGCAGCTCAAA
 GCGGGTGACAATCCGTACCTGCGGTATAACCACGCCGACGCCGAGTTTCAGGAGCGTCTGCAAG
 AAGATACGTCTTTTGGGGCAACCTCGGGCGAGCAGTCTTCCAGGCCAAGAAGCGGGTTCTCGA
 ACCTCTCGGTCTGGTTGAGGAAGGCGCTAAGACGGCTCCTGGAAAGAAGAGACCGGTAGAGCAA
 TCACCCCAGGAACCAGACTCCTCTTCGGGCATCGGCAAGAAAGGCCAGCAGCCCGCAAGAAGA
 GACTCAACTTTGGGCAGACAGGCGACTCAGAGTCAGTGCCCGACCCTCAACCACTCGGAGAACC
 CCCCAGCCCCCTCTGGTGTGGGATCTAATACAATGGCAGCAGGCGGTGGCGCTCCAATGGCA
 GACAATAACGAAGGCGCCGACGGAGTGGGTAACGCCTCAGGAAATTGGCATTGCGATTCCACAT
 GGCTGGGCGACAGAGTCATCACCACCAGCACCCGAACCTGGGCCCTCCCCACCTACAACAACCA
 CCTCTACAAGCAAATCTCCAGCCAATCGGGAGCAAGCACCAACGACAACACCTACTTCGGCTAC
 AGCACCCCCTGGGGGTATTTTGACTTTAACAGATTCCACTGCCACTTCTCACCACGTGACTGGC
 AGCGACTCATCAACAACAACCTGGGGATTCCGGCCCAAGAGACTCAACTTCAAGCTCTTCAACAT
 CCAGGTCAAGGAGGTCACGACGAATGATGGCACCACGACCATCGCCAATAACCTTACCAGCACG
 GTTCAGGTCTTTACGGACTCGGAATACCAGCTCCCGTACGTCCTCGGCTCTGCGCACCAGGGCT
 GCCTGCCTCCGTTCCCGGCGGACGTCTTCATGATTCCCTCAGTACGGGTACCTGACTCTGAACAA
 TGGCAGTCAGGCCGTGGGCCGTTCCCTCCTTCTACTGCCTGGAGTACTTTTCTTCTCAAATGCTG
 AGAACGGGCAACAACCTTTGAGTTCAGCTACACGTTTGAGGACGTGCCTTTTTCACAGCAGCTACG
 CGCACAGCCAAAGCCTGGACCGGCTGATGAACCCCTCATCGACCAGTACCTGTACTACCTGTC
 TCGGACTCAGACCACGAGTGGTACCGCAGGAAATCGGACGTTGCAATTTTCTCAGGCCGGGCCT
 AGTAGCATGGCGAATCAGGCCAAAACTGGCTACCCGGGCCCTGCTACCGGCAGCAACGCGTCT
 CCAAGACAGCGAATCAAAATAACAACAGCAACTTTCCTGGACCGGTGCCACCAAGTATCATCT
 GAATGGCAGAGACTCTCTGGTAAATCCCGGTCCCGCTATGGCAACCCACAAGGACGACGAAGAC
 AAATTTTTTCCGATGAGCGGAGTCTTAATATTTGGGAAACAGGGAGCTGGAAATAGCAACGTGG
 ACCTTGACAACGTTATGATAACCAGTGAGGAAGAAATTAAAACCAACCCAGTGGCCACAGA
 ACAGTACGGCACGGTGGCCACTAACCTGCAATCGTCAAACACCGCTCCTGCTACAGGGACCGTC
 AACAGTCAAGGAGCCTTACCTGGCATGGTCTGGCAGAACCAGGACGTGTACCTGCAGGGTCCTA

TCTGGGCCAAGATTCCTCACACGGACGGACACTTTCATCCCTCGCCGCTGATGGGAGGCTTTGG
 ACTGAAACACCCGCCTCCTCAGATCCTGATTAAGAATACACCTGTTCCCGCGAATCCTCCAAC
 ACCTTCAGTCCAGCTAAGTTTGCCTCGTTCATCACGCAGTACAGCACCCGGACAGGTCAGCGTGG
 AAATTGAATGGGAGCTGCAGAAAGAAAACAGCAAACGCTGGAACCCAGAGATTCAATACACTTC
 CAACTACAACAAATCTACAAATGTGGACTTTGCTGTTGACACAAATGGCGTTTATTCTGAGCCT
 CGCCCCATCGGCACCCGTTACCTCACCCGTAATCTG

**Иллюстративная аминокислотная последовательность AAV Anc80 капсида
 (SEQ ID NO: 44)**

MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD
 KGEVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKR
 VLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSSGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDPQPL
 GEPPAAPSGVGSNTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDRVITTTSTRTWALPTY
 NNHLYKQISSQSGASTNDNTYFGYSTPWGYFDNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFPRKRLNFKL
 FNIQVKEVTTNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLT
 LNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
 YLSRTQTTSGTAGNRTLQFSQAGPSSMANQAKNWLPGPCYRQQRVSKTANQNNNSNFAWTGATK
 YHLNGRDSL VNPGPAMATHKDDKFFPMSGVLI FGKQGAGNSNVDLDNVMITSEEEIKTTNPV
 ATEQYGT VATNLQSSNTAPATGTVNSQ GALPGMVWQNRDVYLGPIWAKI PHTDGHFHPSPLMG
 GFGLKHPPPQILIKNTPVPANPPTTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQ
 YTSNYNKSTNVDFAVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL

Композиции

[0281] Помимо прочего, настоящее изобретение относится к композициям. Согласно некоторым аспектам композиция содержит конструкция, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композиция содержит одну или несколько конструкций, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композиция содержит множество конструкций, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам, когда в композицию включено более одной конструкции, каждая конструкция различна.

[0282] Согласно некоторым аспектам композиция содержит частицу AAV, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композиция содержит одну или несколько частиц AAV, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композиция содержит множество частиц AAV. Согласно некоторым аспектам,

когда в композицию включено более одной частицы AAV, каждая частица AAV различна.

[0283] Согласно некоторым аспектам композиция содержит вектор, как описано в настоящем документе.

[0284] Согласно некоторым аспектам композиция содержит клетку.

[0285] Согласно некоторым аспектам композиция представляет собой или содержит фармацевтическую композицию. Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель. Согласно некоторым аспектам композиция представляет собой или содержит синтетический раствор перилимфа. Согласно некоторым аспектам синтетический раствор перилимфа содержит 20-200 мМ NaCl, 1-5 мМ KCl, 0,1-10 мМ CaCl₂, 1-10 мМ глюкозы и 2-50 мМ HEPES, где pH составляет приблизительно 6 и приблизительно 9.

Дозирование и объем введения

[0286] Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, например, один или множество векторов AAV, как раскрыто в настоящем документе, вводят в виде однократной дозы или в виде множества доз.

[0287] Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, вводят в виде однократной дозы. Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, вводят в виде множества доз, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 доз.

[0288] Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, (например, композицию, содержащую одну или множество конструкций gAAV, как раскрыто в настоящем документе) вводят в объеме приблизительно 0,01 мл, приблизительно 0,02 мл, приблизительно 0,03 мл, приблизительно 0,04 мл, приблизительно 0,05 мл, приблизительно 0,06 мл, приблизительно 0,07 мл, приблизительно 0,08 мл, приблизительно 0,09 мл, приблизительно 1,00 мл, приблизительно 1,10 мл, приблизительно 1,20 мл, приблизительно 1,30 мл, приблизительно 1,40 мл, приблизительно 1,50 мл, приблизительно 1,60 мл, приблизительно 1,70 мл, приблизительно 1,80 мл, приблизительно 1,90 мл, или приблизительно 2,00 мл. Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, вводят в объеме приблизительно 0,01 мл. Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, вводят в объеме приблизительно 0,02 мл. Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, вводят в объеме приблизительно 0,03 мл. Согласно

некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, (например, композицию, содержащую одну или множество конструкций гAAV, как раскрыто в настоящем документе) вводят в объеме приблизительно от 0,01 до 2,00 мл, приблизительно от 0,02 до 2,00 мл, приблизительно от 0,03 до 2,00 мл, приблизительно от 0,04 до 2,00 мл, приблизительно от 0,05 до 2,00 мл, приблизительно от 0,06 до 2,00 мл, приблизительно от 0,07 до 2,00 мл, приблизительно от 0,08 до 2,00 мл, приблизительно от 0,09 до 2,00 мл, приблизительно от 0,01 до 1,90 мл, приблизительно от 0,01 до 1,80 мл, приблизительно от 0,01 до 1,70 мл, приблизительно от 0,01 до 1,60 мл, приблизительно от 0,01 до 1,50 мл, приблизительно от 0,01 до 1,40 мл, приблизительно от 0,01 до 1,30 мл, приблизительно от 0,01 до 1,20 мл, приблизительно от 0,01 до 1,10 мл, приблизительно от 0,01 до 1,00 мл, приблизительно от 0,01 до 0,09 мл.

[0290] Согласно некоторым аспектам схема введения доз содержит доставку в объеме по меньшей мере 0,01 мл, по меньшей мере 0,02 мл, по меньшей мере 0,03 мл, по меньшей мере 0,04 мл, по меньшей мере 0,05 мл, по меньшей мере 0,06 мл, по меньшей мере 0,07 мл, по меньшей мере 0,08 мл, по меньшей мере 0,09 мл, по меньшей мере 0,10 мл, по меньшей мере 0,11 мл, по меньшей мере 0,12 мл, по меньшей мере 0,13 мл, по меньшей мере 0,14 мл, по меньшей мере 0,15 мл, по меньшей мере 0,16 мл, по меньшей мере 0,17 мл, по меньшей мере 0,18 мл, по меньшей мере 0,19 мл или по меньшей мере 0,20 мл на улитку. Согласно некоторым аспектам схема введения доз содержит доставку в объеме самое большее 0,30 мл, самое большее 0,25 мл, самое большее 0,20 мл, самое большее 0,15 мл, самое большее 0,14 мл, самое большее 0,13 мл, самое большее 0,12 мл, самое большее 0,11 мл, самое большее 0,10 мл, самое большее 0,09 мл, самое большее 0,08 мл, самое большее 0,07 мл, самое большее 0,06 мл, или самое большее 0,05 мл на улитку. Согласно некоторым аспектам схема введения доз содержит доставку в объеме приблизительно 0,05 мл, приблизительно 0,06 мл, приблизительно 0,07 мл, приблизительно 0,08 мл, приблизительно 0,09 мл, приблизительно 0,10 мл, приблизительно 0,11 мл, приблизительно 0,12 мл, приблизительно 0,13 мл, приблизительно 0,14 мл, или приблизительно 0,15 мл на улитку, в зависимости от популяции.

Композиции одной конструкции AAV

[0291] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к композициям или системам, содержащим частицы AAV, состоящие из одной конструкции. Согласно некоторым таким аспектам одна конструкция может доставлять полинуклеотид,

который кодирует функциональный (например, дикого типа или иным образом функциональный, например, оптимизированный по кодонам) полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26). Согласно некоторым аспектам конструкция представляет собой конструкцию гAAV или содержит ее. Согласно некоторым аспектам, описанным в настоящем документе, одна конструкция гAAV способна экспрессировать ее полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26) в клетке-мишени (например, опорной клетке внутреннего уха).

[0292] Согласно некоторым аспектам композиция или система одной конструкции могут содержать любой из или все из элементов иллюстративных конструкций, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 45-51, 82-84, 88 или 100-107. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 82. Согласно некоторым аспектам одна иллюстративная конструкция представлена последовательностью согласно SEQ ID NO: 82. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 83. Согласно некоторым аспектам одна иллюстративная конструкция представлена последовательностью согласно SEQ ID NO: 83. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 84. Согласно некоторым аспектам одна иллюстративная конструкция представлена последовательностью согласно SEQ ID NO: 84. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно

SEQ ID NO: 87. Согласно некоторым аспектам одна иллюстративная конструкция представлена последовательностью согласно SEQ ID NO: 87.

[0293] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 54. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 54. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты нуклеотидов 12-4754 последовательности согласно SEQ ID NO: 54. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с нуклеотидами 12-4754 последовательности согласно SEQ ID NO: 54.

[0294] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит нуклеотиды 12-4338 последовательности согласно SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности нуклеотидам 12-4338 последовательности согласно SEQ ID NO: 17.

[0295] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 7.

[0296] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит нуклеотиды 12-4557 последовательности согласно SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым аспектам

меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности нуклеотидам 12-4464 последовательности согласно SEQ ID NO: 106. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит нуклеотиды 12-4464 последовательности согласно SEQ ID NO: 106.

[0306] Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 107 Согласно некоторым аспектам конструкция содержит SEQ ID NO: 107. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности нуклеотидам 12-4328 последовательности согласно SEQ ID NO: 107. Согласно некоторым аспектам конструкция содержит нуклеотиды 12-4328 последовательности согласно SEQ ID NO: 107.

[0307] Специалисту в данной области техники понятно, что конструкции могут подвергаться дополнительным модификациям, включая оптимизацию кодонов, введение новых, но функционально эквивалентных (например, молчащих мутаций), добавление репортерных последовательностей и/или другие рутинные модификации.

[0308] Согласно некоторым аспектам иллюстративная частица gAAVAnc80 содержит конструкцию, представленную посредством SEQ ID NO: 82.

[0309] Согласно одному аспекту иллюстративная конструкция содержит: 5' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 70, CAG энхансер/промотор, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 14, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 72, GJB2 5'UTR последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 66, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 73, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, FLAG последовательность со стоп-кодоном, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 81, 3' UTR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 67, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 75,

поли(A), проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 53.

[0310] Согласно некоторым аспектам иллюстративная частица гAAV Δ nc80 содержит конструкцию, представленную посредством SEQ ID NO: 83.

[0311] Согласно одному аспекту иллюстративная конструкция содержит: 5' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 70, CMV/CBA энхансер/промотор, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 12, химерный интрон, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 64, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 72, GJB2 5'UTR последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 66, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 73, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно FLAG последовательность со стоп-кодоном, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 81, 3' UTR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 67, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 75, поли(A), проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 53.

[0312] Согласно некоторым аспектам иллюстративная частица гAAV Δ nc80 содержит конструкцию, представленную посредством SEQ ID NO: 84.

[0313] Согласно одному аспекту иллюстративная конструкция содержит: 5' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 70, энхансер CMV, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 63, человеческий GJB2 промотор, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 61, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 72, GJB2 5'UTR последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 66, необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 73, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно FLAG последовательность со стоп-кодоном, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 81, 3' UTR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 67,

необязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 75, поли(A), проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 25, обязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 53.

[0314] Согласно некоторым аспектам иллюстративная частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, представленную посредством SEQ ID NO: 87.

[0315] Согласно одному аспекту иллюстративная конструкция содержит: 5' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 52, обязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 70, человеческий GFAP энхансер-промотор, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 91, обязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 72, GJB2 5'UTR последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 66, обязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 73, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, обязательно FLAG последовательность со стоп-кодоном, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 81, домен дестабилизации, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 80, 3' UTR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 68, обязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 34, поли(A), проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 25, обязательно сайт клонирования, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, проиллюстрированный посредством SEQ ID NO: 53.

[0316] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 61.

[0317] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, обязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность GDF6 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 90, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, обязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, обязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 62, последовательность

5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0318] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 54.

[0319] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность IGFBP2 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 57, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 55, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0320] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 17.

[0321] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность RBP7 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 28, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 27, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0322] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 17.

[0323] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность GJB6 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 16, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 41, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном,

содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0324] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 7.

[0325] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность PARM1 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 40, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 39, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, линкерную последовательность, проиллюстрированную посредством SEQ ID NO: 77, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0326] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 100.

[0327] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID

NO: 71, последовательность BACE2 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 92, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 108, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0328] Согласно некоторым аспектам частица rAAVanc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 101.

[0329] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность DBI2 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 93, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 109, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты

согласно SEQ ID NO: 53.

[0330] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 102.

[0331] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность FABP3 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 94, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 110, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0332] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 103.

[0333] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность KLHL14 промотора, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 95, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 111, последовательность

5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0334] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 104.

[0335] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность MMP15 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 96, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 112, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0336] Согласно некоторым аспектам частица rAAVAnc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 105.

[0337] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт

клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность SPARC промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 97, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 113, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0338] Согласно некоторым аспектам частица rAAV Δ nc80 содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 106.

[0339] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность TSPAN8 промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 98, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 86, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 124, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты

согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

[0340] Согласно некоторым аспектам частица rAAV_{anc80} содержит конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 107.

[0341] Согласно одному аспекту конструкция содержит 5' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 71, последовательность VIM промотора, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 99, hGJB2 минимальный промотор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 91, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 85, необязательно синтетический баркод, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 114, последовательность 5'UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 66, кодирующую область GJB2, необязательно последовательность FLAG со стоп-кодоном, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 81, 3' UTR, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 67, поли(A), содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 25, необязательно сайт клонирования, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 76, и 3' ITR, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 82)

```

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGC
CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGGGGTTCCSTGCGGC
CGCACGCGTGACATTTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCA
TAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCCGCC
AACGACCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTT
TCCATTTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTA
TCATATGCCAAGTACGCCCCSTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCC
CAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTA
CCATGGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCC

```

CAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGC
GCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGC
AGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGGCGGCCCC
TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCGTGCCCCGCTCC
GCGCCGCTCGCGCCCGCCCGGCTCTGACTGACCGGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCG
GGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTAATGACGGCTCGTTTCTTTCTG
TGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGG
GGTGCCTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGA
GCGCTGCGGGCGGGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGGGCCGGGG
GCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTG
GGGGGTGAGCAGGGGTGTGGGCGCGGCGGTCGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCC
CGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGCGCGGGGCTCG
CCGTGCCGGGCGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGTGC CGGGCGGGGCGGGGCCCTCGGGCCGG
GGAGGGCTCGGGGAGGGGCGGGCGGGCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGGCAGC
CGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCT
GTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTG
CGGCGCCGCGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTGC CGCGCCGCGTCCCCTT
CTCCCTCTCCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGACGGGGCAGGG
CGGGGTTGCGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTT
CTTCTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGTGTTGCGGCCCGCAG
CGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGGCGCCCGGCCAGGACCCGCTAG
GAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTT
CCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCT
CAGGACGGTTCATCAGTGCTCGATCCTGCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGC
TCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAA
GCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGAT
CCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATT
TTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTG
TCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAAGCTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCA
CATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGTCTAGTGGCCATGCAC
GTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTA
AGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACAC
AAGCAGCATCTTCTTCGGGTCATCTTCGAAGCCGCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTAC
GACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACTGTGGACT

GCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAAT
TTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCA
AAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACA
TCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGT
GCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAAC
CATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTA
AAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCA
CTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATAT
CGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAA
GGTTTGGGTGTCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTT
CTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCT
GTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTG
GATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATT
CGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGA
GGCTGTCTGTTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGA
CAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGT
AATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTC
CAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGG
TCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGG
AGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGAT
GAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAA
TATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATA
GGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACAT
ATTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAA
TAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTA
AAACATTTAAATATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTT
GCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCAC
TGTCCTTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTG
GGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGG
ATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAG
TGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT
CGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 83)

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGC
CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGC
CGCACGCGTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCA
TAGCCCATATATGGAGTTCGCGGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCCGCTGGCTGACCGCCC
AACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTT
TCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTA
TCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCCGCTGGCATTATGCC
CAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTA
CCATGGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCC
CAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGC
GCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGC
AGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGGCGGGCCC
TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGCGGGGAGTGCCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCGCTCC
GCGCCGCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTACTCCCACAGGTGAGCGGGCG
GGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACGGCTTGTTCCTTTCTG
TGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTCCGGGAGCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTT
CTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGTGTTGCGGCCCCGCAG
CGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAG
GAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCGGCTT
CCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCT
CAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGC
TCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAA
GCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGAT
CCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATT
TTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTG
TCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCA
CATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCAC
GTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTA
AGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACAC
AAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTAC
GACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACT
GCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTGGAAT
TTGCATCCTGCTGAATGTCACCTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCA

AAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACA
TCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGT
GCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCEAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAAC
CATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTA
AAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCA
CTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATAT
CGGCATTTGTTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAA
GGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTT
CTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCT
GTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTG
GATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATT
CGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGA
GGCTGTCTGTTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGA
CAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGT
AATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTC
CAACACATCTCCCTTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGG
TCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGG
AGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGAT
GAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAA
TATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATA
GGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACAT
ATTTCAAGTGAGGGTAAGTATTTTCCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATA
TAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTA
AAACATTTAAATATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTT
GCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCAC
TGTCCTTTCCATAATAAATGAGGAAATGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTG
GGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGG
ATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAG
TGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT
CGCCCAGCCCCAGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 84)

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCGTGGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGC
CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGC

CGCACGCGTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCA
TAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCC
AACGACCCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTT
TCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTA
TCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCC
CAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTA
CCATGGGTAAAGCTTCCGCAGAATCCTATCAGTTTTCCCCCTTTCGTGCTGTGTGCATCGAGCAGG
AAGGGGCTTGGCAGGTTTTACCTGCCCTCTTTCCTTTCTGAAAAGTCTGGGCCTCCTCACCCCG
AAAGGAGTCACCTCCTTGCAGTTCCCCAGTTGCGAAAAGAGGAGGAAGTTGGCTGGGCCGGGGG
CCGCGGGGGGCACCCTCCGCAGATGGCGGGACCCCCCTGCCGGCCATGGCAAAAACGAGGCTTG
TCTCTCCCACCGCCCCCAACCTTAGTCCTTGGCACATTGTTGAAAGTAATTGAATAAAATCGGA
AATTCGAGAAGGCGTTCGTTCCGATTGGTGAGATTTTGAGGGGAGAAAGAAGCGGGGACTTCGC
CGGCACCAGCGGCGCCCCCTCCTCGGCCACCGTTAACCCCCATTCCAGAGGGCACTGCCCGGCC
ACCCAGCCTAGGTCCCCCTGCGAGAGCCTCGCGGGCCCGCGCAGCCTCCGCGACTCGAACAGAT
CTTCAGTCCTTGGAGGAATGCCTGTTTTCTCTAACAATAAAAAATTAAAGAAGCGCTCATAAATG
CCAAGTCCTCTCGCACTATGCGGAGTACAGAGGACAACGACCACAGCCATCCCTGAACCCCGCC
CACGGCACAGCGCCGGAGCCGGGGTCTGGGGCGCCGCTTCCCTGGGGGGTCCCGACTCTCAGCCG
CCCCCGCTTACCCGGGCGCCAAGGGGCTGGGGGAGGCGGCGCTCGGGGTAACCGGGGGAGAC
TCAGGGCGCTGGGGGCACTTGGGGAACCATGGGGGCTCAAAGGAACTAGGAGATCGGGACCTC
GAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTCGCGGACCCGGGAAGCTC
TGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCT
CCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCCTG
GGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCG
ACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAG
AGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGCCCCGCGCGCTTCCCTCCCGACGCAGTTTAGGACC
CTTGTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGTTCCATCAGTGCCT
CGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGA
GAGCTGGGTTCGTTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGT
AGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACAC
TCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTG
TGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGG
CTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAG
CTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGA
AGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAAC

CCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTC
ATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGC
TGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGA
GAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACT
GAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGG
CTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGA
CAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTC
GCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCT
CAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAA
TTCTATGCCTGTCTTAATTTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGG
GTTATTGGTGTAAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGA
GGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTGGGGT
TCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTT
TAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAA
ACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCT
GTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAA
ATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGT
GGTCATAGCACCTAACACATTTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGAT
GGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGA
CTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATG
ACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACA
CAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGAGAAGTTTCTGTCTTAAAAAC
AGATTTGGAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGT
TTGTTTGTCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAA
GAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTG
CCATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTT
TCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAAAGAATAGCTTTAATGATAT
GCTTGTAATAAATAAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAATAATAATCTCTA
TAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCC
CTCCCCCGTGCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTTCTAATAAAAATGAG
GAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACA
GCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGC
TTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTC
TCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGGCACCAAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCC

CGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 87)

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGC
CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGC
CGCACGCGTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCA
TAGCCCATATATGGAGTTCGCGGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCC
AACGACCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTT
TCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTA
TCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCC
CAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTA
CCATGGGTTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCC
CAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGTCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGC
GCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGC
AGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCC
TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCGCTCC
GCGCCGCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTACTCCACAGGTGAGCGGGCG
GGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACGGCTCGTTTCTTTCTG
TGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGG
GGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGA
GCGCTGCGGGCGCGGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGG
GCGGTGCCCGCGGTGCGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTG
GGGGGGTGAGCAGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCC
CGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCG
CCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCGCTCGGGCCGG
GGAGGGCTCGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCGCGGCGAGC
CGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCT
GTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCGCACCCCCCTTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTG
CGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCCGTCCCCTT
CTCCCTCTCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGACGGGGCAGGG
CGGGGTTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTT
CTTCTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGTGTTGCGGCCCCGCAG
CGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAG
GAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCGGGCCCCGCGCGCTT

CCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGGCTGAGACCCGCGTCCT
CAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGC
TCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAA
GCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCAGCTGCAGACGAT
CCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATT
TTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTG
TCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAAGCTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCA
CATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCAC
GTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTA
AGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACAC
AAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTAC
GACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACT
GCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAAT
TTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCA
AAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACA
TCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAGCTCAGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAACTCGA
GCAGTGAATTCTACCAGTGCCATAGGATCCAGTGTGAGTTCTACCATTGCCAAAGGTACCCAGT
GAATTCTACCAGTGCCATAGTTAACCGCATTGCCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATG
AGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAG
ATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCAC
AATGGAGCCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTT
CTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTATTGGTGTAAAGGTACTTT
CATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGG
TTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCA
CGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAA
GTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTA
TTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTA
ATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAA
TACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACACAT
TGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCC
TCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACT
ACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGA
AAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGG
ACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTC

TAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGGCTTACCCCTTCAGC
 CTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGA
 TAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACGCTGATC
 AGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCCGTGCCTTCCTTG
 ACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTTGTC
 TGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGA
 AGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGC
 CTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTC
 ACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCG
 AGCGAGCGCGCAG

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 61)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACCTTTGGTGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTCCACAGGTAACCTCCGTGC
 GCGTCCACAGGGGGGCAGGAGATACCATACTGCACAGTTGTACGTCTTCCATCTGTT
 TGGTGTAGAAAAATCTAACCCTACAAGAATGCCACGGGCACTGTGGCAGACAGAA
 GCAGCGCTACGCCGCATCGCCTTTCAGCGTGCAGGCCAGGAATGAGCGAGGCAGT
 GGGCGGGGAAGACAGGCACGGGGAATCTGGGGACAGATAAAGGAAACTCGTGATG
 GGGCGAGGCTGGGCTGAAGAGAAACAGATTGGGGTAGAGCTGCAAAGGGAGGGGT
 CCACTGGAAGGCAGGGGGGAGGCCGGGAAGAGAGAGGGTGGGAAGGCAGTGTGA
 GATGGGAGGGCAGTGTGAGAAGAAAAGCAGGCTGGGGAAGAGGGATTGGAATGCA
 GAAGGAACTTGGGGAAGGAGGAAGTCCTGCAGGCAGGAGGGAAAGAAGAGAGGG
 GGAGCAGCTAAAGTCTGCGTCAGAAGAGGTTGGGGACTGCGAGAGGAGAGGCTGG
 GGCCTGCAGGGGAGCGCAGCAGCTTTTAGCATCGATCCAACTCTAAAGACTCGTG
 GCCTTTGCCTGACCTCGAGGGTCGGGAATAGACGCCTGTCTTTGTGGAGAGCGATAC
 CCAACCGAGAAAATGGGGCTGTTCCGAGCTGGGCCCTGCGCCTGGCCCAGGGCGAG
 GCTTCTCTGGCTCCGGGCTGGCCCCTGAGGGGCAGCACGCAGCCTGCAGCAGAGGC
 GCCTGCTCCAAGCTGTCTCTTGGGGGCGCCGCCCGCTTCCCTCCTCCGGGGCCGC
 TCGCTCCCAGGAAAGTGGAGGCGGCTGGCGAGGACCGAGAGCCGGGGCCGCGCTGC
 GGAGGGACCACACCTCCGGGAGTTCGAGGGGGACCCTGGCGCGGCGGGCCAGCCTT
 TCGGGCCGGCAGCGCCCGCCTTCCCCGGTCAGCGCTTGCGGCCCGCGCCGCGCGCA
 CCGCCCCGCAACCCCGCGCGCGTCCCGCGGGGGCGCTGCGTCTTCTGCCACACCGG

CGCACCGCGGCCCTCTCCCCACACCTCCGGCCCGCACCAACCGGCTCTCCTCCCA
CCCTCCCCACCCCTCCTCTGCCCTCCCTCCCCATTCTCCCCTCCCGGCGAGGGGCGG
GAGGGGGCGTGGCGGGGCCGGGGTTTGTGTGGCTGGGACCCGGCTCCTCAAGCTCT
GAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCCGCCCCCTCCGTAAC TTTC
CCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCG
GGAGACAGGTCTCACCGGTGTGTCACCGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCT
CTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCA
GGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCCGCGCT
TCCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACC
CGCGTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAG
GCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTGGCC
ATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTA
GCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTC
CACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTTTCATTTTTTCGATTATGATCCTC
GTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACAC
CCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCATCTCCCACAT
CCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCAT
GCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATA
AAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAG
GCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCG
CCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGA
AGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGG
AGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGA
ATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGC
CAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGAC
ATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGA
GGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTCAACACAAAGATT
CTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATG
CCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTG
TCTTAATTTTCTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTAT
TGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTG
AGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTC
CTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCCTTCA

TTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCT
GTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGA
TGTTCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAA
ATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATA
CTTTCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGTCATAGCACCTAAC
AACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGA
TAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACT
GGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTT
CCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGG
AATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGA
GAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATT
AAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTT
TTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGAT
AAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACA
TGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGTTGT
CAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGC
TTGTAACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAATAATAAT
CTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATC
TGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTC
CTTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATT
CTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCA
GGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCG
GACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCG
CTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCAGCGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGC
CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCT
CCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCG
CCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGC
TACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTCTCGCC
ACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGA
TTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGT
AGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTT
TTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTAT
TCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGA

TTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGT
GCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGC
CAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGAC
AAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCCGTCATCACCGA
AACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGA
ACAATAAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATT
CAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGG
GTATAAATGGGCTCGCGATAATGTGCGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTA
TGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCA
ATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTC
CGACCATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGA
TCCCCGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAAT
ATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAATT
GTCCTTTTAACAGCGATCGCGTATTTCTGCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATA
ACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAAC
AAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTC
ATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTA
TTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGA
ACTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTTCAAAAATATGGTAT
TGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAA
TCTCATGACCAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGT
AGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTG
CAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACC
AACTCTTTTTCCGAAGGTA ACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATAACCAATACTGTCCT
TCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATA
CCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTT
ACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCCGGGCTGAAC
GGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGAT
ACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGAC
AGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAG
GGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGC
GTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 4. Компоненты последовательности конструкции (SEQ ID NO: 61)

Компоненты	Положение в конструкции
5' ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
GDF6 промотор	148-1335
hGJB2 минимальный промотор	1336-1463
Сайт клонирования	1464-1472
Синтетический баркод	1473-1480
5' UTR	1481-1842
GJB2 (экзон2)	1854-2531
3xFLAG	2544-2609
3' UTR (экзон2)	2613-4019
bGHpA	4041-4265
Сайт клонирования	4266-4299
3' ITR	4300-4429

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 54)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACSTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTAAGAACTTGCCCGAGTT
 TACACAGCTAGTAAATGGTTGCATTAGTCAGGACAGCTAGCCTATATTACAATAACA
 ACCCTCTCAAATCCTAATGGCTTAAAACAACAGAGGTTTAAATTTATACTCATTAGCT
 GTTCAAGGCAGGAGGCTCTATTCTCTAATCCATACAGTCACTCAGGATCCAGGCTGG
 TGGAGACCCTGCCATATTGTAGCCTCACCATTTAAAACATGAAGAAGATAGAAAGT
 GAGGAGTCATGTAGGTTTTGTTCCGTTGCCTCAGGCTAGGAGTGACAGGTCACTTCA
 TCTCACTCACAGCTCACTGCCACAACCTAGTCACTTGTGACTGTGCGAGTTAAGCTT
 CTGTGTGTGAAGGAAGGAAAAGAGAATGGGATAAAGGTGAACATCAGCAGGCTCT
 ACCACAGTAGTTTGAACCAAGACTTGAGCCTAGGTCATGTGGCTTCAGAATCTTTGC
 TCTTAATCACACTAAACAGCCTCTGTAAGTCATCTTTCCTTCATCCAGTGCCTAAGAA
 CATGCAGTCCAATGCCCTCATCCTTCAGAAGAAGTTGAGTGAACCTCAGAGAAATTGA
 GTAGAGTGCCACAGCATGCCCAAGGCCACACACCCTGAGGTTGGCAGTAGGTCCTG
 AGTTAGAGTTGTCATTTCTTGGCTCCCCTGGTAGTAGTGGAAGGTAAGGTTTTGAC

ATACTAGTTGGATGACCACGGGCAGGTCACTTAAATTGTCTAAGCATCGTTTGACCC
TTGTAAGAATTAAATGAAATAGCACCTGTAAAAGTGTCTGCACGGACTTACTGCTGT
TAGTTTTGTTCCCTTTCTTCCTGTTGTCACTGCACTTCCCTGCCTGTTACCCAGGCCATG
CAGACCAGCCAGGCCTTCGACTTACAGTGC GGATAAGATTCCAAATCTCCACGGCTG
GTTTCCATGCTTTCTTCCAGGCTTCTGAGGACCCTGTGCTCTGGTTTCTTCTATTTCTT
TTCTATTACTTTTCTGTTACTCTTGAGCACACTTGCTGGAAGCAATATGCATCCAGTT
CTCCCTCTCTTGCCCTCATTACACTTTGCAGAACAACCTCCAATCCCTTCCAACCAAGTA
GTCCCTTTGAATTTCTTGTACCCAAGGAATCTCTCTGACAGGGGTCTTTGTTAGGGT
CACACCCCAGGAGATGGTTGATTATGGCTGAGTCCAGCCTGGAATGATGGGGGTTG
GGGGCAGCTTGGGTAGATGACTCAGTAAATCAAACAGAACAATGAAAGGAGGTCAT
GCTTGTCCATCTGCATTATTGAAGACAGCCATAAATGGCCTTACCCAGAGCGGGTC
TGTCACACCTGGAGAGCTGATCTGACCTCTCCAAGACCCCTGCAACTGAGTGTTCTG
GGATCTGTCTGCAACAAGTGCCTCGAGATTTGTAGGTGGGGGCCAGAGGGAGGG
GGTCTGCAGACGAAGGGGGCAGGTTTTGCGGGGCACTTAGGGTTCTCATAGGTTGT
AGTCACGAGCTCCAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCG
CCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGGCGGGGTGTGGGGTGCG
GTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCACCGGTCACAACCTGTTGCGGCC
CGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCCA
GGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCC
GCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTGCGGAAGAG
GTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTG
CCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGA
GAGCTGGGTTCCGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCG
CCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGG
GGGTGTGAACAAACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCAT
TTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGC
CGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTA
CTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCA
GCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTT
CATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAG
AAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGG
GTCATCTTCGAAGCCGCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCA
TGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTG

TGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAA
TTTGCATCCTGCTGAATGTC ACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGG
GAAGTCAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATT
ATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGC
ATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTC
CCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGG
TGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGC
CTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAG
GCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCA
TTTGTTCCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGA
GAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGA
ACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTAAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACC
AGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTT
ATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCA
GATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTC
TTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGG
TCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTA
GTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGT
AAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCA
ACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAA
AGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATG
GGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTC
TAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTTCCTTACCCC
TTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAA
GCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGC
CATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAA
GTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAGAATA
GCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAA
ACATTAATAATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTC
TAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGT
GCCACTCCCCTGTCTTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGT
AGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTG
GGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTC

AGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCT
CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACCCCCGGG
CTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGGCGCC
TGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAG
CAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGCGGGTGTGGTGGTTAC
GCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTC
CCTTCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCC
CTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCCAAAAAACTTGATTTGG
GTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACC
CTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTT
AAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTT
TACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCA
GCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTCTGCTCCCGGC
ATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTTC
ACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTTATA
GGTTAATGTCATGAACAATAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGT
GTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAATTTCCAACATGGA
TGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGAC
AATCTATCGCTTGATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTTCTGAAACATGGCAA
AGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGG
AATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGTT
ACTCACC ACTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTG
ATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTCGA
TTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGCGCA
ATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGG
CTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGA
TTCAGTCGTCACCTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAA
TTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTT
GCCATCCTATGGA ACTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTT CATTACAGAAACGGCTTTTTTC
AAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCG
ATGAGTTTTTCTAATCTCATGACCAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAG
CGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCG

TAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGG
 ATCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATAC
 CAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAAGTCTGTAG
 CACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCG
 ATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAG
 CGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTA
 CACCGAAGTGAAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAG
 GGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCAC
 GAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCA
 CCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAA
 AAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCAC
 ATGT

Таблица 5. Компоненты последовательности конструкции (SEQ ID NO: 54)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
IGFBP2 промотор	148-1660
hGJB2 минимальный промотор	1661-1788
Сайт клонирования	1789-1797
Синтетический баркод	1798-1805
5'UTR	1806-2167
GJB2 (экзон2)	2179-2856
3xFLAG	2869-2934
3'UTR (экзон2)	2938-4344
bGHpA	4366-4590
Сайт клонирования	4591-4624
3'ITR	4625-4754

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 17)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACSTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTCCCATGGCTCTGTAAAA

TCAAAGAAACATCTTTTCCAACAGCCCTTTCAAACCTCCTCATCGCATCTCACTGGCT
GATTCAGTCATTTAAACCTGCTTCTCCCTAAAGCTGATCACTGGCTAAGCTAATAGG
GTTTCCGGGATTGGTTTAGCCTGATACTAATCCAGGTCTACCTTCAGGAGCCAGACC
AAACTGCCTATTGGCATTGCATTCTTGCAGTAGGGAGGGGAGGTATGGATGGTGTG
GAGTCCACCACAAGGTCCATGCCAGTCTTTGCTGAACCAGCATCAGACTCCATCAAG
CAACAGATGAGAGGTTCCATGATAAAGTGGCCCTCAGCAATCCCCATCCATTGCTGT
CTAGGAAGAACAGTGCTTGTACACAGGTTTAGGACCTCAGTCTTGGCTGTAATCTTC
TGGTTTACTTTGCCAGCACCAAACAGAAGGAAAGAAAGGGCTCAAATTTGACCAA
TAAATTATGCTTCTCCTTCCAGAGATAACCTTGAGTCCTGTCTAGGAAGATATTAGA
ATTGTAAGAAAAAAAATTACTCCTTATCCTATGGCAAGTGGAGTCTATGTCTAC
TTCAGCTGAAATTAATCCTGTCCATAATAGATGACCCTTGCTCAAGCTGGCCAGAA
GCCATAACCAACCAGCACGAAGGTTAAACTATTATTAGTTTTTTTCTGTGATTTTCATT
TTCAGGCCAAGTTTTAGAACATAAGATTTTAAGAATAGGAAGTAAGTAAGATTTCT
GCATATCCTGTTCTCTTAGTCAGCTGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGTCCTAACTCA
GCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCACCAAGCCTGGAATCTA
TGTCTTACAGTTATGAGAATCAACAGCTAGCTCATTATGGGCAAGGTGATGTCACTC
TGGCTTCTCAATGAAAATGGCATTCTCCCTTGAAAAGGTCATAGCCAGTCAGTCA
GTCAGTCACGGGAGCGCAGCGGCTTCTAGGGGTGAGTGGGACCCACGCGGCCCCAC
CTGCTCCTCCCGCGCGCGGCCCCACCCCCCTGCCCCGCCCCGCCTGGTTTATAGAAG
CTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCCCCCTCCGTAAC
TTTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACG
GCGGGAGACAGGTCTCACCGGTCGTGTGTTGTTGCGGCCCCGACGCGCCCGCGCGCT
CCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGC
GCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCCGC
GCTTCTCCCGACGCAGTTTAGGACCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAG
ACCCGCGTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGA
AGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGG
CCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGC
TAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACAC
TCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCC
TCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAAC
ACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCAC
ATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCC

ATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGA
TAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAA
GGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCC
GCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTG
AAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCTAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACG
GAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTG
AATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAG
CCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGA
CATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATG
AGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGAT
TCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGAT
GCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCT
GTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTA
TTGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCT
GAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGT
CCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTC
ATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACT
CTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTA
GATGTTCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGT
AAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAA
TACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGTCATAGCACCTA
ACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTAT
GATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGA
CTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTT
TTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGG
GGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGG
GAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGA
TTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAAT
TTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAG
ATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGA
CATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGT
TGTCAGAATAGCATTGTA
AAAAGCATT
TTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATA
TGCTTGTA
ACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTTAAAATAT

AATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCC
ATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCT
GTCCTTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCT
ATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATA
GCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGC
CTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCG
CTCGTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGG
CGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGGCGCCTGATGCGGTAT
TTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGT
ACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTG
ACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTC
TCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGT
TCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTT
CACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCA
CGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGG
GCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGA
GCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTT
ATGGTGC ACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACA
CCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTCTGCTCCCGGCATCCGCTTA
CAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATC
ACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGT
CATGAACAATAAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGC
CATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTA
TATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCG
CTTGATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCG
TTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGC
CTCTTCCGACCATCAAGCATTATCCGTACTCCTGATGATGCATGGTTACTCACCAC
TGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTG
AAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTTCGATTCCTGTTTG
TAATTGTCCTTTTAAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAAT
GAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGT
TGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGT
CACTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGG

TTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCT
 ATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATA
 TGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTT
 TTCTAATCTCATGACCAAAATCCCTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGA
 CCCCCTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTG
 CTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGGATCAAG
 AGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATA
 CTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAAGTCTGTAGCACCGC
 CTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGT
 CGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTTCG
 GGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGA
 ACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA
 AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGA
 GCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTTCGGGTTTCGCCACCTCTG
 ACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACG
 CCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 6. Компоненты последовательности конструкции (SEQ ID NO: 17)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
RBP7 промотор	148-1244
hGJB2 минимальный промотор	1245-1372
Сайт клонирования	1373-1381
Синтетический баркод	1382-1389
5'UTR	1390-1751
GJB2 (экзон2)	1763-2440
3xFLAG	2453-2518
3'UTR (экзон2)	2522-3928
bGHPA	3950-4174
Сайт клонирования	4175-4208
3'ITR	4209-4338

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 38)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
CGACSTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTAAATAGCTTCCAACGTTT
CCACCCACCAGCCCTTGCACCACTCCCTGTACTGGCCCTGAGCTTTCTAGTCTTGAC
TGAAAAGCGGGGAGGCAATGTGGTCTCTCCTGGTGCCTGTCCCGAGGAAGGCCTG
CTCCGCTTCCCCGGAGGAGTCTTCAAAGGATGGAGGTAATTAATAAAAACAACCCC
TGTAACCTCCTCTAAGTGGTCATTAATTAATAAAGAACCTCCAGGCTCCTATAGGAGA
GGTCTGTGCACCCCGCGGGCTATGAGAAGGCTGGATCACCCAGAAAGACTGAGGAT
GTGTCCTGGCAAAAACACAGCCTGCCCTCACACTGCTCCCCACGGGTGCACTAGGG
AGGAAGAGTTCCCTCGAGGGCCTGAGCAGGCGCCCCACACCTGCACCCGTGCAGAG
GGGGCTGGGCCCCGCCCTCTGCGCTCCCGAGGGAGAGCCCTACCCCTGCATCCCCGG
TACCCCGTTCCCTCCAAGGGCCGAAAGAGGGCCCCGCGCACTGTGCACTTCTTAGG
GGTCCCCACCCTGCGCCCCCGCCACGGGAAAAGGTCCCCGCTCTGCGCATCCGGC
CCCGGAGGGACAGCCCCGGTCTGCACTCCTTGCTCCTCAGGGGGACGGTCCGCGCC
CAGCGGCTAGTGCGCCCCGGGTAGGTGGGGGCGGGGGGCTCGTCGAGTGACAGCGC
TCGCCTCCCGCAGCCCGCCCGAGCCGCGTCAGGGCAGAAGCTCTGAGGACCCAGAG
GCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTCCAGTCTCCGAGG
GAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTC
ACCGGTTTCGTGGGTGTTGCGGCCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGG
AGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGC
AGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGCCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCA
GTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCCTCAGGA
CGGTTCCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAG
CGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTTGGCCATGCACCTGGGACT
GCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTG
GGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAA
AGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAA
GGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCT
GCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCC
TGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACC
GGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAA
GGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGA

CCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTT
CTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCC
TTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCAC
AGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGT
TATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCT
GACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGA
CGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCT
GTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACC
ATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCT
CCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTT
AAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTCA
TATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAG
CCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGC
CAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAA
TCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTTGGAGT
GAAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATAACCATTAT
ATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTA
CTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAG
AGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATC
GAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATG
TCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTA
CTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCC
AGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGT
ACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAA
AAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCT
ACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAG
CTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCT
ATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGG
TACTCCACATATTTAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTA
AAAGCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAAT
TTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAATAATAATCTCTATAATAAGAGCT
CGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCC
CCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAAATG

AGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGG
GGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGC
GGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCC
TAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGC
GACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGA
GCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGC
GGTATTTACACCGCATAACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCAT
TAAGCGCGGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCC
CTAGCGCCCGCTCCTTTGCTTTTCTTCCCTTCCCTTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCC
CCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTTACGGCA
CCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTG
ATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTG
TTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGG
ATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAAC
GCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCCTCTCAGTACAATC
TGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCG
CCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCC
GGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAA
GGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAATAAACTGTCTG
CTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCG
AGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGC
GATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGC
GCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATG
AGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATT
TTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAG
CATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGG
CAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAAACAGCGA
TCGCGTATTTGCTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGC
GAGTGATTTTGTGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAA
TGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTCATGGTGATTTCTCACT
TGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGT
CGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAACCTGCCTCGGTGAGTT
TTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATG

AATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAATCTCATGACCAAATC
 CCTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGA
 TCTTCTTGAGATCSTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCAC
 CGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGG
 TAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGT
 TAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCC
 TGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAA
 GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACA
 CAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCT
 ATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGC
 GGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGT
 ATCTTTATAGTCCTGTTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATG
 CTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGT
 TCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 7. Компоненты последовательности конструкции (SEQ ID NO: 38)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
GJB6 промотор	148-882
hGJB2 минимальный промотор	883-1010
Сайт клонирования	1011-1019
Синтетический баркод	1020-1027
5'UTR	1028-1389
GJB2 (экзон2)	1401-2078
3xFLAG	2091-2156
3'UTR (экзон2)	2160-3566
bGHPA	3588-3812
Сайт клонирования	3813-3846
3'ITR	3847-3976

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 7)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
CGACSTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTTGTACAGGAGATAGTCA
GGGAATTAGTAATTTTCAAAGAGGTGACTTTGAATTCAAACTTAAATATCATCTTCA
GCTGAAACAAAGAAGGGGTGCAGTTATGAGGAAGTGACCAGGTAAAGCATGGCAA
ACAAAGGTAAAGTTTGTATGCGTATTTAAGTCAGAGCCCTCTCCATTGATAAGAGT
TTCCAGTAATTTAGTGCCATCCTTTTCTTGCTATAGAGTTCTCGTCTCTATCTGAGCA
CGCAAAAATAACATGCTTTCTTGCTTTCTTGAAGTTGGGCATGGCCATTGACTTGCCT
TAGCCCATATTTTTCTGTGAAGTGGTCTTCAAAAACCTATATTTCTGCCATAGAGTCA
CTTACTTAACTGCCCCTATTTAAAGGGGCTAATGCCTGATAGAATGTCGCTGCATAA
CTCCATCTGTGTGTGGTCCCTGCATCCATGACAACCAAAACCCAGATGCAGAAATTG
TTCCTAATCACATAGATTACCCTAGAAACCGGAAGGGCCTTGAAGTCAAAGCATTC
AGAGAACATGCTGAACAAATTGAATTTGCAGTTTATCTGGCCAGGGAGGATGGAGA
GGGGATGGGCACTTGGTCTGAGTATTTTTTGTCTTCTCATTCCAACAGAAATTACTAG
ATTTACCAAAAAATCTACAAGTGGTAGTGTGATAGAGTCAGGCAGAGGAATTGACC
ATAGATAAGGTGCTCAGGACTCCTAGAGTCAGCTTCTGGTATGTGAGAAAGAAGTG
AGAACAGAGCCCATGGCATATGAAGAAGATATTACAGAAAAAAGAAAGCTGCCTTC
CACGCAAATCATTCTTTACAAAGGCTTGTTAACTCCTGCAGTGCCAAGAAGCTGAA
TGCAGCGGCAGACATCCTGGTTCGGGCCCCAGGAAGCTCAGCCGGGTTTAATGTGG
ATGAGGGTTTAATGATGTACACGCAGAAGTGTTTTGACAAATGAAGAAGGTCCTCA
TTCTTGGAACATGTGCCGGTTCTCCGAGGGAACCTCTAAAAGGCTGTAAGCTCATGT
AGGAAAAGCTGAGCTAGATTCTTAAGGGCAGAGATGTGCTCACATTTCTTTGCATCC
CTAGTTCCCAGCACAGTGCAAGGCGCTGCAAACATTTGCTGAACCCAGGGTCTCGTG
TCTT7GACTGTCCAGCAGAGGCCGCTCTGGGCCGGGGCTCTCGGGACCTGAGGGCTG
AGAGAAGGAAGGCCAGGGGGTGGCCCAGTCATCGCCGCGGGGCCCGGGTGGGAGG
GGTTTGGCAGCGGCAGGCGCGGCGGCGGCGGAGGCGGAGGCGGCCCGGGAA
GCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCCCTCCGTAA
CTTTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCAC
GGCGGGAGACAGGTCTCACCGGTGCAAACCTGGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCG
CTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAG
CGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCCG
CGCTTCCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGA

GACCCGCGTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGG
AAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTG
GCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCG
CTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACA
CTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATC
CTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAA
CACCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCA
CATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGC
CATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAG
ATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGA
AGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTGAAGC
CGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTG
AAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCTAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACG
GAGAAGACTGTCTTACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTG
AATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAG
CCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGA
CATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATG
AGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGAT
TCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGAT
GCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCT
GTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTA
TTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCT
GAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGT
CCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTC
ATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACT
CTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAA
GATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGT
AAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAA
TACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTA
ACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTAT
GATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGA
CTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTT
TTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCGCTTG

GGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGG
GAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGA
TTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGGCTTACCCCTTCAGCCTCCAAT
TTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAG
ATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGA
CATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGT
TGTCAGAATAGCATTGTAAGAGCATTGTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATA
TGCTTGTAACATAAATAATTTGTAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAATAAT
AATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCC
ATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCT
GTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCT
ATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATA
GCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGC
CTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCG
CTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGG
CGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGGCGCCTGATGCGGTAT
TTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGT
ACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTG
ACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTC
TCGCCACGTTCCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGT
TCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACCTTGATTTGGGTGATGGTT
CACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCA
CGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGG
GCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCCGGCCTATTGGTTAAAAAATGA
GCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTT
ATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACA
CCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTCTGCTCCCGGCATCCGCTTA
CAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATC
ACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGT
CATGAACAATAAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGC
CATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTA
TATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCG
CTTGATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCG

TTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGC
 CTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGTTACTCACCAC
 TGCATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTG
 AAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTTCGATTCCTGTTTG
 TAATTGTCCTTTTAAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGGCGCAATCACGAAT
 GAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGT
 TGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACC GGATTTCAGTCGT
 CACTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGG
 TTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCT
 ATGGA ACTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAATA
 TGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTT
 TTCTAATCTCATGACCAAATCCCTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGA
 CCCC GTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTG
 CTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGT TTGCCGGATCAAG
 AGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTA ACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATA
 CTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGC
 CTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGT
 CGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCG
 GGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGA
 ACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA
 AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGA
 GCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTTCGGGTTTCGCCACCTCTG
 ACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACG
 CCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 8. Компоненты последовательности конструкции (SEQ ID NO: 7)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
PARM1 промотор	148-1463
hGJB2 минимальный промотор	1464-1591
Сайт клонирования	1592-1600

Синтетический баркод	1601-1608
5'UTR	1609-1970
GJB2 (экзон2)	1982-2659
3xFLAG	2672-2737
3'UTR (экзон2)	2741-4147
bGHpA	4169-4393
Сайт клонирования	4394-4427
3'ITR	4428-4557

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 100)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACSTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTTGTGCTGCGAGGGCTTCA
 TCTCCTAAGCACTAAATGCTAAATCCCCCTCCACGCCCATCGCCACTGTCCTCAC
 GGATCCTCGCAGCAGCTTCCCAATCGGTCTCCCTGTCTCCAGCCTCACCACCCCAA
 СТАAGACCATTCATGAAAACAGAGACAACCAAGGAGACAGTCACCCAATGCTGTCC
 CTTCAGCTTGCATTATTTCTGACAAGACAGCTCTGCCATCCATGGAAGCCTGTGTTT
 GAAGATCTCTGACATAAAGTCCCTTGCAGAGCTAGACGTGATTCTAAAATTGGGA
 ACACAGGAATAAAAATCAAATCTTGAGTAGAAGTAGCTGAAAATTGCAGTGATTCCG
 GGGAAGCTTGGCTTCTAACTCCCCTGTTTGAAGATGGGCTTGTTTGTTTTTAAAA
 CAGCCAACATAATTCAGCTGGAGGAGGTACAAAGAATTTTCTATTCCTTGTTTCTGT
 AGAAATCGATGGACTTTAGCTTGTCTAATTGTCCCCCTGCCTTTAGTATCTAAAATA
 AAATAACCCTCGTTGCTTGCATTACTCAACGCATTTCTGCGTCTTGGCGTCTATGGCT
 AAACGAGTATTAATTAGACAGTCCGCAGAGAGCTGGCTGGGGATAGAAGGGGAGGT
 GGGGGAGAAGGGCAGGGATCACAGCAGGGTGGACTCGTGGCCCTGATTTGGGATCC
 TGACAGCAACTTACTAGGTGGCCTGAGGGCTGGGTGCCAGGGGAGGCAGCGGGTTC
 CAGTAGCATCTGACCTGCATTAGGGACAGGGGCGCGGCGGAGGGGGCGAAGGGGG
 CGGGGGTGGGGGAAGGTGGCTGGGGTGAAGCCCAGCTTCGCAGCTAGCTGTGGGC
 AACAGAGGGAGTAAGGGGGGGCAATGAGGCTGGGGCCAGGCGCCAGCAGCAGCCA
 CGCCCCCACCTCCCCGATTTTATAGGGAAAATTCTCCAAAGCTCTCGCATCCTCCTC
 TGCCTCCTTCCACCCTCCACCCTCCAGCCTCCACTGAGACCTCTTTAAAACCAACCA
 GGGGCCGCCGGGGGATGAGGCCGGGGAACGGGCTGGACTGAGGGCGGGGGCTCGG
 GGGCAGCGGACGGGAAACGCCTCGAAAGCAGCCAGACCCGGCGACTGAAATGAGG

CGGAGGAGCTTGGCGAGGGGAGGCGCAGGCTCGGAAAGGCGCGCGAGGCTCCAGG
CTCCTTCCCGATCCACCGCTCTCCTCGCTGACCTCCGAGTCACCCCCGGAAGCTCCC
GCCACTGCCGGGCGAATAGACCCCCGCGGACCCCCAAGCGCGCGGGGCCGGGGCCC
TAGTTCAGGCCCTCGCTGCCCTTTAAGGGTTCTCGAAACTTTCCCCCGGTATCAG
ATGAGCCTCGTCACATCCGTTGGCCGTGGCAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGC
GCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGG
CGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCACCGGTCC
TACGCTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTC
GGCGGCGCCCCGGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACC
CCAACGCCGAGACCCCCGCCCGGCCCGCCGCGCTTCTCCCGACGCAGTTTAGGA
CCCTTGTTTCGGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGTTCCA
TCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCCAACAGCGCTCACC
TAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAG
AAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGC
TGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGG
CTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGT
GGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAAC
GTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTG
ATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACAT
GAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCG
AGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACA
AGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCA
TGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCTCA
AACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTCA
TGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCT
AATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACA
AAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGAC
AAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAG
GCTCAGTCGCTAGCATTTCCTCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGA
AACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTA
AAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTA
GTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTCATATTTT
AAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGG

TTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACT
TTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCT
AACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAA
CTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCC
CCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATG
ATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGC
TGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACCAACATTGTAGCCTCAATCGAGT
GAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAA
ATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTAC
CTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCA
TCGGAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCAT
TTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTTCGTTAAAAACA
GATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTC
AAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAAT
AACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGG
AAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTC
CACATATTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGC
ATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGT
AATGTATCAAATACATTTAAAACATTTAAAATATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTG
ATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTG
CCTTCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCTAATAAAAATGAGGAA
ATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAG
GACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGG
GCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTG
ATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCA
AAGGTCGCCCACGCCCAGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCG
CAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTAT
TTCACACCGCATAACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAG
CGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAG
CGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTCCGCCGGCTTTCCCCGT
CAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTC
GACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAG
ACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCC

AAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATT
TGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTC
TGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCT
GACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGA
GCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGC
CTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAATAAACTGTCTGCTTAC
ATAAACAGTAATAACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCC
GCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAA
TGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAG
AGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATG
GTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATC
CGTACTCCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATT
CAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTG
TTCCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCG
TATTTGCTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTG
ATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCAT
AACTTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACCTCATGGTGATTTCTCACTTGATA
ACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAA
TCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTC
CTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATA
AATTGCAGTTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAATCTCATGACCAAAAATCCCT
AACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTT
CTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGC
TACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAA
CTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAG
GCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGT
TACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGAC
GATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAG
CCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATG
AGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGC
AGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATC
TTTATAGTCCTGTTCGGGTTTTGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTC

GTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTCC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 9. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 100)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	121-147
ВАСЕ2 промотор	148-1551
hGJB2 минимальный промотор	1552-1679
Сайт клонирования	1680-1688
Синтетический баркод	1689-1696
5'UTR	1697-2058
GJB2 (экзон2)	2070-2747
3xFLAG	2760-2825
3'UTR (экзон2)	2829-4235
bGHPA	4255-4481
Сайт клонирования	4482-4515
3'ITR	4516-4645

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 101)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
CGACSTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
AACTCCATCACTAGGGGTTCTTGC GGCCGCACGCGTGGTGAAGAAACCTGCATTTCT
TACACTTCAGTGTACTTTCCCCATATTTAACTCCAAGATTTTTGTTAATTTGTTTGGTT
TTCSTTTCTCAAACAAAATTATGCTCAGACTGAAAACCCTAGATTTGTTCCCTATTGC
ATCTTCATTTCTTCCCAAACATTCATAAAACGTGACCTACATTAAGTTAGCAAGTT
AAGTCTGAAAGCGTCTACCTTCCCTGGGGAGGGGGAAGGTGTAGGCAGGGCAGAGA
TTTGTAGTCCAGCCSTCTTGCCACAAATTATGAATTAGAGAGGAATGACTTTGCTTTT
TTAATGATCTCCAGAGAATTTCCATCATTTCCCTCTCTTCACCCAGCTCSTTTGCAA
CCTGCCAGAGAAGTCTTCTTTAGCTTCTTAAACATCGATCCTAAAACACTTCCA
GACACCTGTGCTGCTCSTTTTCAGTTCCCATGGAGATTAGGCTGTGTAACAATCTCGC
AAAGACGTTCCCTCCGTCTCCTCATCCTCTTTTCAAACCSTTTTACGATTTCCCATC

TCACTCAGCATGACAGTCAAAGTCCCTGTGATGGCCAACTTCTGCATCACCTAGCCA
GTCTGCCACCGCCAAAACCTCTCCAGCCTCATCTTACACTTGTTCTCTGCTTGGAATCT
TCCCTCCCCTCCTTGAGGAACTTTCTCAAATGTCACCTTCCCTCAATACTCCCCCTCC
TCCATTTAAAACATAAACTTCCAACCTCTCTAAGCCCCTAAAGTACTCTATATTTAAC
TTATTGTATAAACTACTGTCCCTACTTGTAAGTTCCAAGATTGCAGGGATTACCCCG
CTTTGTTCACTGCTGTCTGCCAAGGTCTAGAACAGTGCAAGTTACCCAACAGGAGTT
CAATAAACAGCCATTCATTTAACAAATATTTGCTGAGCACTTCGTCCCGTCCAAGTT
TGTTAAATCAAGACAAATAAGACACCGTCCCTGCCTTTAACGCACCAGATGGAGAA
ATGCACCACAGACATAAAATGTGCAATACAGGCCTGACACTACGGCCACAAGCAAGT
CAAAGAACGTGCCAAAAGTTCAGAGGAAGAAGCCTCGGCTTCGCCTTTCGGGAGAC
CAGTCCAGCTTTCACCATCACGCTGCTCATCAGGGACCATCTCCGGGGGTCTCCTC
TAGACCCCAAGGGAGGAGCGGGTCCCGCCCGCCATTCCCAGGTCTCAGAGTTTACTT
GTCCAGAGATGCAACTTCCGGCCTCTTCAGGCCGGGCAAGATTTAAGGAAAGAAAA
GAAACATAAGGACCTCCGTTCTTCGGTCTCCGTCCCCTCCCCTTCCCCCGCGTGCCCC
ACCTGTTCCCGGCGTCCCCTTCGGCTACTCCCGGCGTTTGCGCAAGCGGTCCCACGT
GGGCTCGGGCGGGGCTAGCGCCGCGGGCGGGGCTGGGCACGCCCTAGCGCATAGC
TGGCTTCTGATTGGCTTTCOAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCC
GCGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGGCGGGGTGTGG
GGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCACCGGTGCCAAAGCGTTG
CGGCCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGGCGCCC
GGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGA
GACCCCGCCCCGCCCCGCCGCGCTTCTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTCCG
CGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCT
CGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACA
GCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGA
GCAAACCGCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACG
ATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGT
CCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGA
TGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCT
ACGATCACTACTTCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGT
GTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGA
AGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGAT
CAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCA

TCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGA
CGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGT
GGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTACAGTGTTTCATGATTGC
AGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGA
TATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCA
TGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAG
AAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTC
GCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTG
TAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCA
AAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACT
GAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTCATATTTTAAACAGAG
GATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGA
GGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTCCCCACG
TTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTAAATCTCTAACAGTGGA
CAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGT
ATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTTCCCCCTGTTT
CAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTT
GAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTG
TATTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGAC
TAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGAT
GTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGAC
AGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAA
CGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGA
GGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTTCGTTAAAAACAGATTTGGAAA
GACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGT
TTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGA
AAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAA
CCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTT
AGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAT
AATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTATCAA
ATACATTTAAAACATTTAAAATATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCG
ACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGA
CCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGC

ATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAG
GGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGA
AGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGG
CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCC
GACGCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTG
CAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGC
ATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGT
GTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCT
TTCGCTTTCTTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAA
TCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAA
ACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCG
CCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAAC
AACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCG
GCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAA
ATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCAT
AGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGT
CTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGT
CAGAGGTTTTACCCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACG
CCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAATAAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTA
ATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAAT
TCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAA
TCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTG
AAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAA
CTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTACTCCTGAT
GATGCATGGTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGA
AGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCG
GTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTC
GCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGAC
GAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCC
ATTCTCACCGGATTCAGTCGTCCTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTT
GACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCG
ATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAACCTCGCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAG
AAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTT

CATTTGATGCTCGATGAGTTTTTTCTAATCTCATGACCAAATCCCTTAACGTGAGTTT
TCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCT
TTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTG
GTTTGTGGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTC
AAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCT
GCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCG
GATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGA
GCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCA
CGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTTCGGAAC
AGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCTGT
TCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGC
GGAGCCTATGGAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCT
GGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 10. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 101)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
DBI2 промотор	148-1614
hGJB2 минимальный промотор	1615-1742
Сайт клонирования	1743-1751
Синтетический баркод	1752-1759
5'UTR	1760-2121
GJB2 (экзон2)	2133-2810
3xFLAG	2823-2888
3'UTR (экзон2)	2892-4298
bGHpA	4320-4544
Сайт клонирования	4545-4578
3'ITR	4579-4708

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 102)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
CGACSTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTTACCATTCTGCSTTTAC
CTGATGTTGCTATCCTCCTCCCTCTTGTTTCCTTCCACCCATCSTTTCCCTCCCACATT
ACTCTCTTATCCCACCCTATTTTACAACCAGTAGCCTAGGGAAAAGAGCATAGCTCA
AATGAGGAAGAAGGCAGGACAGGCAGTCATGGCTTAGCTGGACTGAGCTGCAGTGC
TTCTCSTTCTGGGGAAGGGGGTGCCTGTCTGCTACTGACACATCCCTCCAAGG
CACTCAGCCCTGCAGGGAGCAACCTGATTCTATGACTGACATCTAATCTTCACATTC
ACCTTGCAGGAAGGCAAGAAGTGATCCCAGCCTCCAGATGGAAAGATCAAGGCCCA
GAGAAGGTCAGTGGTGGTTGGAGGCCTGAGGTCACACAGCAGCCAAGTCTGGAGTC
ACTAGTCAAGGTGACCTTACTAGCCACCCACCTCCCTTCCCTGCCCCACCATGG
CCCTGGGAGATCTGTTGTCCTGTGAGGGAAAGGGGCTCCAGGCTGGGCTGCATCTG
AAGCCCCTAGATCCAGAGACTTCATTTCTTAGGCTATCTATAAAATCCACCTTCSTTT
CTTTTCCCAGGACCCCCATAACCCTGCTCCCAGCATCGTCTGCCTCAGCTAAGCCATG
GGGATTGAGAGACCAGGCCTGGTGCCAGATAAACTGACCCTGGGTGAGGGGACAG
GGGCCCAGAATGGGCAGGTAGAGACTGAATACTGAAGAAGAATCCTCTGGAGTCTG
TTAGCAGAAGCAGATGGGCCTTGCTGACTATTGGCAGGCGGACCTGGTGGTCAGA
CCTCAGTGATCCTCAGGGACCAGTGAATATTTAGGCTGGGGCTGAGCATCACCTGC
TCCCTTGGCCCCACTTATAGGGCAAAGGGGAGTCTACCAGCCTACTCACTGATGACA
AACTGGAAAAGTTTGTCTCTGCTCTGGCCCCACCTCGCCCTCTCCCCTACTTG
GAAGTTCSTTTCTGAACCACTGACTGCCAAAGCTTGAGGGATTAAATAAATCATCT
GGCCCAACCTCCTACCATAGAGTTGGGAACACTGAAGAAAAGAGACTGGCCCAAGG
TCACAGAGAAGGCAGGGTGAACACTGTCACAGGGAGAGCCAGTGTAGAATAATGGT
TAAGCCACGCAAGCTCTAGAACCACTCTATCTGAGTGCAAATCCTGGCTGTCATCTG
GTACTTGCTTCTGGAACACATCTGGCCTCAGACTCCTGAGGCCAAGACACACTCCC
TGCCCTAAGACTTGCTGGTTCTATGGCAGGCAGAGGCAGAAAAGAGCCCCACCATCA
TTCCCAGCAAATGGGAAAAGTTCCCAGTTGCAGATATTAGGGGTGGGATGGGGCGG
GGGTAGTCAGCAACCATAGACTTAGACCCTGAAGAGGCCAAAAAGGAGGGCCATGT
TCTTGGGTCAGCAGAGCTTCTACTCAGCTTCTTCAGCCTCTAGCTCTTTCTGGTGCT
AGTAGCACATTCTCTAGTGGAGGCATCCAGATGGCAGGGAGGGTCCAGGAAACAGC
TGAACATGCTGAGCAGGCCTCCCTTGTCCCCGCTCCCCATGGCCCCATGGATCATCC
GGTGCTGCAGCTCATCTCATTGGCTGGCTTCTGGTTACTCATCTCTCTCTTCTCCAT

CTTCCCAGCCTGTGGTTGCCGTGGAAACATAGAACAGTGACCTCACCATAGGATGA
GGGCTGGGGAGATGCTGTTCTTGGCAGGCGCTAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGG
GCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGA
GGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCACCGGT
CCATCCACGTTGCGGGCCCCGCAGCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCC
TCGGCGGCGCCCCGGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGAC
CCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCCTCCCGACGCAGTTTAGG
ACCCTTGTTGCGGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCTCAGGACGGTTCC
ATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCAC
CTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGA
GAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCAGC
CTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTG
GCTCACCGTCCTCTTCATTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTG
TGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAA
CGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCT
GATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACA
TGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATC
GAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACAC
AAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTC
ATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCC
AACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTT
ATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGC
TAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACA
AAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGAC
AAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAG
GCTCAGTCGCTAGCATTTCCTCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGTA
AACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTA
AAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTA
GTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTT
AAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGG
TTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACT
TTCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCT
AACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTTGGGAAGTGAAAA

CTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTATGTAAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTTC
CCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATG
ATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGC
TGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGT
GAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAA
ATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTAC
CTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCA
TCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCAT
TTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTTCGTTAAAAACA
GATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTC
AAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAAT
AACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGG
AAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTC
CACATATTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGC
ATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGT
AATGTATCAAATACATTTAAAACATTTAAAATATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTG
ATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTG
CCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCTAATAAAAATGAGGAA
ATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAG
GACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGG
GCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTG
ATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCA
AAGGTCGCCCACGCCCAGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCG
CAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTAT
TTCACACCGCATAACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAG
CGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAG
CGCCCCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGT
CAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTC
GACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAG
ACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCC
AAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTATTATAAGGGATTT
TGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTC

TGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCT
GACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGA
GCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGC
CTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAATAAAACTGTCTGCTTAC
ATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCC
GCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAA
TGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAG
AGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATG
GTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATC
CGTACTCCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCC
CAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTG
TTCCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCG
TATTTGCTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTG
ATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCAT
AAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTCATGGTGATTTCTCACTTGATA
ACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAA
TCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTC
CTTCATTACAGAAACGGCTTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATA
AATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAATCTCATGACCAAATCCCTT
AACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTT
CTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGC
TACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAA
CTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATAACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAG
GCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGT
TACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGAC
GATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAG
CCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATG
AGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGC
AGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATC
TTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTC
GTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 11. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 102)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
FABP3 промотор	148-1899
hGJB2 минимальный промотор	1900-2027
Сайт клонирования	2028-2036
Синтетический баркод	2037-2044
5'UTR	2045-2406
GJB2 (экзон2)	2418-3095
3xFLAG	3108-3173
3'UTR (экзон2)	3177-4583
bGHpA	4605-4829
Сайт клонирования	4830-4863
3'ITR	4864-4993

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 103)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACSTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTGAAACAGCAGCCATTGA
 TG TAGCTCAGGGTTCTGTGGATCTGTCAATTTGGAGCATGTTGGTTCTCCTGTCTCAGC
 TGGGCTCATTCATGCATCTGAGTTCAGCTATTGGGCAATCTGGGGAATGTTTTGTCC
 ATGTGATGTGTCATCTTCTACCAGGCTAGCCTGGGCTTCATCACATGGTATCTGGCA
 GGGCTCTAAGAGGGAGAGTTGAAACACACAAGGCCTCTTGAAGCTTAGACTCAGAA
 TTGGCACAAGGTCGCTTCTGGCACATTCCATTGGTCAAAGCAAGTTACAAGGCCAGC
 TCACATTC AAGGATTAGGTAAGTCGATTCCACTCTTGATGAGAAGTCTGAAGGATTT
 GGAACAGTGTCCACCATG CAGTAATAAACTCAATAAGTAGTAGCCATTATTATTCTG
 TTAGAGGTTGCCAGGAAAAGTTTTATAGTGGAAAGAAATCTGAGTTTACTCTTGAGA
 GGTAAGTGG AATTTCTATTTGTAGAGAATGAAGGCCTCTCAAAAAGACACAGCCTA
 ACAATAGGTGCTGCAGTTTAACAGTGGAGCGTGTCCAGAACAGGCTGCCCTTTTAGG
 CAAGGGCTAGTGTCTTTCAGGACAGACCCAAACCCCAATACCAAAAACAGAATAAA
 GTAGTGTCTTAGCATACTTTGAGATCAGACTGTTTCTGCATTTACAGTGCTGGGGG

TGGGGGGGAGGTGTGGGGGGAAGGGAAAAGCAGCATACCAATGTAGTGAAATCTG
GAAACAACAGCCAAAAAAGTTTGCATATTGCACAGAGCACTTGAAGATCATAAAT
CTATGCATGAGAAAGATGTAGTGGAATTTTGGGGGGGATTAGAGTTTATTTTGTG
ATCTCTGTGAGACAGCTACTCATTTCATCCAGATCACAGCTAAGAAAAAAGCTGGTCA
CAGAAATTAGCAGTTTCAGCTCAGCAGCGAAGTCGCCAGCCTGTGAAGGCAGAGAG
AAATTGACTAATTAGCAATGCGCACTAAACTTGACGGTTCTTTATAGAGAGAGAG
AAGAGAGAGGGAGAGAGAGGGAGAGGGAGGGAGGGGGGGCTCGCTTTTTCCCTT
CTTTCTTCCAAGATGTTTGAATCGCAGTCATTTACGCTCGACAATTTTACAATAG
CCTTGAGCCATAATTTTGCAGTCTCTCCAGCATCCATCCCCCTGTATGGTCTCTCTC
TACTGGCCAAGCACGACCGTTTCTCTCCCAACCGTGGATTTCTATTAAGCTCTGA
GGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCA
GTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGA
GACAGGTCTCACCGTCCCGTTCTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTC
CCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGA
GCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGCCCCGCGCGCTTCC
TCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGC
GTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCACTGGAGGAGGAAGGCA
GCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCGTGGCCATG
CACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCC
ACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCAC
CAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTCGCATTATGATCCTCGTT
GTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCT
GCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCACATCCG
GCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCA
CGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAG
AGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTC
CCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTT
CATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTG
CAACGCCTGGCCTTGTCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAA
GACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGC
ACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTT
GGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGA
CTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAA

CCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGAC
CTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACA
ATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTA
ATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTG
TAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGAC
AAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTG
GGGTCTTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCT
TTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTAC
ACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCT
GGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGT
ATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTG
CAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAACAT
TGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCA
AATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATG
TACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATG
ACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTT
TATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAG
TTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAG
ATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTA
AGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAAT
ATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGT
TTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCAAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGTTGTCAA
GAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTG
TAACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTTAAAATATAATCTC
TATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT
TGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTT
TCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTG
GGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGAC
CGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTC
ACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTC
AGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCT
TACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCC

TGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTAC
ACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACG
TTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTA
GTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTG
GGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAA
TAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTT
GATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAA
CAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGC ACT
CTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACA
CCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCT
GTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGC
GCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAAT
AAA ACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACG
GGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATA
AATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGG
AAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGA
TGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGAC
CATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGTTACTCACC ACTGCGATCCCC
GGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGT
TGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAATTGTCCT
TTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGT
TTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTC
TGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTC ACTCATGGT
GATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGAT
GTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGA ACTG
CCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTTCAAAAATATGGTATTGAT
AATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAATCTC
ATGACCAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAA
AAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAA
CAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACT
CTTTTTCCGAAGGTA ACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTA
GTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTC
GCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC

GGGTTGGA CTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGG
GGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATAACC
TACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAG
GTATCCGGTAAGCGGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGG
GGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGT
CGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC
GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 12. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 103)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
KLHL14 промотор	148-1402
hGJB2 минимальный промотор	1403-1530
Сайт клонирования	1531-1539
Синтетический баркод	1540-1547
5'UTR	1548-1909
GJB2 (экзон2)	1921-2598
3xFLAG	2611-2676
3'UTR (экзон2)	2680-4086
bGHpA	4108-4332
Сайт клонирования	4333-4366
3'ITR	4367-4496

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 104)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCTGGG
CGACSTTTGGTTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGCC
AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTCTTCTCCTCCAGGGCC
CTCTGCAGACCAGGCTGAGATGGAGGAACCTGCTAAAATCGATGGAGATGCTTCTA
GCCTCCAGTAGGAGGCCCCAGCCATGCCTTCAACCTGGCAGGAGGTGTAGCCACT
CCTCATCCTTGGGTTCAGGTTGGGTGCTGCTGTTGTGGTCTTCCCAGAACTGCC
AGTAGAGGGCAGCCTGGGCATCCTAATGCTTACTCTGGTTGTTACACAAAGAAAAT

ATTGGGGTCACTGGCGAGCCCACCCACACTCACCAGAATCTCCACTGTAGTCCCCCT
AACAAACAGCCCTTCACTTCTCTCCCACTTCAGCAATTTGTATTTTGATGCCATTGG
CCTCAGATCAGAGTGTTTTAAATCATCACGCCCTGGCTTATCCCTGGTCGAGCCAGG
ACACGGGGTGCTTCAGTGGGTCTGTCACCCTCTCTCCTTGAAGCATGTTGCTTTTATT
TATTTACTTTTACTCTCACCTGCTCCTGTACCAGCAGGGGCCACTTCAAAGCCAAG
GTACAGGGTGATAACTTGTGGTCCAGCATCAGTTTTCTCCACTTCTTTCTCCCACTCA
CCCCAGCAAGGTGCCTGGGGAGACTTGAGCAGATGTTTCATTTTGGCCTGGCCAGT
GGCTGAAAGCCAGGCCTCCAATGCACTGTGACCTCTGGCTTCCCCAGCAGCTTCCC
AGAGAGGCAGAGGGAGTCTTCATTCTTCCCAGGCGGGGAGACCACGCCTTCCCTGC
CTCCTCCCTCCGCGGGGGGTGCGGTTGGAGGTCACCCCCGCCCCCTAGGCGCTGGGT
TGGGAGTGACGCGGGGTGGGCTGGAGAGGTTTCCTGCCGTCTGGGAAGCGTAAACG
GACCGCCCACCTGTCGGGCCTCGGCCGCCCGCACCTGCTTGTGAGAAGCCTGCGGCT
GGGGCACCGCCCCCGTCCCCGCCCGGGTCCGCGCATTGGGAGCACACTGGCCCTTT
AAGAGCGCGGGCGGCCGCGGGCGCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGGCGC
GCTCCGCCCGCGGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGGCG
GGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCACCGGTTTCA
CTGGGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGG
CGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCA
ACGCCGAGACCCCCGCCCGGCCCGCCGCGCTTCCCTCCCGACGCAGTTTAGGACCC
TTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCCTCAGGACGGTTCCATCA
GTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAA
CTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAA
GCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTG
CAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCT
CACCGTCTCTTCATTTTTTCGATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGG
GGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGT
GTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGAT
CTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGA
GAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAG
GAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAG
CAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATG
TACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAAC
ACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATG

ATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAA
TTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAA
GACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGACAA
GTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCT
CAGTCGCTAGCATTTCCTCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAAC
CCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAG
CCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTT
CCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGGTACTTTCATATTTTAAA
CAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCC
ACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCC
CCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACA
GTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAATTT
GTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCC
TGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTA
ATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCT
GTTGTATTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGAC
AGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTT
AGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAA
TGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAA
AGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATG
GGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTTCGTTAAAAACAGATTTG
GAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGT
TTGTTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAAGTGAAAATATAGCTAATAACATG
TGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATT
GAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATA
TTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTG
TAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGTAATGTA
TCAAATACATTTAAAACATTAATAATATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGC
CTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCC
TTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCA
TCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGC
AAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTAT
GGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAG

TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTC
GCCCCGACCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTG
CCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACAC
CGCATAAGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCG
GGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCT
CCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCT
AAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAA
AAAACCTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTT
TCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGA
ACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTT
CGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAACA
AAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGC
ATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTT
GTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGT
GTCAGAGGTTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATA
CGCCTATTTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAATAAAACTGTCTGCTTACATAAACAG
TAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTGAGGCCGCGATTAA
ATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGC
AATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTC
TGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTA
AACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTG
ATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAG
AAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCC
GGTTGCATTCGATTCTGTTTGTAAATTGTCCTTTTAAACAGCGATCGCGTATTTCTGCT
CGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGA
CGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGC
CATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTT
TGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACC
GATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAACCTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACA
GAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTT
TCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAATCTCATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTT
TTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
TTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGT

GGTTTGTGGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAG
 CAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTT
 CAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC
 TGCTGCCAGTGGCGATAAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACC
 GGATAAGGCGCAGCGGTTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGG
 AGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCC
 ACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTTCGGAA
 CAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCT
 GTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGG
 CGGAGCCTATGGAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGC
 TGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 13. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 104)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
MMP15 промотор	148-1159
hGJB2 минимальный промотор	1160-1287
Сайт клонирования	1288-1296
Синтетический баркод	1297-1304
5'UTR	1305-1666
GJB2 (экзон2)	1678-2355
3xFLAG	2368-2433
3'UTR (экзон2)	2437-3843
bGHpA	3865-4089
Сайт клонирования	4090-4123
3'ITR	4124-4253

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 105)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACSTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTCAGGCTACCTCTCAGGCT

GACTGAGTCATGCAGCATAGGCTGCCACGTCTCTGGGCTGGCGGGGCCGTCATTATT
CCTGGCCTCACTGCAGCTAAATTGAAGAAACGTTTGGTTTGTGGGCCACGTCAAGGA
ATGTGTAAGAGCTGCCACGTTGTCGGGTCTGGGTTATTGGGCTTTTCCCCTCCTTCAG
AGAAGATTTCCAGGCGTGTGGGTGGGGTTTCAGAAGAAAATTGATGCCTGCGTGTG
AGTGTTCCTGGACCTGGACCAGCAGCGGCAATATTACAGACCCGGGGGTTGGGGC
AGACTGAGCCAATCTCTGCACCGTCAAAGTTATGGATACAGAGCCCTGGAAAAAGG
CTGAAGGATAAGATAGCTGACATTTATGAAGTGCTTCATTCATGTAGCAGTGGGCCA
AATGCGTACTTTACACTTGAGGAAGCTGAGGCTGGAGGTTGATAACATGCCTCAAGT
CTTCTAGAGTTAAATAACTTTGACCCAGGACCCAAGCCCAGAGTTCTGACTCAAAAA
CTAGGCCTCCTAAACATCCTCTTATATGAGGTTAAATTTTCATCTTCCTCTGTTTGGCC
TTGGCCTGGTTGGTGGATGCTCTGCTTCGGGGACCCAGGGCCAGATGACAATGGGTT
CTTTGTGCCCTTCAGACAATGGGAAGGGCTGCCTGGGGAAAGATACAGTAACAAGG
CAACAGGCTGAGTCAGCCTCCAATGTGCTTGAACCTTCTTAGCTTGGCAGCCTTGAC
ATTCAGCCAGCCACACAAAGGGTATATCAAGGATGATACCACTAGTAGCAGCTTGT
CTTGTCTGTACCTCTGAACAAGAAAGAGGCTGTTCTGGGTCATCCCTCCAGGCCTGT
CCAGCCCTGGCACTCTGTGAGTCGGTTTAGGCAGCAGCCCCGGAACAGATGAGGCA
GGCAGGGTTGGGACGTTTGGTCAGGACAGCCCACCAGGAGGAAAGAAATGAAAGA
CAGAGACAGCTTTGGCTATGGGAGAAGGAGGAGGCCGGGGGAAGGAGGAGACAGG
AGGAGGAGGGACCACGGGGTGGAGGGGAGATAGACCCAGCCAAAGCTCTGAGGA
CCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCC GCGGCGCCGCCCCCTCCGTAAC TTTCCCAGTC
TCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGAC
AGGTCTCACCGGTATACTCTCGTTGCGGCCCCG CAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCC
GACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCC
CCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCCTCC
CGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTTCGCGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGT
CCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGCAGC
CCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGGCCATGCA
CCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGCCAC
CATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCACCA
GCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGC
AGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGC
TATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACG

TGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAG
TGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCC
TGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCA
TGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCA
ACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGA
CTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCAC
TGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTTGG
ATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACT
ACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACC
CGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTCAACACAAAGATTCTGACCT
TAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAAT
GGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAAT
TTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTA
AGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAA
GAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTGGG
GTTCTTTTTGCCAACCTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTTGCTTT
GGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACAC
TTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTG
GATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTA
TGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGC
AGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACACATT
GTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCA
AATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATG
TACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATG
ACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTT
TATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAG
TTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAG
ATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTA
AGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTLAGATAAAT
ATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGT
TTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAA
GAATAGCATTGTAAAAGCATTGTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTG
TAACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAATAATAATCTC

TATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT
TGTTTGCCCCTCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTT
TCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTG
GGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGAC
CGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTC
ACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCAGCGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTC
AGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCT
TACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCC
TGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTAC
ACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTTCTCGCCACG
TTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTA
GTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTG
GGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAA
TAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTT
GATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAA
CAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCCT
CTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACA
CCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCT
GTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGC
GCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAACAAT
AAAACGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACG
GGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATA
AATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGG
AAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGA
TGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGAC
CATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGT TACTCACCCTGCGATCCCC
GGAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGT
TGATGCGCTGGCAGTGTTCCCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAATTGTCCT
TTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGT
TTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTC
TGGAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCCTCATGGT
GATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGAT

GTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAC TG
 CCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGAT
 AATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTTCTAATCTC
 ATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAA
 AAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
 CAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGGATCAAGAGCTACCAACT
 CTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTA
 GTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTC
 GCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC
 GGGTTGGA CTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGG
 GGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATAACC
 TACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAG
 GTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGG
 GGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGT
 CGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC
 GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 14. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 105)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
SPARC промотор	148-1226
hGJB2 минимальный промотор	1227-1354
Сайт клонирования	1355-1363
Синтетический баркод	1364-1371
5'UTR	1372-1733
GJB2 (экзон2)	1745-2422
3xFLAG	2435-2500
3'UTR (экзон2)	2504-3910
bGHPA	3932-4156
Сайт клонирования	4157-4190
3'ITR	4191-4320

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 106)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
CGACSTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTCCAAGGACTCTTTTTTCT
AACTTCCCTTCATCTTCTAGTTTGACGCCCTTGGTGGGAAAAGTGTCTGAGATAAG
GAAAAGGCATCCTTTCAGTTCTCTGATACTATCTTGAAGCGAGGGATGGAGAAAGG
CAAAGAGAGACACAGGAGAAGCGTATCCCCTGGGAACAGGTGTCTAGTGGAGTCCA
GTAACCTCACAGTCTCTCAGTTCCGTCAGCACTGTCCCTTGGGTGCGCAAATTTCTTCCA
TTAGCCCTTCCACCAGCTGTATTTCAAATGGGGCTGGACAATAATTGTGGCCAGTGG
CCTTGTGTTGTTTGTACTTGCGGACTAGTAGTTCTCACCTGTCTTTCTCTGACTCCTAT
TAGCCACTGGGATTTACGACAGCTGGTTCAGCCAATTCTACTCAATTCAACATTAAGT
TGCAGTGGGCTAGAACTCATGGGCCGATTTAACAAGTGAATTCTACCAAGATACA
TCAAAAATAGCAACAGGACTAGATACTCAGCTCATTTTGTTTTATTTGTAATATAACC
AGTTGTGGCTTTAGTGCCAGTCTGATTCATCTCTCTACTACAAAATGAGGCTCTATA
AAGGAAAATATTGCAACTGGAGTGAGGAATTTGAATCTTATAGGAAGGAATTTGTC
TTCTCATGAAGACTTCAGTTTACCAGAAGTATCTATTGAGGAAGTGTTTACAAGAAA
ATGTGCCATTTAGCTTTATTCTAAATTTGCATAATAACTGAACCAAACAAAAAATA
TAGATAGATAGATTGTTCTATCTATAGATAGATAGGGAACATTGGCAGTAGGTGGC
AGTAAGTTCCTGAGCACATGGAGGACACAGTTAAATGCATTTGAGGTATGTGGG
AAATGGTTTAAAGCAGAATTTTATGCCAACTTTTAGTAACGGAAGCCTAACAAATGT
TTGTTCTTTCAAGTGAGAGAAGCAAGCAATCTGGAACCTATTCATAAGCTTATTTTCT
GTATCCTTAAACATATTTTATAATGAATGTATGATTTAAATAGTAAGTTAAGTGTCT
GGGGTACTGCACACCTCCCTTGCATACAGTCAAACCTTCTTCAGGGTGATGGGGAAG
AGGAGTTATAGGCTGCCAAGCAAATTTGCCAACTGGTCTCAGAAATTCAGTGCATT
GGAGAGCGCGGGATCCTTGCAACACTGACTTTAGCAGTTAAACTAGAGTGGTTGGG
GATGAGTATTCTAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGC
CGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGG
TTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTCTCACCGGTGGCACTTCGTTGCGGCCCC
GCAGCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCAG
GACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCG
CCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTGCGGAAGAGG
TGGTGTGCGGCTGAGACCCGCGTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCCTCGATCCTGC
CCCACTGGAGGAGGAAGGCAGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAG

AGCTGGGTTCCGTGGCCATGCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGC
CCAGAGTAGAAGCGCTAGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGG
GGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATT
TTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCC
GACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTAC
TTCCCCATCTCCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCA
GCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTT
CATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAG
AAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGG
GTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCA
TGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGCCCAACACTGTGGACTGCTTTG
TGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAA
TTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGG
GAAGTCAAAAAGCCAGTTGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATT
ATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGC
ATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTC
CCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGG
TGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGC
CTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAG
GCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCA
TTTGTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGA
GAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGA
ACATTGGTTCTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACC
AGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTT
ATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCA
GATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTC
TTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGG
TCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTA
GTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGT
AAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCA
ACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAA
AGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATG
GGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTC

TAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGGCTTACCCC
TTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAA
GCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGC
CATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAA
GTATTTTCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATA
GCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAA
ACATTAATAATAATCTCTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTC
TAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGT
GCCACTCCCCTGTCTTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGT
AGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTG
GGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTC
AGCTGACGTGCCTCGGACCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCT
CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCAGCCCCGGG
CTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCC
TGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAG
CAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGCGGGTGTGGTGGTTAC
GCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCCTCCTTTTCGCTTTCTTC
CCTTCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCC
CTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGG
GTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACC
CTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTT
AAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTT
TACAATTTTATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCA
GCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCAGC
ATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGTCAGAGGTTTTTC
ACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATA
GGTTAATGTCATGAACAATAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGT
GTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAATTTCCAACATGGA
TGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTGCGGGCAATCAGGTGCGAC
AATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAA
AGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGG
AATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTAATCCTGATGATGCATGGTT

ACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTG
 ATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTCGA
 TTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGCGCA
 ATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGG
 CTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGA
 TTCAGTCGTCACTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAA
 TTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGGATACCAGGATCTT
 GCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTTC
 AAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCG
 ATGAGTTTTTTCTAATCTCATGACCAAATCCCTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAG
 CGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCG
 TAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGG
 ATCAAGAGCTACCAACTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATAC
 CAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAG
 CACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCG
 ATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAG
 CGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTA
 CACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAG
 GGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCAC
 GAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCA
 CCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAA
 AACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCAC
 ATGT

Таблица 15. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 106)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147
TSPAN8 промотор	148-1370
hGJB2 минимальный промотор	1371-1498
Сайт клонирования	1499-1507
Синтетический баркод	1508-1515

5'UTR	1516-1877
GJB2 (экзон2)	1889-2566
3xFLAG	2579-2644
3'UTR (экзон2)	2648-4054
bGHPA	4076-4300
Сайт клонирования	4301-4334
3'ITR	4335-4464

Иллюстративная последовательность конструкции (SEQ ID NO: 107)

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGGG
 CGACSTTTGGTCGCCCAGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC
 AACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTGGTATTCACAATGCATTCCT
 CTGCCACCCACATTAATTATCAACTCCTTTTCTGGCATTACTCATCCAACGCATGG
 CCCACGTAACTTTCAGTTCCTTTCTCCCCTACAAATACTCCATAATCCAGCAACC
 CTGGGATCCCTGAGATGATGAAGAGGACCAGTGCCCATTCAGGAGACATCACCGC
 AGCCCTGAGGAATCGGCTATGGGCACCAGCAGGGCACAGTGCCACACCTCGCCAAT
 GCCTTGTCCTCCTTTTCCATAGTGAGTCAGTCAGCAAGCGTGTAGAAGTGAGTTCCA
 CACTCTCTCCTCCCATAGGGAGATCACTTTTCTCATTCTAAGGGTTCAGGCACACT
 CACAATGGTGGCATTGCTGAGCAGTGGCTTGAATAAAGGGCTCTCAGAAAGCAAG
 ATGTAACTCAGAGCATAGGCTAGCCCCAGGAATGCTCTTGGGGAATGACCTGCAGC
 CTCCCAGTGAAAGAGAGAATAAAAGAAAGCCCCAGCAGGCGAGCTGGGCAGTAGA
 GAGTCCTGTAATTCACCTTGGCAAGCACCATTTGCAAGAACGAACTGGGATAAGG
 TAAACAAAATATTGCCTAAAAGAGGGCTTGTCCAAAGAAGTCAGAATACGCTCTTCA
 TTTACCTCTAAATTTTCAGTACACCATAAATCTAAATACTCAAAAAACCTGTGCCTT
 TTCAATCAAGGTCAATTGCACGAATCTTTTGGAAAACAGGACCTATGGCATTTC
 AGACAAATCACCGTGAACCCTGTACTGTGCATTGCTGTCCATAAATCCAAAGATTCT
 GTCATTTGTGTTACATAATTGCCTTTTCATTTGAACTCATTAATCAAATTGGGGTTTTT
 AAGCAACACСТААТТААТТСТТТААСТGGCTCATCCACTGATCACTGAGTTCTATTTT
 GAAACTACGGACGTCGAGTTTCTCTTTCACCCAGAATTTTCAGATCTTGTTTAAA
 AGTTGGGTGTGGTTTCATGGGGGGAGGGGGAAGAGCGAGAGGAGACCAGAGGGAC
 GGGGGCGGGGACTCTGCAAGAAAAACCTTCCCGGTGCAATCGTGATCTAAGCTCTG
 AGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCAGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTCCC
 AGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGG

AGACAGGTCTCACCGGTTTTTCAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCT
CCCCGACTCGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGG
AGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCGGCCCGCCGCGCTTC
CTCCCGACGCAGTTTAGGACCCTTGTTGCGGAAGAGGTGGTGTGCGGCTGAGACCCG
CGTCCTCAGGACGGTTCATCAGTGCCTCGATCCTGCCCCACTGGAGGAGGAAGGC
AGCCCGAACAGCGCTCACCTAACTAACAGCTGCTGAGAGCTGGGTTCCGTGGCCAT
GCACCTGGGACTGCCTTGAGAAGCGTGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGCTAGC
CACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACTCCA
CCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGT
TGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCC
TGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCC
GGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGC
ACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAA
GAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCT
CCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCT
TCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGT
GCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGA
AGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGT
CACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGT
TGGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCG
ACTACAAGGATGACGATGACAAGTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGGATGAGGCA
ACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGA
CCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCAC
AATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTT
AATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGT
GTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGA
CAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCT
GGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCAATTGC
TTTGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTA
CACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTT
CTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATG
GTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTT
TGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACAAC

ATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAG
CAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGA
TGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCAT
GACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATT
TTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAA
GTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTA
GATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTT
AAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAA
TATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGG
TTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCAAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGTTGTCA
AGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTT
GTAATAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAAAATATAATCT
CTATAATAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTG
TTGTTTGCCCCCTCCCCGTGCCTTCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCCT
TTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCT
GGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGG
CATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGA
CCGCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCT
CACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCT
CAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTC
CTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGC
CCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCT
AACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCA
CGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATT
TAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACCTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAG
TGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTT
AATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCT
TTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTT
AACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCA
CTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAA
CACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAG
CTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAAC
GCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAACA

ATAAAACGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAA
 CGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTAT
 AAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGG
 GAAGCCCATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATG
 ATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGA
 CCATCAAGCATTTTATCCGTA CTCTGATGATGCATGGT TACTCACC ACTGCGATCCC
 CGGAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTG
 TTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTTCGATTCCTGTTTGTAATTGTCC
 TTTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGG
 TTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGT
 CTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACC GGATTCAGTCGTC ACTCATGG
 TGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGAT
 GTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGA ACTG
 CCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGAT
 AATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTTCTAATCTC
 ATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAA
 AAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
 CAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACT
 CTTTTTCCGAAGGTA ACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTA
 GTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTC
 GCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC
 GGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGG
 GGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATAACC
 TACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAG
 GTATCCGGTAAGCGGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGG
 GGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGT
 CGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAACGCCAGCAACGC
 GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT

Таблица 16. Компоненты конструкции Sequence (SEQ ID NO: 107)

Компоненты	Положение в конструкции
5'ITR	12-130
Сайт клонирования	131-147

VIM промотор	148-1234
hGJB2 минимальный промотор	1235-1362
Сайт клонирования	1363-1371
Синтетический баркод	1372-1379
5'UTR	1380-1741
GJB2 (экзон2)	1753-2430
3xFLAG	2443-2508
3'UTR (экзон2)	2512-3918
bGHpA	3940-4164
Сайт клонирования	4165-4198
3'ITR	4199-4328

Фармацевтические композиции

[0342] Помимо прочего, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям. Согласно некоторым аспектам композиции, представленные в настоящем документе, подходят для введения животным для облегчения симптомов, связанных с синдромальной и/или внесиндромной потерей слуха.

[0343] Согласно некоторым аспектам фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут содержать, например, полинуклеотид, например, одну или несколько конструкций, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция может содержать одну или несколько частиц AAV, например, одну или несколько конструкций гAAV, инкапсидированных одним или несколькими капсидами серотипа AAV, как описано в настоящем документе.

[0344] Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция содержит один или несколько фармацевтически или физиологически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ. В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтически приемлемый носитель» включает растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные агенты, противогрибковые агенты и т.п., которые совместимы с фармацевтическим применением. Дополнительные активные соединения также могут быть включены в любую из описанных в настоящем документе композиций. Такие композиции могут включать один или несколько буферов, таких как нейтрально-солевой буфер, фосфатно-солевой буфер и т.п., один или несколько углеводов,

таких как глюкоза, манноза, сахароза и декстран, маннит, один или несколько белков, полипептидов или аминокислот, таких как глицин, один или несколько антиоксидантов, один или несколько хелатирующих агентов, таких как ЭДТА или глутатион, и/или один или несколько консервантов. Согласно некоторым аспектам состава находятся в лекарственных формах, таких как растворы для инъекций, гели для инъекций, капсулы с высвобождением лекарственного средства и т.п.

[0345] Согласно некоторым аспектам композиции согласно настоящему изобретению разработаны для внутривенного введения. Согласно некоторым аспектам композиции согласно настоящему изобретению составлены для введения в орган улитку. Согласно некоторым аспектам композицию (например, терапевтическую композицию) составляют так, чтобы она содержала липидную наночастицу, полимерную наночастицу, мини-кольцевую ДНК и/или ДНК CELiD.

[0346] Согласно некоторым аспектам композицию, как раскрыто в настоящем документе, составляют в виде стерильной суспензии для интракохлеарного введения. Согласно некоторым аспектам композиция содержит конструкции в количестве по меньшей мере $1E11$, по меньшей мере $5E11$, по меньшей мере $1E12$, по меньшей мере $5E12$, по меньшей мере $1E13$, по меньшей мере $2E13$, по меньшей мере $3E13$, по меньшей мере $4E13$, по меньшей мере $5E13$, по меньшей мере $6E13$, по меньшей мере $7E13$, по меньшей мере $8E13$, по меньшей мере $9E13$, или по меньшей мере $1E14$ геномов вектора (гв) на миллилитр (мл). Согласно некоторым аспектам композиция содержит конструкции в количестве самое большее $1E15$, самое большее $5E14$, самое большее $1E14$, самое большее $5E13$, самое большее $1E13$, самое большее $9E12$, самое большее $8E12$, самое большее $7E12$, самое большее $6E12$, самое большее $5E12$, самое большее $4E12$, самое большее $3E12$, самое большее $2E12$ или самое большее $1E12$ геномов вектора (гв) на миллилитр (мл). Согласно некоторым аспектам композиция содержит конструкции в количестве от $1E12$ до $1E13$, от $5E12$ до $5E13$ или от $1E13$ до $2E13$ геномов вектора (гв) на миллилитр (мл).

[0347] Согласно некоторым аспектам терапевтическая композиция составлена таким образом, что содержит синтетический раствор перилимфа. Например, согласно некоторым аспектам раствор синтетической перилимфы включает 20-200 мМ NaCl, 1-5 мМ KCl, 0,1-10 мМ CaCl₂, 1-10 мМ глюкозы и 2-50 мМ HEPES с рН от приблизительно 6 до приблизительно 9. Согласно некоторым аспектам терапевтическую композицию составляют так, чтобы она содержала физиологически подходящий раствор. Например, согласно некоторым аспектам физиологически подходящий раствор включает

коммерчески доступный 1xPBS с плюроновой кислотой F68, приготовленный до конечной концентрации: 8,10 мМ двухосновного фосфата натрия, 1,5 мМ монофосфата калия, 2,7 мМ хлорида калия, 172 мМ хлорида натрия и 0,001% Плюроновая кислота F68). Согласно некоторым аспектам используются альтернативные плюроновые кислоты. Согласно некоторым аспектам используются альтернативные концентрации ионов.

[0348] Согласно некоторым аспектам любая из фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе, может дополнительно содержать один или несколько агентов, которые способствуют проникновению нуклеиновой кислоты или любой из конструкций, описанных в настоящем документе, в клетку млекопитающего (например, липосому или катионный липид). Согласно некоторым аспектам любая из описанных в настоящем документе конструкций может быть составлена с использованием природных и/или синтетических полимеров. Неограничивающие примеры полимеров, которые могут быть включены в любую из описанных в настоящем документе композиций, могут включать без ограничения DYNAMIC POLYCONJUGATE® (Arrowhead Research Corp., Pasadena, Calif.), составы от Mirus Bio (Madison, Wis.) и полимерные составы Roche Madison (Madison, Wis.), PhaseRX, такие как без ограничения SMARTT POLYMER TECHNOLOGY® (PhaseRX, Seattle, Wash.), DMRI/DOPE, полуксамер, VAXFECTIN® адьювант от Vical (San Diego, Calif.), хитозан, циклодекстрин от Calando Pharmaceuticals (Pasadena, Calif.), дендримеры и полимеры поли(молочно-гликолевой кислоты) (PLGA), полимеры RONDEL™ (РНКи/доставка олигонуклеотидных наночастиц (Arrowhead Research Corporation, Pasadena, Calif.), и pH-чувствительные соблок-полимеры, такие как без ограничения производимые PhaseRX (Seattle, Wash.). Многие из этих полимеров продемонстрировали эффективность при доставке олигонуклеотидов *in vivo* в клетку млекопитающего (см., например, deFougerolles, Human Gene Ther. 19:125-132, 2008, Rozema et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104:12982-12887, 2007, Rozema et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104:12982-12887, 2007, Hu-Lieskovan et al., Cancer Res. 65:8984-8982, 2005, Heidel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104:5715-5721, 2007, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0349] Согласно некоторым аспектам композиция включает фармацевтически приемлемый носитель (например, фосфатно-солевой буфер, физиологический раствор или бактериостатическую воду). После приготовления растворы вводят способом, совместимым с лекарственной формой, и в таком количестве, которое является терапевтически эффективным. Составы легко вводятся в различных

лекарственных формах, таких как растворы для инъекций, гели для инъекций, капсулы с высвобождением лекарственного средства и т.п.

[0350] Согласно некоторым аспектам композиция, представленная в настоящем документе, может быть, например, составлена так, чтобы быть совместимой с предполагаемым путем введения. Неограничивающим примером предполагаемого пути введения является местное введение (например, введение в орган улитку). Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к композиции, которая содержит одну конструкцию нуклеиновой кислоты. Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к композиции, которая содержит две или более различных конструкций. Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к композиции, которая включает одну конструкцию нуклеиновой кислоты, содержащую кодирующую последовательность, которая кодирует полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26) и/или его функциональную характерную часть. Согласно некоторым аспектам композиции содержат одну конструкцию нуклеиновой кислоты, содержащую кодирующую последовательность, которая кодирует полипептид (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексина 26) и/или его функциональную характерную часть, где при введении в клетку млекопитающего кодирующая последовательность интегрируется в геном клетки млекопитающего.

[0351] Настоящее изобретение также относится к наборам, включающим любую из описанных в настоящем документе композиций. Согласно некоторым аспектам набор может включать твердую композицию (например, лиофилизированную композицию, включающую по меньшей мере две разные конструкции, описанные в настоящем документе) и жидкость для сольubilизации лиофилизированной композиции. Согласно некоторым аспектам набор может включать предварительно загруженный шприц, включающий любую из описанных в настоящем документе композиций.

[0352] Согласно некоторым аспектам набор включает флакон, содержащий любую из композиций, описанных в настоящем документе (например, составленную в виде водной композиции, например, водной фармацевтической композиции).

[0353] Согласно некоторым аспектам наборы могут включать инструкции по осуществлению любого из описанных в настоящем документе способов.

Генетически модифицированные клетки

[0354] Настоящее изобретение также относится к клетке (например, клетке животного, например, клетке млекопитающего, например, клетке примата, например, клетке человека), которая включает любую из нуклеиновых кислот, конструкций или композиций, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой человеческую клетку (например, опорную клетку человека или волосковую клетку человека). Согласно другим аспектам клетка животного представляет собой клетку млекопитающего, отличного от человека (например, клетка обезьяны, клетка Felidae, клетка Canidae и т.д.). Специалисту в данной области техники понятно, что нуклеиновые кислоты и конструкции, описанные в настоящем документе, могут быть введены в любую клетку животного (например, опорные или волосковые клетки любого животного, подходящего для ветеринарного вмешательства). В настоящем документе описаны неограничивающие примеры конструкций и способов введения конструкций в клетки животных.

[0355] Согласно некоторым аспектам животная клетка может представлять собой любую клетку внутреннего уха, включая волосковые и/или опорные клетки. Неограничивающие примеры таких клеток включают: клетки Гензена, клетки Дейтерса, клетки эндолимфатического мешка и протока, переходные клетки в мешочке, маточке и ампуле, внутренние и наружные волосковые клетки, клетки спиральной связки, клетки спирального ганглия, клетки спирального выступа, наружные клетки мешочка, маргинальные клетки, промежуточные клетки, базальные клетки, внутренние столбовые клетки, наружные столбовые клетки, клетки Клавдия, внутренние пограничные клетки, внутренние фаланговые клетки или клетки сосудистой полосы.

[0356] Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой специализированную клетку улитки. Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой волосковую клетку. Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой внутреннюю волосковую клетку улитки или наружную волосковую клетку улитки. Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой внутреннюю волосковую клетку улитки. Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой наружную волосковую клетку улитки.

[0357] Согласно некоторым аспектам животная клетка находится *in vitro*. Согласно некоторым аспектам животная клетка относится к типу клеток, который эндогенно присутствует у животного, например, у примата и/или человека. Согласно некоторым аспектам животная клетка представляет собой аутологичную клетку,

полученную от животного и культивированную *ex vivo*. Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой опорную клетку внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hec), клетки Клаудиуса/внешние клетки бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки латерального большого эпителиального гребня (LGER) и клетки OC90+ (OC90). Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hec), клетки Клаудиуса/внешние клетки бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробласты и другие клетки боковой стенки.

Способы

[0358] Помимо прочего, настоящее изобретение относится к способам. Согласно некоторым аспектам способ предусматривает введение композиции, конструкции или полинуклеотида, как описано в настоящем документе, во внутреннее ухо (например, улитку) субъекта. Например, в настоящем документе предложены способы, которые согласно некоторым аспектам предусматривают введение во внутреннее ухо (например, улитку) субъекта (например, животного, например, млекопитающего, например, примата, например, человека) терапевтически эффективного количества любой композиции, конструкции или полинуклеотида, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам любого из этих способов ранее было идентифицировано, что у субъекта имеется дефектный целевой ген клеток внутреннего уха (например, целевой ген опорных и/или слуховых клеток, имеющий мутацию, которая приводит к снижению экспрессии и/или активности целевого белка опорной клетки и/или слуховой клетки, кодируемого этим геном). Согласно некоторым аспектам любой из этих способов дополнительно предусматривает, перед стадией введения или применения, определение того, что субъект имеет дефектный целевой ген клеток внутреннего уха. Согласно

некоторым аспектам любой из этих способов может дополнительно предусматривать обнаружение мутации в целевом гене клеток внутреннего уха у субъекта. Согласно некоторым аспектам любой из способов может дополнительно предусматривать идентификацию или диагностику у субъекта внесиндромной или синдромальной нейросенсорной тугоухости.

[0359] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к способам коррекции дефекта целевого гена клеток внутреннего уха во внутреннем ухе субъекта, например, животного, например, млекопитающего, например, примата, например, человека. Согласно некоторым аспектам способы предусматривают введение во внутреннее ухо субъекта терапевтически эффективного количества любой из композиций, описанных в настоящем документе, причем введение устраняет или улучшает дефект целевого гена клеток внутреннего уха в любой подгруппе клеток внутреннего уха человека. Согласно некоторым аспектам целевая клетка внутреннего уха может представлять собой сенсорную клетку, например, волосковую клетку, и/или несенсорную клетку, например, опорную клетку, и/или все или любую подгруппу клеток внутреннего уха.

[0360] Настоящее изобретение также относится к способам стимулирования экспрессии (например, повышения уровня экспрессии) целевого белка клеток внутреннего уха в любой подгруппе клеток внутреннего уха субъекта (например, животного, например, млекопитающего, например, примата, например, человека), которые предусматривают: введение во внутреннее ухо субъекта терапевтически эффективного количества любой из композиций, описанных в настоящем документе, где введение приводит к увеличению уровня экспрессии целевого белка клеток внутреннего уха (например, полипептида) (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26)) в любой субпопуляции клеток внутреннего уха субъекта. Согласно некоторым аспектам целевая клетка внутреннего уха может представлять собой сенсорную клетку, например, волосковую клетку, и/или несенсорную клетку, например, опорную клетку, и/или все или любую подгруппу клеток внутреннего уха.

[0361] Настоящее изобретение также относится к способам лечения потери слуха, например, внесиндромной нейросенсорной тугоухости или синдромальной нейросенсорной тугоухости у субъекта (например, животного, например, млекопитающего, например, примата, например, человека), у которого выявлено наличие дефектных по целевому гену клеток внутреннего уха, которые предусматривают: введение во внутреннее ухо субъекта терапевтически эффективного количества любой из композиций, описанных

в настоящем документе.

[0362] Настоящее изобретение также относится к способам восстановления синапсов и/или сохранения нервов спиральных ганглиев у субъекта, у которого выявлено или диагностировано заболевание внутреннего уха, которые предусматривают: введение во внутреннее ухо субъекта терапевтически эффективного количества любой из композиций, описанных в настоящем документе.

[0363] Настоящее изобретение также относится к способам уменьшения размера и/или восстановления водопровода преддверия до соответствующего размера. Настоящее изобретение также относится к способам восстановления эндолимфатического рН до соответствующего и/или приемлемого уровня у субъекта, у которого выявлено или диагностировано заболевание внутреннего уха, которые предусматривают: введение во внутреннее ухо субъекта терапевтически эффективного количества любой из композиций, описанных в настоящем документе.

[0364] Настоящее изобретение также относится к способам экспрессии полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26) в опорной клетке внутреннего уха субъекта, нуждающегося в этом. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (LGER) и клеток OC90+ (OC90). Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0365] Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида (например, терапевтический полипептид, полипептид коннексин 26) снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия,

латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептида коннексин 26) снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам терапевтический белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0366] Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0367] Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо

субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0368] Настоящее изобретение также относится к способам повышения экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептид коннексин 26) в опорной клетке внутреннего уха субъекта, нуждающегося в этом. Согласно некоторым аспектам экспрессия терапевтического полипептида (например, полипептид коннексин 26) снижается, подавляется или исключается в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Согласно некоторым аспектам экспрессия терапевтического полипептида (например, полипептид коннексин 26) снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам терапевтический белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других

клеток боковой стенки.

[0369] Настоящее изобретение также относится к способам промотирования экспрессии (например, повышения экспрессии) полипептида в опорной клетке внутреннего уха субъекта, нуждающегося в этом. Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0370] Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану

круглого окна улитки.

[0371] Настоящее изобретение также относится к способам снижения экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (LGER) и клеток OC90+ (OC90). Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0372] Настоящее изобретение также относится к способам снижения экспрессии полипептида в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (LGER) и клеток OC90+ (OC90). Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и

клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0373] Согласно некоторым аспектам экспрессия терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам терапевтический белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитки субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0374] Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC),

внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0375] Настоящее изобретение также относится к способам снижения токсичности, связанной с экспрессией терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) в клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам клетки внутреннего уха представляют собой волосковые клетки внутреннего уха, клетки спирального ганглия, латеральные опорные клетки, клетки базилярной мембраны, средние опорные клетки, клетки спирального лимба, или любая их комбинация. Согласно некоторым аспектам экспрессия терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам терапевтический белок (например, полипептид коннексина 26) преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Согласно некоторым

аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0376] Настоящее изобретение также относится к способам снижения токсичности, связанной с экспрессией полипептида в клетке внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам клетки внутреннего уха представляют собой волосковые клетки внутреннего уха, клетки спирального ганглия, латеральные опорные клетки, клетки базилярной мембраны, средние опорные клетки, клетки спирального лимба, или любая их комбинация. Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки. Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0377] Настоящее изобретение также относится к способам лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития. Согласно некоторым аспектам экспрессия терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках

базиллярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии терапевтического полипептида (например, полипептид коннексина 26) снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базиллярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам терапевтический белок (например, коннексин 26) преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0378] Настоящее изобретение также относится к способам лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития. Согласно некоторым аспектам экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базиллярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам токсичность в результате экспрессии полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базиллярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба или любой их комбинации. Согласно некоторым аспектам белок преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

[0379] Согласно некоторым аспектам введение проводят во внутреннее ухо субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят в орган улитку субъекта. Согласно некоторым аспектам введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

[0380] Настоящее изобретение также относится к способам, которые предусматривают введение во внутреннее ухо субъекта терапевтически эффективного количества любой из описанных в настоящем документе композиций.

[0381] Настоящее изобретение также относится к хирургическим способам лечения потери слуха (например, внесиндромной нейросенсорной тугоухости или синдромальной нейросенсорной тугоухости). Согласно некоторым аспектам способы предусматривает следующие стадии: введение в орган улитку субъекта первого разреза в первой точке разреза, и введение внутри улитки терапевтически эффективного количества любой из композиций, представленных в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композицию вводят субъекту в первой точке разреза. Согласно некоторым аспектам композицию вводят субъекту в первый разрез или через него.

[0382] Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, любую описанную в настоящем документе композицию вводят субъекту в мембрану овального окна улитки или через нее. Согласно некоторым аспектам любого из описанных в настоящем документе способов любую из описанных в настоящем документе композиций вводят субъекту в мембрану круглого окна улитки или через нее. Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, композицию вводят с использованием медицинского устройства, способного создавать множество разрезов в мембране круглого окна. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает множество микроигл. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает множество микроигл, включая в целом круглый первый аспект, где каждая микроигла имеет диаметр по меньшей мере приблизительно 10 микрон. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает основу и/или резервуар, способный удерживать композицию. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает множество полых микроигл, каждая из которых содержит просвет, способный переносить композицию. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает средство для создания по меньшей мере частичного вакуума.

[0383] Согласно некоторым аспектам технологии согласно настоящему изобретению применяют для лечения субъектов с потерей слуха или с риском потери слуха.

Согласно некоторым таким аспектам патогенный вариант вызывает или может вызвать потерю слуха.

[0384] Согласно некоторым аспектам субъекта, страдающего потерей слуха, оценивают, чтобы определить, присутствуют ли и где присутствуют одна или несколько мутаций, которые могут вызвать потерю слуха. Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, субъект или животное представляет собой млекопитающее, согласно некоторым аспектам млекопитающее представляет собой домашнее животное, сельскохозяйственное животное, животное для содержания в зоопарке, примата, не являющегося человеком, или человека. Согласно некоторым аспектам любого из описанных в настоящем документе способов животное, субъект или млекопитающее представляет собой взрослого, подростка юношеского возраста, подростка младшего возраста, ребенка, малыша, младенца или новорожденного. Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, животное, субъект или млекопитающее находится в возрасте 1-5, 1-10, 1-20, 1-30, 1-40, 1-50, 1-60, 1-70, 1-80, 1-90, 1-100, 1-110, 2-5, 2-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 10-30, 10-40, 10-50, 10-60, 10-70, 10-80, 10-90, 10-100, 10-110, 20-40, 20-50, 20-60, 20-70, 20-80, 20-90, 20-100, 20-110, 30-50, 30-60, 30-70, 30-80, 30-90, 30-100, 40-60, 40-70, 40-80, 40-90, 40-100, 50-70, 50-80, 50-90, 50-100, 60-80, 60-90, 60-100, 70-90, 70-100, 70-110, 80-100, 80-110 или 90-110 лет. Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, возраст субъекта или млекопитающего составляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 месяцев.

[0385] Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, способы приводят к улучшению слуха (например, любого из показателей для определения улучшения слуха, описанных в настоящем документе) у субъекта, нуждающегося в этом, в течение по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 15 дней, по меньшей мере 20 дней, по меньшей мере 25 дней, по меньшей мере 30 дней, по меньшей мере 35 дней, по меньшей мере 40 дней, по меньшей мере 45 дней, по меньшей мере 50 дней, по меньшей мере 55 дней, по меньшей мере 60 дней, по меньшей мере 65 дней, по меньшей мере 70 дней, по меньшей мере 75 дней, по меньшей мере 80 дней, по меньшей мере 85 дней, по меньшей мере 100 дней, по меньшей мере 105 дней, по меньшей мере 110 дней, по меньшей мере 115 дней, по меньшей мере 120 дней, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11

месяцев или по меньшей мере 12 месяцев.

[0386] Согласно некоторым аспектам субъект (например, животное, например, млекопитающее, например, человек) страдает или имеет риск развития синдромальной или внесиндромной нейросенсорной тугоухости.

[0387] Согласно некоторым аспектам субъект (например, животное, например, млекопитающее, например, человек) был идентифицирован как имеющий синдромальную или внесиндромную нейросенсорную тугоухость.

[0388] Согласно некоторым аспектам субъект (например, животное, например, млекопитающее, например, человек) был идентифицирован как имеющий риск потери слуха (например, имеющий риск быть носителем генной мутации). Согласно некоторым таким аспектам субъект (например, животное, например, млекопитающее, например, человек) может иметь определенные факторы риска потери слуха или риск потери слуха (например, известный родитель-носитель, болеют брат или сестра или симптомы нарушения слуха). Согласно некоторым таким аспектам субъект (например, животное, например, млекопитающее, например, человек) идентифицирован как носитель мутации в гене (например, посредством генетического тестирования), которая ранее не была идентифицирована. Согласно некоторым таким аспектам выявленные мутации могут быть новыми (т.е. ранее не описанными в литературе), и способы лечения субъекта, страдающего или имеющего риск развития потери слуха, будут персонализированы с учетом мутации (мутаций) конкретного пациента.

[0389] Согласно некоторым аспектам успешное лечение синдромальной или внесиндромной нейросенсорной тугоухости может быть определено у субъекта с использованием любого из обычных функциональных тестов слуха, известных в данной области техники. Неограничивающими примерами функциональных тестов слуха являются различные типы аудиометрических тестов (например, тест чистых тонов, речевой тест, тест среднего уха, реакция слухового ствола мозга и отоакустическая эмиссия).

[0390] Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, две или более дозы любой композиции, описанной в настоящем документе, вводят или вводятся в орган улитку субъекта. Некоторые аспекты любого из этих способов могут включать введение или доставку первой дозы композиции в орган улитку субъекта, оценку функции слуха субъекта после введения или доставки первой дозы и введение дополнительной дозы композиции в орган улитку субъекта, у которого обнаружено отсутствие слуховой функции в пределах нормы (например, как определено с

помощью любого слухового теста, известного в данной области техники).

[0391] Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, композиция может быть составлена для введения в орган улитку. Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, композиции, описанные в настоящем документе, можно вводить посредством введения в орган улитку или местного введения. Согласно некоторым аспектам любого из способов, описанных в настоящем документе, композиции вводят с помощью медицинского устройства (например, любого из иллюстративных медицинских устройств, описанных в настоящем документе).

[0392] Согласно некоторым аспектам введение в орган улитку можно осуществлять с использованием любого из способов, описанных в настоящем документе или известных в данной области техники. Например, согласно некоторым аспектам композицию можно вводить или доставлять в орган улитку с использованием следующей хирургической техники: сначала с помощью визуализации с помощью жесткого эндоскопа диаметром 2,5 мм с углом 0 градусов очищают наружный слуховой проход и используют круглый нож, чтобы резко очертить тимпаномеатальный лоскут длиной приблизительно 5 мм. Затем тимпаномеатальный лоскут приподнимают и входят в среднее ухо сзади. Нерв барабанной струны идентифицируют и пересекают, и с помощью кюретки удаляют щитковую кость, обнажая мембрану круглого окна. Для улучшения апикального распределения введенной или доставленной композиции можно использовать хирургический лазер для создания небольшой 2-миллиметровой фенестрации в овальном окне, чтобы обеспечить смещение перилимфы во время инфузии композиции через мембрану круглого окна. Затем микроинфузионное устройство первично обрабатывают и вводят в операционное поле. Устройство подводят к круглому окну, а кончик помещают в выступ костного круглого окна, чтобы микроигла (микроиглы) могла проникнуть в мембрану. Ножная педаль задействована, чтобы обеспечить размеренное и равномерное вливание композиции. Затем устройство вынимают, а круглое окно и ножку стремени герметизируют пластырем из гелевой пены.

[0393] Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, субъект страдает или имеет риск развития синдромальной или внесиндромной нейросенсорной тугоухости. Согласно некоторым аспектам любого способа, предложенного в настоящем документе, ранее было идентифицировано, что у субъекта имеется мутация в целевом гене клеток внутреннего уха, гене, который может

экспрессироваться в опорных клетках и/или волосковых клетках.

[0394] Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, субъект был идентифицирован как носитель мутации в целевом гене клеток внутреннего уха (например, посредством генетического тестирования). Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, у субъекта было выявлено наличие мутации в целевом гене клеток внутреннего уха, и у него была диагностирована потеря слуха (например, внесиндромная нейросенсорная тугоухость или синдромальная нейросенсорная тугоухость, например, DFNB1, DFNA3, синдром Барта-Памфри, гистриксоподобный ихтиоз с глухотой (HID), ладонно-подошвенная кератодермия с глухотой, синдром кератита-ихтиоза-глухоты (KID) или синдром Вохвинкеля, соответственно). Согласно некоторым аспектам любого из описанных в настоящем документе способов у субъекта была идентифицирована потеря слуха (например, внесиндромная нейросенсорная тугоухость или синдромальная нейросенсорная тугоухость). Согласно некоторым аспектам успешное лечение потери слуха (например, внесиндромной нейросенсорной тугоухости или синдромальной нейросенсорной тугоухости) может быть определено у субъекта с использованием любого из традиционных функциональных тестов слуха, известных в данной области. Неограничивающие примеры функциональных тестов слуха включают различные типы аудиометрических тестов (например, тест чистых тонов, речевой тест, тест среднего уха, слуховой ответ ствола мозга и отоакустическая эмиссия).

[0395] Согласно некоторым аспектам рассматриваемая клетка находится *in vitro*. Согласно некоторым аспектам клетка субъекта первоначально получена от субъекта и культивирована *ex vivo*. Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего уха. Согласно некоторым аспектам клетка *ex vivo* представляет собой внутренние фаланговые клетки/пограничные клетки (IPhC), внутренние столбовые клетки (IPC), внешние столбовые клетки (OPC), клетки Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клетки Дейтерса ряда 3 (DC3), клетки Гензена (Hes), клетки Клаудиуса/внешние клетки бороздки (CC/OSC), интердентальные клетки (Idc), внутренние клетки бороздки (ISC), клетки органа Келликера (KO), клетки большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клетки OC90+ (OC90), фибробласты и другие клетки боковой стенки.

[0396] Согласно некоторым аспектам ранее было установлено, что рассматриваемая клетка имеет дефектный целевой ген клетки внутреннего уха. Согласно

некоторым аспектам ранее было установлено, что рассматриваемая клетка имеет дефектный целевой ген волосковой клетки. Согласно некоторым аспектам ранее было установлено, что рассматриваемая клетка имеет дефектный целевой ген опорной клетки.

[0397] Способы обнаружения экспрессии и/или активности целевого белка (например, полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26)) известны в данной области техники. Согласно некоторым аспектам уровень экспрессии целевого белка клеток внутреннего уха может быть обнаружен непосредственно (например, путем обнаружения целевого белка клеток внутреннего уха или мРНК-мишени). Неограничивающие примеры методик, которые можно использовать для обнаружения экспрессии и/или активности целевой РНК или белка (например, полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26)) непосредственно включают: ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинг, иммунопреципитацию, иммуногистохимию, масс-спектрометрию или иммунофлуоресценцию. Согласно некоторым аспектам экспрессия целевого белка клеток внутреннего уха можно обнаружить косвенно (например, с помощью функциональных тестов слуха).

[0398] Способы обнаружения экспрессии и/или активности целевого белка (например, полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26)) известны в данной области техники. Согласно некоторым аспектам уровень экспрессии целевого белка клеток внутреннего уха может быть обнаружен непосредственно (например, путем обнаружения целевого белка клеток внутреннего уха или мРНК-мишени). Неограничивающие примеры методик, которые можно использовать для обнаружения экспрессии и/или активности целевой РНК или белка (например, полипептида (например, терапевтического полипептида, полипептида коннексина 26)) непосредственно включают: ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинг, иммунопреципитацию, иммуногистохимию, масс-спектрометрию или иммунофлуоресценцию. Согласно некоторым аспектам экспрессия целевого белка клеток внутреннего уха можно обнаружить косвенно (например, с помощью функциональных тестов слуха).

Устройства, введение и хирургические способы

[0399] Согласно настоящему изобретению предложены терапевтические системы доставки для лечения потери слуха (например, внесиндромной нейросенсорной

тугоухости или синдромальной нейросенсорной тугоухости). Согласно одному аспекту система терапевтической доставки включает: i) медицинское устройство, способное создавать один или множество разрезов в мембране круглого окна внутреннего уха субъекта, нуждающегося в этом, и ii) эффективную дозу композиции (например, любой из описанных в настоящем документе композиций). Некоторые аспекты относятся к медицинскому устройству, включающему множество микроигл.

[0400] Согласно настоящему изобретению также предложены хирургические способы лечения потери слуха (например, внесиндромной нейросенсорной тугоухости или синдромальной нейросенсорной тугоухости). Согласно некоторым аспектам способ предусматривает следующие стадии: введение в орган улитку субъекта первого разреза в первой точке разреза, и введение внутри улитки терапевтически эффективного количества любой из композиций, представленных в настоящем документе. Некоторые аспекты относятся к композиции, которую вводят субъекту в первой точке разреза. Согласно некоторым аспектам композицию вводят субъекту в первый разрез или через него.

[0401] Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, любую из описанных в настоящем документе композиций вводят субъекту в мембрану овального окна улитки или через нее. Согласно некоторым аспектам любого способа, предложенного в настоящем документе, любую из описанных в настоящем документе композиций вводят субъекту в мембрану круглого окна улитки или через нее. Согласно некоторым аспектам любого способа, представленного в настоящем документе, композицию вводят с помощью медицинского устройства, способного создавать множество разрезов в мембране круглого окна. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает множество микроигл. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает множество микроигл, включая в целом круглый первый аспект, где каждая микроигла имеет диаметр по меньшей мере приблизительно 10 микрон. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает основу и/или резервуар, способный удерживать композицию. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает множество полых микроигл, каждая из которых содержит просвет, способный переносить композицию. Согласно некоторым аспектам медицинское устройство включает средство для создания, по меньшей мере, частичного вакуума.

[0402] Согласно некоторым аспектам настоящее изобретение относится к подходу к доставке, в котором используется минимально инвазивная, хорошо принятая хирургическая техника для доступа к среднему уху и/или внутреннему уху через наружный

слуховой проход. Методика предусматривает открытие одного из физических барьеров между средним и внутренним ухом в овальном окне и последующее использование устройства, раскрытого в настоящем документе, например, как показано на фиг. 5-8 (или микрокатетера) для доставки раскрытой в настоящем документе композиции с контролируемой скоростью потока и в фиксированном объеме через мембрану с круглым окном.0

[0403] Согласно некоторым аспектам хирургические процедуры для млекопитающих (например, грызунов (например, мышей, крыс, хомяков или кроликов), приматов (например, ННР (например, макак, шимпанзе, обезьян или человекообразных обезьян)) или людей) могут предусматривать вентиляцию для увеличения скорости трансдукции вектора AAV по длине улитки. Согласно некоторым аспектам отсутствие вентиляции во время операции может привести к более низким скоростям трансдукции вектора AAV в клетки улитки по сравнению со скоростью трансдукции клеток улиток вектором AAV в ходе операций, проводимых с вентиляцией. Согласно некоторым аспектам вентиляция обеспечивает скорости трансдукции приблизительно 75-100% ИНС через улитку. Согласно некоторым аспектам вентиляция обеспечивает скорости трансдукции приблизительно ИНС приблизительно 50-70%, приблизительно 60-80%, приблизительно 70-90% или приблизительно 80-100% у основания улитки. Согласно некоторым аспектам вентиляция обеспечивает скорости трансдукции приблизительно ИНС приблизительно 50-70%, приблизительно 60-80%, приблизительно 70-90% или приблизительно 80-100% у вершины улитки.

[0404] Описанное в настоящем документе устройство доставки может быть помещено в стерильное поле операционной, а конец трубки может быть удален из стерильного поля и подсоединен к шприцу, который был загружен композицией, раскрытой в настоящем документе (например, одним или несколькими AAV векторами), и установлен в насос. После соответствующей первичной обработки системы для удаления воздуха иглу можно ввести через среднее ухо под контролем (хирургический микроскоп, эндоскоп и/или камера на дистальном кончике). Для прокола RWM можно использовать иглу (или микроиглу). Иглу можно вводить до тех пор, пока стопор не коснется RWM. Затем устройство можно удерживать в этом положении, пока композиция, раскрытая в настоящем документе, доставляется с контролируемой скоростью потока во внутреннее ухо в течение выбранного периода времени. Согласно некоторым аспектам скорость потока (или скорость инфузии) может включать скорость приблизительно 30 мкл/мин, или от приблизительно 25

мкл/мин до приблизительно 35 мкл/мин, или от приблизительно 20 мкл/мин до приблизительно 40 мкл/мин, или от приблизительно 20 мкл/мин до приблизительно 70 мкл/мин, или от приблизительно 20 мкл/мин до приблизительно 90 мкл/мин, или от приблизительно 20 мкл/мин до приблизительно 100 мкл/мин. Согласно некоторым аспектам скорость потока составляет приблизительно 20 мкл/мин, приблизительно 30 мкл/мин, приблизительно 40 мкл/мин, приблизительно 50 мкл/мин, приблизительно 60 мкл/мин, приблизительно 70 мкл/мин, приблизительно 80 мкл/мин, приблизительно 90 мкл/мин или приблизительно 100 мкл/мин. Согласно некоторым аспектам Согласно некоторым аспектам выбранная продолжительность времени (то есть время, в течение которого композиция, раскрытая в настоящем документе, течет) может составлять приблизительно 3 минуты, или от приблизительно 2,5 минут до приблизительно 3,5 минут, или от приблизительно 2 минут до приблизительно 4 минут, или от приблизительно 1,5 минут до приблизительно 4,5 минут, или от приблизительно 1 минуты до приблизительно 5 минут. Согласно некоторым аспектам общий объем композиции, как раскрыто в настоящем документе, который течет во внутреннее ухо может составлять приблизительно 0,09 мл, или от приблизительно 0,08 мл до приблизительно 0,10 мл, или от приблизительно 0,07 мл до приблизительно 0,11 мл. Согласно некоторым аспектам общий объем композиции, как раскрыто в настоящем документе, равен от приблизительно 40% до приблизительно 50% от объема внутреннего уха.

[0405] После завершения доставки устройство можно удалить. Согласно некоторым аспектам устройство, описанное в настоящем документе, может быть выполнено в виде одноразового продукта. Согласно другим аспектам описанное в настоящем документе устройство может быть сконфигурировано как многоразовый стерилизуемый продукт, например, со сменным и/или стерилизуемым игольчатым узлом. Одноразовые устройства можно надлежащим образом выбросить (например, в контейнер для биологически опасных острых предметов) после завершения введения.

[0406] Согласно некоторым аспектам композиция, раскрытая в настоящем документе, содержит одну или множество конструкций гAAV. Согласно некоторым аспектам, когда в композицию включено более одной конструкции гAAV, каждая конструкция гAAV различна. Согласно некоторым аспектам конструкция гAAV содержит кодирующую область анти-VEGF, например, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам композиция содержит частицу гAAV, содержащую конструкцию AAV, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам

частица rAAV инкапсидирована капсидом Anc80 (например, капсидом Anc80L65). Согласно некоторым аспектам капсид Anc80 содержит полипептид последовательности согласно SEQ ID NO: 44.

[0407] Согласно некоторым аспектам композиция, раскрытая в настоящем документе, может быть введена субъекту с помощью хирургической процедуры. Согласно некоторым аспектам введение, например, посредством хирургической процедуры, предусматривает инъекцию раскрытой в настоящем документе композиции посредством описанного в настоящем документе устройства доставки во внутреннее ухо. Некоторые аспекты относятся к хирургической процедуре, описанной в настоящем документе, которая предусматривает выполнение трансканальной тимпанотомии, выполнение лазерной микростапедотомии и инъекцию раскрытой в настоящем документе композиции посредством описанного в настоящем документе устройства доставки во внутреннее ухо.

[0408] Согласно некоторым аспектам хирургическая процедура предусматривает выполнение трансканальной тимпанотомии, выполнение лазерной микростапедотомии, инъекцию раскрытой в настоящем документе композиции посредством описанного в настоящем документе устройства доставки во внутреннее ухо, нанесение герметика вокруг круглого окна и/или овального окна субъекта, и опускание тимпаномеатального лоскута субъекта в анатомическое положение.

[0409] Согласно некоторым аспектам хирургическая процедура предусматривает выполнение трансканальной тимпанотомии, подготовку круглого окна субъекта, выполнение лазерной микростапедотомии, приготовление как описанного в настоящем документе устройства доставки, так и раскрытой в настоящем документе композиции для доставки во внутреннее ухо, инъекцию раскрытой в настоящем документе композиции посредством устройства доставки во внутреннее ухо, нанесение герметика вокруг круглого окна и/или овального окна субъекта, и опускание тимпаномеатального лоскута субъекта в анатомическое положение.

[0410] Согласно некоторым аспектам выполнение микростапедотомии с помощью лазера предусматривает использование отологического лазера КТР и/или отологического лазера CO₂.

[0411] В качестве другого примера, раскрытую в настоящем документе композицию вводят с использованием устройства и/или системы, специально разработанной для интракохлеарного пути введения. Согласно некоторым аспектам элементы конструкции устройства, описанного в настоящем документе, могут включать:

поддержание стерильности вводимой жидкости, минимизацию попадания пузырьков воздуха во внутреннее ухо, способность точно доставлять небольшие объемы с контролируемой скоростью, доставку через наружный слуховой проход хирургом, минимизацию повреждения мембраны круглого окна (RWM) или внутреннего уха, например, структур улитки за пределами RWM, и/или минимизацию обратной утечки закачанной жидкости через RWM.

[0412] Устройства, системы и способы, представленные в настоящем документе, также имеют потенциал безопасной и эффективной доставки композиции во внутреннее ухо для лечения состояний и нарушений, при которых будет полезна доставка композиции, раскрытой в настоящем документе, во внутреннее ухо, включая без ограничения нарушения слуха, например, как описано в настоящем документе. В качестве другого примера, путем размещения вентиляционного отверстия в подножке стремени и инъекции через RWM композиция, раскрытая в настоящем документе, диспергируется по всей улитке с минимальным разбавлением в месте воздействия. Разработка описанных устройств позволяет осуществлять процедуру хирургического введения через наружный слуховой проход у человека. Описанные устройства можно извлечь из уха после инфузии некоторого количества жидкости в перилимфу улитки. У субъектов устройство можно продвигать через наружный слуховой проход либо под контролем хирургического микроскопа, либо вместе с эндоскопом.

[0413] Иллюстративное устройство для использования в любом из раскрытых в настоящем документе способов описано на фиг. 5-8. На **фиг.5** показано иллюстративное устройство 10 для доставки жидкости во внутреннее ухо. Устройство 10 включает ручку 12 с накаткой и адгезивом 14 на дистальной части ручки (например, эпоксидную смолу, такую как Loctite 4014), который прикрепляется к телескопической опоре 24 гипотрубки иглы. Ручка 12 с накаткой (или часть 1 ручки) может иметь элементы скручивания и/ или канавки для улучшения сцепления. Ручка 12 с накаткой (или часть ручки) может иметь толщину от приблизительно 5 мм до приблизительно 15 мм, или от приблизительно 5 мм до приблизительно 12 мм, или от приблизительно 6 мм до приблизительно 10 мм, или от приблизительно 6 мм до приблизительно 9 мм. мм или от примерно 7 мм до примерно 8 мм. Ручка 12 с накаткой (или часть ручки) может быть полый, так что жидкость может проходить через устройство 10 во время использования. Устройство 10 может также включать адгезив 16 проксимальной ручки на проксимальном конце 18 ручки 12 с накаткой, узел 26 иглы (показан на **фиг. 6**) со стопором 28 (показан на

фиг. 34) на дистальном конце 20 устройства 10 и элемент 22 для снятия натяжения. Элемент 22 для снятия натяжения может состоять из материала Santoprene, материала Pebax, полиуретанового материала, силиконового материала, нейлонового материала и/или термопластичного эластомера. Телескопическая опора 24 иглы гипотрубки окружает и поддерживает изогнутую иглу 38 (показанную на **фиг.6**), расположенную внутри нее.

[0414] Со ссылкой на **фиг.5**, стопор 28 может состоять из термопластического материала или пластикового полимера (такого как полимер, отверждаемый УФ-излучением), а также других подходящих материалов и может использоваться для предотвращения вставки изогнутой иглы 38 слишком глубоко в слуховой проход (например, чтобы предотвратить попадание изогнутой иглы 38 в боковую стенку или другую структуру внутреннего уха). Устройство 10 также может включать конусообразную часть 23, расположенную между ручкой 12 с накаткой и адгезивом 14 дистальной ручки, который соединен с опорой 24 иглы телескопической гипотрубки. Ручка 12 с накаткой (или часть ручки) может включать сужающуюся часть 23 на дистальном конце части 12 ручки. Устройство 10 может также включать трубку 36, соединенную по текучей среде с проксимальным концом 16 устройства 10 и действующую как линия впуска жидкости, соединяющая устройство с расположенными выше по ходу потока компонентами (например, насосом, шприцем и/или компонентами выше по ходу потока, которые согласно некоторым аспектам могут быть соединены с системой управления и/или источником питания (не показаны)). Согласно некоторым аспектам изогнутая игла 38 (показанная на **фиг. 6**) проходит от дистального конца 20 через телескопическую опору 24 гипотрубки иглы, через коническую часть 23, через ручку 12 с накаткой, а также через элемент 22 для снятия натяжения и соединяется по текучей среде непосредственно с трубкой 36. Согласно другим аспектам изогнутая игла 38 соединяется по текучей среде с полый внутренней частью рукоятки с накаткой (например, через телескопическую опору 24 для иглы гипотрубки), которая, в свою очередь, по текучей среде соединяется на проксимальном конце 16 с трубкой 36. В аспектах, где изогнутая игла 38 не проходит полностью через внутреннюю часть устройства 10, площадь контакта (например, между перекрывающимися вложенными друг в друга гипотрубками 42), допуски и/или герметики между сопрягаемыми компонентами должны быть достаточными для предотвращения утечки жидкости лекарственного средства из устройства 10 (которое работает при относительно низком давлении (например, от приблизительно 1 Па до приблизительно 50

Па, или от приблизительно 2 Па до приблизительно 20 Па, или от приблизительно 3 Па до приблизительно 10 Па)).

[0415] На **фиг. 6** показан вид сбоку узла 26 изогнутой иглы согласно аспектам раскрытых аспектов настоящего изобретения. Подузел 26 изогнутой иглы включает иглу 38, которая имеет изогнутую часть 32. Узел 26 изогнутой иглы может также включать стопор 28, соединенный с изогнутой частью 32. Изогнутая часть 32 включает наклонный кончик 34 на дистальном конце 20 устройства 10 для прокалывания перепонки уха (например, RWM). Игла 38, изогнутая часть 32 и наклоненная вершина 34 являются полыми, так что жидкость может течь через них. Угол 46 (как показано на **фиг. 8**) изогнутой части 32 может варьироваться. Геометрия стопора 28 может быть цилиндрической, дисковой, кольцевой, куполообразной и/или другой подходящей формы. Стопор 28 может быть отформован на изогнутой части 32. Например, стопор 28 может быть расположен концентрично вокруг изогнутой части 32 с использованием адгезива или компрессионной посадки. Примеры адгезивов включают клей, отверждаемый УФ-излучением (например, Думах 203А-СТН-FT), эластомерные клеи, терморезактивные клеи (например, эпоксидные или полиуретановые) или эмульсионные клеи (например, поливинилацетат). Стопор 28 концентрично прилегает к изогнутой части 32 так, что изогнутый кончик 34 вставляется в ухо на желаемую глубину введения. Изогнутая игла 38 может быть изготовлена из прямой иглы с использованием поэтапного формования, а также других подходящих технологий.

[0416] На **фиг. 7** показан вид в перспективе иллюстративного устройства 10 для доставки жидкости во внутреннее ухо. Трубка 36 может иметь длину от приблизительно 1300 мм (размер 11 на **фиг. 7**) до приблизительно 1600 мм, или от приблизительно 1400 мм до приблизительно 1500 мм, или от приблизительно 1430 мм до приблизительно 1450 мм. Элемент 22 снятия натяжения может иметь длину от приблизительно 25 мм до приблизительно 30 мм (размер 15 на **фиг. 7**) или от приблизительно 20 мм до приблизительно 35 мм. Ручка 12 может иметь длину приблизительно 155,4 мм (размер 13 на **фиг.7**), или от приблизительно 150 мм до приблизительно 160 мм, или от приблизительно 140 мм до приблизительно 170 мм. Опора 24 иглы телескопической гипотрубки может иметь две или более вложенных друг в друга гипотрубок 42А, 42В и 42С или четыре вложенных друг в друга гипотрубок 42А, 42В, 42С и 42D. Общая длина гипотрубок 42А, 42В, 42С и узла наконечника 26 (размер 17 на **фиг.7**) может составлять от приблизительно 25 мм до приблизительно 45 мм, или от приблизительно 30 мм до приблизительно 40 мм, или приблизительно 35 мм. Кроме того, телескопическая опора 24

иглы гипотрубки может иметь длину приблизительно 36 мм, или от приблизительно 25 мм до приблизительно 45 мм, или от приблизительно 30 мм до приблизительно 40 мм. Каждая из трех вложенных друг в друга гипотрубок 42А, 42В и 42С может иметь длину 3,5 мм, 8,0 мм и 19,8 мм соответственно плюс-минус приблизительно 20%. Самая внутренняя вложенная гипотрубка (или самая узкая часть) телескопической опоры 24 иглы гипотрубки может быть расположена концентрично вокруг иглы 38.

[0417] На **фиг. 8** показан вид в перспективе узла 26 изогнутой иглы, соединенного с дистальным концом 20 устройства 10, согласно аспектам раскрытых аспектов настоящего изобретения. Как показано на **фиг. 8**, узел 26 изогнутой иглы может включать иглу 38, соединенную с изогнутой частью 32. Согласно другим аспектам изогнутая игла 38 может представлять собой одиночную иглу (например, прямую иглу, которая затем сгибается таким образом, что она включает нужный угол 46). Игла 38 может быть иглой калибра 33 или может иметь калибр от приблизительно 32 до приблизительно 34 или от приблизительно 31 до 35. При более тонком калибре необходимо следить за тем, чтобы трубка 36 не была перекручена или повреждена. Игла 38 может быть прикреплена к ручке 12 для безопасного и точного введения иглы 38 во внутреннее ухо. Как показано на **фиг. 8**, изогнутый узел 26 иглы может также включать стопор 28, расположенный вокруг изогнутой части 32. На **фиг. 8** также показано, что изогнутая часть 32 может включать наклонный кончик 34 для прокалывания мембраны уха (например, RWM). Пробка 28 может иметь высоту 48 приблизительно 0,5 мм, или от приблизительно 0,4 мм до приблизительно 0,6 мм, или от приблизительно 0,3 мм до приблизительно 0,7 мм. Изогнутая часть 32 может иметь длину 52 приблизительно 1,45 мм, или от приблизительно 1,35 мм до приблизительно 1,55 мм, или от приблизительно 1,2 мм до приблизительно 1,7 мм. Согласно другим аспектам изогнутая часть 32 может иметь длину более 2,0 мм, так что расстояние между дистальным концом стопора 28 и дистальным концом изогнутого кончика 34 составляет от приблизительно 0,5 мм до приблизительно 1,7 мм или от приблизительно 1,7 мм. от 0,6 мм до приблизительно 1,5 мм, или от приблизительно 0,7 мм до приблизительно 1,3 мм, или от приблизительно 0,8 мм до приблизительно 1,2 мм. На **фиг. 8** показано, что стопор 28 может иметь цилиндрическую, дискообразную и/или куполообразную геометрию. Специалисту в данной области техники понятно, что можно использовать и другие геометрии.

Оценка потери и восстановления слуха

[0418] Согласно некоторым аспектам функцию слуха определяют с помощью

измерений слуховой реакции ствола мозга (ABR). Согласно некоторым аспектам слух проверяется путем измерения оптоакустической эмиссии продуктов искажения (DPOAE). Согласно некоторым таким аспектам проводят измерения для одного или обеих ушей субъекта. Согласно некоторым таким аспектам записи сравнивают с предыдущими записями для того же субъекта и/или с известными пороговыми значениями таких измерений реакции, используемых для определения, например, потери слуха в сравнении с приемлемыми диапазонами слуха, определяемыми как нормальный слух. Согласно некоторым аспектам у субъекта регистрируют измерения ABR и/или DPOAE до получения какого-либо лечения. Согласно некоторым аспектам у субъекта, получающего лечение с помощью одной или нескольких технологий, описанных в настоящем документе, наблюдают улучшения показателей ABR и/или DPOAE после лечения по сравнению с данными до лечения. Согласно некоторым аспектам измерения ABR и/или DPOAE проводят после введения лечения и через регулярные промежутки времени после лечения.

[0419] Согласно некоторым аспектам функцию слуха определяют с помощью распознавания речевых образов или определение проводит логопед. Согласно некоторым аспектам функцию слуха определяют с помощью тестирования чистого тона. Согласно некоторым аспектам функцию слуха определяют с помощью тестирования костной проводимости. Согласно некоторым аспектам функция слуха определяется с помощью тестирования акустических рефлексов. Согласно некоторым аспектам функцию слуха определяют с помощью тимпанометрии. Согласно некоторым аспектам функцию слуха определяют с помощью любой комбинации анализа слуха, известной в данной области техники. Согласно некоторым таким аспектам измерения проводят целостно и/или для одного или обеих ушей субъекта. Согласно некоторым таким аспектам записи и/или профессиональный анализ сравнивают с предыдущими записями и/или анализом для того же самого субъекта и/или известными пороговыми значениями таких измерений реакции, используемых для определения, например, потери слуха в сравнении с приемлемыми диапазонами слуха, которые следует определить, как нормальный слух. Согласно некоторым аспектам перед получением какого-либо лечения субъекту проводят распознавание речевых образов, тестирование чистых тонов, тестирование костной проводимости, тестирование акустического рефлекса и/или тимпанометрические измерения и/или анализ. Согласно некоторым аспектам у субъекта, получающего лечение с помощью одной или более технологий, описанных в настоящем документе, будут наблюдаться улучшения в распознавании речевых образов, тестировании чистых тонов,

тестировании костной проводимости, тестировании акустических рефлексов и/или тимпанометрических измерениях после лечения по сравнению с данными до лечения. Согласно некоторым аспектам распознавание речевых образов, тестирование чистых тонов, тестирование костной проводимости, тестирование акустического рефлекса и/или тимпанометрические измерения проводят после введения лечения и через регулярные промежутки времени после лечения.

Способы получения

[0420] Системы AAV, как правило, хорошо известны в данной области техники (см., например, Kelleher and Vos, *Biotechniques*, 17(6):1110-17 (1994), Cotton et al., *P.N.A.S. U.S.A.*, 89(13):6094-98 (1992), Curiel, *Nat Immun*, 13(2-3):141-64 (1994), Muzyczka, *Curr Top Microbiol Immunol*, 158:97-129 (1992), и Asokan A, et al., *Mol. Ther.*, 20(4):699-708 (2012), каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Способы создания и использования конструкций AAV описаны, например, в патентах США №№ 5139941, 4797368 и заявке РСТ US2019/060328, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0421] Способы получения вирусных конструкций известны в данной области. Например, для получения конструкций AAV способы обычно предусматривают культивирование клетки-хозяина, которая содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую капсидный белок AAV или его фрагмент, функциональный ген гер, рекомбинантную конструкцию AAV, состоящую из инвертированных концевых повторов AAV (ITR) и кодирующей последовательности, и/или достаточные хелперные функции для обеспечения упаковки рекомбинантной конструкции AAV в капсидные белки AAV.

[0422] Согласно некоторым аспектам компоненты, подлежащие культивированию в клетке-хозяине для упаковки конструкции AAV в капсид AAV, могут быть предоставлены клетке-хозяину в транс. Альтернативно, любой один или несколько компонентов (например, рекомбинантная конструкция AAV, последовательности гер, последовательности сар и/или хелперные функции) могут быть предоставлены стабильной клеткой-хозяином, которая была сконструирована так, чтобы содержать один или несколько таких компонентов, с использованием способов, известных специалистам в данной области техники. Согласно некоторым аспектам такая стабильная клетка-хозяин содержит такой компонент (компоненты) под контролем индуцируемого промотора. Согласно некоторым аспектам такой компонент (компоненты) могут находиться под

контролем конститутивного промотора. Согласно некоторым аспектам выбранная стабильная клетка-хозяин может содержать выбранный компонент (компоненты) под контролем конститутивного промотора и другой выбранный компонент (компоненты) под контролем одного или нескольких индуцируемых промоторов. Например, можно создать стабильную клетку-хозяина, полученную из клеток НЕК293 (которые содержат хелперные функции E1 под контролем конститутивного промотора), но которая содержит белки Rep и/или Cap под контролем индуцибельных промоторов. Другие стабильные клетки-хозяева могут быть получены специалистом в данной области техники с использованием обычных способов.

[0423] Рекомбинантная конструкция AAV, последовательности гер, последовательности cap и хелперные функции, необходимые для получения AAV согласно настоящему изобретению, могут быть доставлены в упаковывающую клетку-хозяина с использованием любого подходящего генетического элемента (например, конструкции). Выбранный генетический элемент может быть доставлен любым подходящим методом, известным в данной области техники, например, специалистам в области манипуляций с нуклеиновыми кислотами, включая генную инженерию, рекомбинантную инженерию и синтетические методы (см., например, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Подобным образом, способы создания частиц AAV хорошо известны, и любой подходящий метод может быть использован в соответствии с настоящим изобретением (см., например, K. Fisher et al., *J. Virol.*, 70:520-532 (1993) и патент США № 5478745, которые включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0424] Согласно некоторым аспектам рекомбинантные AAV можно получить с использованием метода тройной трансфекции (например, как описано в патенте США № 6001650, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Согласно некоторым аспектам рекомбинантные AAV получают путем трансфекции клетки-хозяина рекомбинантной конструкцией AAV (содержащей кодирующую последовательность) для упаковки в частицы AAV, конструкцией вспомогательной функции AAV и конструкцией вспомогательной функции. Конструкция вспомогательной функции AAV кодирует последовательности «вспомогательной функции AAV» (т.е. гер и cap), которые функционируют в транс для продуктивной репликации и инкапсидации AAV. Согласно некоторым аспектам конструкция вспомогательной функции

AAV поддерживает эффективное производство конструкции AAV без образования каких-либо обнаруживаемых частиц AAV дикого типа (т.е. частиц AAV, содержащих функциональные гены Rep и Cap). Неограничивающие примеры конструкций, подходящих для использования согласно настоящему изобретению, включают pHLP19 (см., например, патент США № 6001650, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте) и конструкцию pRepбсарб (см., например, патент США № 6156303, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Конструкция с вспомогательной функцией кодирует нуклеотидные последовательности для вирусных и/или клеточных функций, не происходящих от AAV, от которых зависит репликация AAV (т.е. «вспомогательные функции»). Дополнительные функции могут включать те функции, которые необходимы для репликации AAV, включая без ограничения фрагменты, участвующие в активации транскрипции гена AAV, стадия-специфическом сплайсинге мРНК AAV, репликации ДНК AAV, синтезе продуктов экспрессии сар и сборке капсида AAV. Дополнительные функции, основанные на вирусах, могут быть получены от любых известных вирусов-помощников, таких как аденовирус, вирус герпеса (кроме вируса простого герпеса типа 1) и вирус коровьей оспы.

[0425] Дополнительные способы создания и выделения вирусных конструкций AAV, подходящих для доставки субъекту, описаны, например, в патенте США № 7790449, патенте США № 7282199, WO 2003/042397, WO 2005/033321, WO 2006/110689 и патенте США № 7588772, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одной системе линию клеток-продуцентов временно трансфицируют конструкцией, которая кодирует кодирующую последовательность, фланкированную ITR, и конструкцией (конструкциями), которая кодирует Rep и Cap. В другой системе линию упаковывающих клеток, которая стабильно поставляет гер и сар, временно трансфицируют конструкцией, кодирующей кодирующую последовательность, фланкированную ITR. В каждой из этих систем частицы AAV производятся в ответ на заражение аденовирусом-помощником или вирусом герпеса, и AAV отделяются от контаминирующего вируса. Другие системы не требуют заражения вирусом-помощником для восстановления вирусных частиц - вспомогательные функции (т.е. аденовирус E1, E2a, VA и E4 или вирус герпеса UL5, UL8, UL52 и UL29 и полимеразы вируса герпеса) также предоставляются системой в транс. В таких системах хелперные функции могут обеспечиваться путем временной трансфекции клеток конструкциями, кодирующими хелперные функции, или же клетки можно сконструировать таким образом,

чтобы они стабильно содержали гены, кодирующие хелперные функции, экспрессию которых можно контролировать на транскрипционном или посттранскрипционном уровне.

[0426] Согласно некоторым аспектам определяют титры вирусных конструкций после очистки. Согласно некоторым аспектам титры определяют с помощью количественной ПЦР. Согласно некоторым аспектам для определения уровней конструкции используют зонд TaqMan, специфичный для конструкции. Согласно некоторым аспектам зонд TaqMan представлен SEQ ID NO: 58, тогда как праймеры прямой и обратной амплификации представлены SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно.

Иллюстративный зонд Taqman для количественной оценки конструкций (SEQ ID NO: 58)

/56-FAM/TCTGGCTCA/ZEN/CCGTCCTTTCATTT/3IABkFQ/

Иллюстративный прямой праймер кПЦР для количественной оценки конструкций (SEQ ID NO: 59)

CAAACACTCCACCAGCATTG

Иллюстративный обратной праймер кПЦР для количественной оценки конструкций (SEQ ID NO: 60)

CAGCCACAACGAGGATCATA

[0427] Как описано в настоящем документе, согласно некоторым аспектам вирусная конструкция согласно настоящему изобретению представляет собой конструкцию аденоассоциированного вируса (AAV). Охарактеризовано несколько серотипов AAV, включая AAV1, AAV2, AAV3 (например, AAV3B), AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и AAV Anc80, а также их варианты. Согласно некоторым аспектам частица AAV представляет собой частицу AAV2/6, AAV2/8, AAV2/9 или AAV2/Anc80 (например, с капсидом AAV6, AAV8, AAV9 или Anc80 (например, капсид Anc80L65) и конструкцию с AAV2 ITR). Другие частицы и конструкции AAV описаны, например, в Sharma et al., Brain Res Bull. 2010 Feb 15, 81(2-3): 273, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В общем, любой серотип AAV можно использовать для доставки кодирующей последовательности, описанной в настоящем документе. Однако серотипы имеют разный тропизм, например, они преимущественно инфицируют разные ткани. Согласно некоторым аспектам конструкция AAV является

самокомплементарной конструкцией AAV.

[0428] Настоящее изобретение относится, среди прочего, к способам создания конструкций на основе AAV. Согласно некоторым аспектам такие способы предусматривают использование клеток-хозяев. Согласно некоторым аспектам клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего. Клетка-хозяин может быть использована в качестве реципиента хелперной конструкции AAV, минигенной плазмиды AAV, конструкции с вспомогательной функцией и/или другой транспортной ДНК, связанной с продукцией рекомбинантных AAV. Этот термин включает потомство исходной клетки, которая была трансфицирована. Таким образом, в контексте настоящего изобретения термин «клетка-хозяин» может относиться к клетке, которая была трансфицирована экзогенной последовательностью ДНК. Понятно, что потомство одной родительской клетки не обязательно может быть полностью идентично по морфологии или по геномному или полному набору ДНК, что и исходная родительская клетка, из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации.

[0429] Дополнительные способы получения и выделения частиц AAV, подходящих для доставки субъекту, описаны, например, в патенте США № 7790449, патенте США № 7282199, WO 2003/042397, WO 2005/033321, WO 2006/110689 и патенте США № 7588772, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одной системе линию клеток-производителей временно трансфицируют конструкцией, которая кодирует кодирующую последовательность, фланкированную ITR, и конструкцией (конструкциями), которая кодирует Rep и Cap. В другой системе линию упаковывающих клеток, которая стабильно поставяет гер и сар, временно трансфицируют конструкцией, кодирующей кодирующую последовательность, фланкированную ITR. В каждой из этих систем частицы AAV производятся в ответ на заражение аденовирусом-хелпером или вирусом герпеса, и частицы AAV отделяют от контаминирующего вируса. Другие системы не требуют заражения хелперным вирусом для восстановления частиц AAV - вспомогательные функции (т. е. аденовирус E1, E2a, VA и E4 или вирус герпеса UL5, UL8, UL52 и UL29 и полимеразы вируса герпеса) также предоставляются системой в транс. В таких системах хелперные функции могут обеспечиваться путем временной трансфекции клеток конструкциями, кодирующими хелперные функции, или же клетки можно сконструировать таким образом, чтобы они стабильно содержали гены, кодирующие хелперные функции, экспрессию которых можно контролировать на транскрипционном или посттранскрипционном уровне.

[0430] В еще одной системе кодирующую последовательность, фланкированную ITR и генами Rep/Cap, вводят в клетки-хозяева насекомых путем инфицирования конструкциями на основе бакуловируса. Такие системы продукции известны в данной области техники (см., например, Zhang et al., 2009, Human Gene Therapy 20:922-929, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Способы получения и использования этих и других систем продукции AAV также описаны в патентах США № 5139941, 5741683, 6057152, 6204059, 6268213, 6491907, 6660514, 6951753, 7094604, 7172893, 7201898, 7229823 и 7439065, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Примеры

[0431] Настоящее изобретение далее подробно описано со ссылкой на следующие экспериментальные примеры. Эти примеры представлены только в целях иллюстрации и не предназначены для ограничения, если не указано иное. Таким образом, раскрытие никоим образом не следует истолковывать как ограничивающееся следующими примерами, а, скорее, следует истолковывать как охватывающее любые и все вариации, которые становятся очевидными в результате представленных в настоящем документе идей.

[0432] Полагают, что специалист в данной области техники может, используя предшествующее описание и последующие примеры, а также то, что известно в данной области техники, создать и использовать технологии согласно настоящему изобретению.

Пример 1. Конструирование вирусных конструкций, содержащих полипептид или терапевтический полипептид

[0433] В этом примере представлено описание создания вирусной конструкции, как описано в настоящем документе. Рекомбинантную частицу AAV (rAAV) получали путем трансфекции способом без аденовируса, как применяли Xiao et al., J Virol. 73(5):3994-4003, 1999, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Цис-плазмиды с AAV ITR, транс-плазмиды с генами AAV Rep и Cap и хелперную плазмиду с существенной областью генома аденовируса котрансфицировали в клетки HEK293. Конструкция rAAV экспрессировала коннексин 26 человека по стратегии одной конструкции с использованием описанных конструкций. Капсид AAV Anc80 получали с инкапсуляцией уникальной конструкции, кодирующей белок коннексин 26,

гAAV.

[0434] Специалистам в данной области техники понятно, что подобные конструкции могут быть получены в соответствии с этим примером. Например, могут быть созданы конструкции гAAV, которые экспрессируют коннексин 26 млекопитающих, приматов или человека в рамках стратегии одиночной, двойной или множественной конструкции. Серотипы AAV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, rh8, rh10, rh39, rh43 и Anc80 каждый может быть получен для инкапсуляции четырех наборов конструкций коннексина 26 для проверки (i) стратегию конкатемеризации-транспликации, (ii) стратегии гибридной интронно-гомологичной рекомбинации-транспликации, (iii) стратегии экзонной гомологичной рекомбинации, как резюмировано Pryadkina et al., *Meth. Clin. Devel.* 2:15009, 2015, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте, и (iv) стратегии одной конструкции. Согласно некоторым аспектам рекомбинантную частицу AAV (гAAV) получают путем трансфекции способом без аденовируса, как применяли в Xiao et al., *J Virol.* 73(5):3994-4003, 1999, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Пример 2. Создание и очистка вирусных частиц

[0435] В этом примере представлено описание очистки вирусной конструкции. Рекомбинантный AAV (гAAV) получали с использованием протокола тройной трансфекции и очищали. Фракции анализировали методом дот-блоттинга для определения фракций, содержащих геномы гAAV. Число генома вируса (гв) каждого препарата определяли методом количественного титрования на основе ПЦР в реальном времени с использованием праймеров и зонда, соответствующих области ITR генома конструкции AAV (Bartoli et al., *Gene Ther.* 13:20-28, 2006, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0436] Согласно некоторым аспектам этого примера рекомбинантный AAV (гAAV) получали с использованием стандартного протокола тройной трансфекции и очищали с помощью двух последовательных градиентов плотности хлорида цезия (CsCl), как описано в Pryadkina et al., *Mol. Ther.* 2:15009, 2015, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В конце второго центрифугирования 11 фракций по 500 мкл извлекали из пробирки с градиентом плотности CsCl и очищали посредством диализа в 1×PBS. Фракции анализировали методом дот-блоттинга для определения фракций, содержащих геномы гAAV. Число генома вируса (гв) каждого

препарата определяли методом количественного титрования на основе ПЦР в реальном времени с использованием праймеров и зонда, соответствующих области ITR генома конструкции AAV (Bartoli et al., Gene Ther. 13:20-28, 2006, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0437] Специалистам в данной области техники понятно, что подобные процессы производства и очистки могут быть проведены в соответствии с этим примером. Например, частицы гAAV можно очистить с использованием различных методов колоночной хроматографии, известных в данной области, и/или геномы вируса можно количественно оценить с использованием альтернативных наборов праймеров.

Пример 3. Состав вирусных частиц

[0438] Этот пример относится к получению композиций, содержащих частицы гAAV и физиологически приемлемый раствор. Частицу гAAV получали и очищали до титра $1,2 \times 10^{13}$ об/мл, а затем готовили в разведениях 6×10^4 , $1,3 \times 10^5$, $1,8 \times 10^5$, $4,5 \times 10^9$ и $1,3 \times 10^{10}$ гв/мл в физиологически приемлемом растворе (например, коммерчески доступный 1xPBS с плюроновой кислотой F68, приготовленный до конечной концентрации: 8,10 мМ двухосновного фосфата натрия, 1,5 мМ монофосфата калия, 2,7 мМ хлорида калия, 172 мМ хлорида натрия и 0,001% плюроновой кислоты F68).

[0439] Согласно альтернативным аспектам гAAV получали и очищали до известной концентрации (например, титра приблизительно 1×10^{13} мкг/мл), а затем готовили в желаемых концентрациях (например, разведениях 6×10^4 , $1,3 \times 10^5$, $1,8 \times 10^5$, $4,5 \times 10^9$ и $1,3 \times 10^{10}$ гв/мл) в физиологически приемлемом буфере (например, коммерчески доступном 1xPBS с плюроновой кислотой F68, приготовленном до конечной концентрации: 8,10 мМ двухосновного фосфата натрия, 1,5 мМ монокалийфосфата, 2,7 мМ калия Хлорид, 172 мМ хлорид натрия и 0,001% плюроновая кислота F68, или, например, искусственной перилимфе, содержащей NaCl 120 мМ, KCl 3,5 мМ, CaCl₂ 1,5 мМ, глюкозу 5,5 мМ, HEPES 20 мМ, при титровании NaOH до pH до 7,5 (общая концентрация Na⁺ 130 мМ), как описано в Chen et al., J Controlled Rel. 110:1-19, 2005, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Специалистам в данной области техники понятно, что альтернативные составы могут быть получены в соответствии с этим примером. Например, частицы гAAV можно очистить до альтернативного титра, приготовить в альтернативных разведениях и суспендировать в альтернативных подходящих растворах.

Пример 4. Описание устройства

[0440] Этот пример относится к устройству, пригодному для доставки частиц гAAV во внутреннее ухо. Композицию, содержащую частицы гAAV, доставляют в орган улитку субъекта с помощью специализированного микрокатетера, предназначенного для последовательного и безопасного проникновения через мембрану круглого окна (RWM). Микрокатетер имеет такую форму, что хирург, выполняющий процедуру доставки, может войти в полость среднего уха через наружный слуховой проход и контактировать концом микрокатетера с RWM. Дистальный конец микрокатетера может включать по меньшей мере одну микроиглу диаметром от приблизительно 10 микрон до приблизительно 1000 микрон, которая создает перфорации в RWM, достаточные для того, чтобы позволить описанной конструкции (например, конструкции гAAV) проникнуть в перилимф улитки барабанной лестницы со скоростью, которая не повреждает внутреннее ухо (например, физиологически приемлемая скорость, например, скорость от приблизительно 30 мкл/мин до приблизительно 90 мкл/мин), но достаточно маленькие, чтобы зажить без хирургического вмешательства. Оставшаяся часть микрокатетера, проксимальная к микроигле (микроиглам), загружена составом гAAV/искусственная перилимфа при определенном титре (например, приблизительно от 1×10^{12} до 5×10^{13} гв/мл). Проксимальный конец микрокатетера соединен с микроманипулятором, который позволяет проводить точные инфузии небольшого объема от приблизительно 30 до приблизительно 100 мкл.

Пример 5. In vitro демонстрация продукции мРНК GJB2 и белка коннексина 26 (анти-FLAG антитело)

[0441] Этот пример относится к введению, регулированию и анализу экспрессии конструкций гAAV, экспрессирующих белок опорной клетки (например, ген hGJB2) в клетках млекопитающих, выращенных in vitro или ex vivo.

[0442] Для того, чтобы регулировать экспрессию мРНК трансгена только в опорных клетках, создавали конструкцию, включающую сайт-мишень микроРНК. В типах клеток, где трансген (например, ген опорной клетки или ген GJB2) может плохо переноситься (например, волосковые клетки), микроРНК распознает miRTS и разрушает мРНК, предотвращая ее экспрессию. Схема конструкции показана на фиг. 3А. Конструкция включает промотор, 5'-UTR, трансген (GOI), miRTS, 3'-UTR и полиА, фланкированные

инвертированными концевыми повторами. Для того, чтобы предотвратить экспрессию трансгена в волосковых клетках и обеспечить экспрессию в других типах клеток улитки, таких как опорные клетки, можно использовать микроРНК, экспрессируемые в волосковых клетках, но не в опорных клетках (фиг. 3B).

[0443] Эксперимент *in vitro* с плазмидой, содержащей eGFP и miRTS (eGFP-miRTS), которую котрансфицировали в клетки HEK293FT с плазмидой, экспрессирующей микроРНК, нацеленную на miRTS (pITR.CMV.mScarlet.miRNA) в диапазоне соотношений микроРНК и целевой ДНК. Экспрессию eGFP измеряли с помощью проточной цитометрии и нормализовали по экспрессии eGFP-miRTS в отсутствие микроРНК. Увеличение соотношения pITR.CMV.mScarlet.miRNA и eGFP-miRTS приводило к снижению экспрессии eGFP (фиг. 3C). Когда клетки трансдуцировали частицей Anc80, содержащей конструкцию, экспрессирующую eGFP без miRTS (eGFP) (AAVAnc80-CAG.eGFP), наряду с трансфекцией pITR.CMV.mScarlet.miRNA, снижение экспрессии eGFP не наблюдали с помощью проточной цитометрии. Трансдукция клеток конструкцией, содержащей eGFP и miRTS (AAVAnc80-CAG.eGFP.miRTS), наряду с трансфекцией клеток pITR.CMV.mScarlet.miRNA, приводила к снижению экспрессии eGFP (фиг. 3D).

[0444] Аналогичный эффект на экспрессию представляющего интерес гена (GOI (GJB2)) наблюдали, когда клетки HEK293FT трансдуцировали вектором AAVAnc80, содержащим представляющий интерес ген и сайт miRTS в его 3'UTR (AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS) наряду с трансфекцией pITR.CAG.mScarlet.miRNA, которая экспрессирует микроРНК, нацеленную на miRTS. Снижение количества мРНК представляющего интерес гена измеряли с помощью кПЦР в реальном времени и вестерн-блоттинга, когда клетки трансфицировали 100 нг или 200 нг pITR.CAG.mScarlet.miRNA одновременно с трансдукцией с AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS по сравнению с трансдукцией только AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS (фиг. 3E и 3F).

[0445] Напротив, трансфекция pITR.CAG.mScarlet-микроРНК не снижала уровень представляющего интерес гена, когда клетки трансдуцировали конструкцией, содержащей представляющий интерес ген без 3'UTR miRTS (AAVAnc80-CAG.GOI) (фиг. 3G). Снижение уровня белка, наблюдаемое с помощью вестерн-блоттинга после трансдукции AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS и pITR.CAG.mScarlet-микроРНК, было количественно оценено на фиг. 3H.

[0446] Для того, чтобы определить, имело ли место какое-либо существенное нецелевое воздействие на экспрессию генов, вызванное трансдукцией с AAVAnc80-

CAG.GOI.miRTS, проводили объемное секвенирование РНК. Кластерный анализ не смог обнаружить какой-либо четкой кластеризации образцов на основе трансдукции с miRTS или без него (фиг. 3I). Анализ дифференциальной экспрессии использовали для идентификации генов, экспрессия которых значительно повышалась или понижалась в результате экспрессии AAVAnc80-CAG.GOI.miRTS по сравнению с AAVAnc80-CAG.GOI. Единственные гены, экспрессия которых значительно изменилась, были связаны с Т-клеточным иммунным ответом (фиг. 3J), что дополнительно указывает на отсутствие значительных нецелевых эффектов на экспрессию генов, вызванных экспрессией конструкции, содержащей miRTS.

[0447] Культуры эксплантатов улитки трансдуцировали вирусом AAVAnc80, экспрессирующим представляющий интерес ген, меченный FLAG (GOI (GJB2)) с микроРНК, нацеленными на miRTS, экспрессируемыми в волосковых клетках (AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS1-4) или без miRTS. (AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG). На фиг. 3K (слева) показан необработанный эксплантат улитки с волосковыми клетками, помеченными красным MYO7A. После трансдукции с AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG представляющий интерес ген экспрессируется в волосковых клетках (показаны белыми стрелками), а также в латеральных и средних опорных клетках (фиг. 3K, справа). Напротив, после трансдукции AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS1, AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS2 и AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS3 экспрессия представляющего интерес гена была ограничена опорными клетками, как наблюдали по метке FLAG (зеленый цвет) (фиг. 3L, 3M и 3N). Из конструкций, экспрессирующих представляющий интерес ген с помощью miRTS в 3'UTR, только AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS4 не удалось ограничить экспрессию опорными клетками. Мечение FLAG представляющего интерес гена колокализуется с MYO7A (белый наконечник стрелки) в некоторых волосковых клетках (фиг. 3O). Проводили эксперименты, чтобы продемонстрировать регуляцию экспрессии мРНК из конструкций rAAV, трансфицированных в клетки HEK293FT. Конструкции rAAV, содержащие hGJB2.FLAG (CAG.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR, SEQ ID NO: 82) и необязательные регуляторные сайты-мишени микроРНК (miRTS), расположенные в 3'UTR (CAG.5UTR.hGJB2.FLAG.miRTS.3UTR) фиг. 2F, SEQ ID NO: 87) трансфицировали в клетки HEK293FT при 300 нг с (+) или без (-) дополнительной плазмидой, содержащей кодирующие области микроРНК (например, miR-182 и miR-183), трансфицированные при 400 нг. Через 72 часа после трансфекции клетки собирали для анализа белка и РНК GJB2 с

использованием анализа вестерн-блоттинга (см. фиг. 3P) и кПЦР в реальном времени (см. фиг. 3Q). Снижение экспрессии РНК и белка GJB2 обнаружили в образцах, которые совместно экспрессировали целевую плазмиду и miR-182 и miR-183, по сравнению с образцами, экспрессирующими только целевую плазмиду. Подобные плазмиды, содержащие hGJB2.FLAG, которые не включали сайты-мишени miR-182 и miR-183, использовали в качестве контроля и демонстрировали сходные уровни белка hGJB2 с совместной экспрессией miR-182 и miR-183 и без нее (см. фиг. 3P и фиг. 3Q).

[0448] Частицы гAAV, содержащие конструкции гAAV, содержащие полинуклеотид, меченный flag GJB2, функционально связанный с селективным промотором опорных клеток (GFAP, GJB6, IGFBP2, RPB7, PARM1 или GDF6) в комбинации с минимальным промотором GJB2, трансдуцировали в клетки HEK293FT. Экспрессию промотора CAG использовали в качестве положительного контроля. Анализ белков и РНК показал, что каждая из этих конструкций была способна экспрессировать коннексин 26 (фиг. 10A-10B).

[0449] Плазмиды, содержащие полинуклеотид, меченный flag GJB2, функционально связанный с селективным промотором опорных клеток (FABP3, KLHL14, DBI2, TSPAN8, MMP15, SPARC или VIM) в комбинации с минимальным промотором GJB2, трансфицировали в клетки HEK293FT. Экспрессию коннексина 26 наблюдали во всех конструкциях с помощью вестерн-блоттинга (фиг. 10C).

[0450] Частицы гAAV, содержащие конструкции гAAV, инкапсидировали капсидами Anc80 и трансдуцировали в эксплантаты улитки новорожденного в различных дозах. Анализ РНК показал, что экспрессия мРНК GJB2 увеличивается при дозировании (фиг. 11).

[0451] Специалистам в данной области техники понятно, что существуют альтернативные методы проведения экспериментов, связанных с настоящим примером, например, альтернативные титры вируса, MOI, концентрации клеток, время сбора клеток, реагенты, используемые для сбора клеток или мРНК или анализ белка, серотипы AAV и/или стандартные модификации конструкции, содержащей ген, которые являются осуществимыми на практике и ожидаемыми изменениями настоящего примера.

Пример 6. Предварительная оценка переносимости волосковыми клетками трансгенной экспрессии мРНК GJB2 и продукции белка коннексина 26 в эксплантатах улитки новорожденного

[0452] Этот пример относится к введению и анализу экспрессии конструкций гAAV, сверхэкспрессирующих ген GJB2, в неонатальных эксплантатах улитки. Имитационные частицы гAAV или частицы гAAV, содержащие конструкции гAAV (фиг. 2, панели (A)-(H)), инкапсидированные капсидами Anc80, готовили и трансдуцировали в неонатальные эксплантаты улитки с известным MOI (например, приблизительно $4,5 \times 10^9$ или $1,3 \times 10^{10}$ гв/на улитку). Эксплантаты выращивали до уровней, подходящих для сбора (например, в течение 72 часов после трансдукции), а затем подготавливали для иммунофлуоресцентного окрашивания/визуализации путем фиксации с использованием 4% PFA или экстракции РНК. Готовили образцы РНК и подтверждали сверхэкспрессию гена GJB2 с помощью количественной ПЦР с соответствующими реагентами способом, описанным в опубликованном методе (например, соответствующим RNeasy Micro Kit и количественной ПЦР в реальном времени), с использованием специфических для конструкции праймеров и относительно контроля. Устойчивую продукцию мРНК GJB2 наблюдали в эксплантатах, трансдуцированных тестируемым гAAV, по сравнению с имитацией трансдукции. Переносимость и отсутствие токсичности волосковых клеток определяли с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания/визуализации, антитела, нацеленные на Myo7a (Proteus Biosciences), применяли для изображения волосковых клеток внутреннего уха, а окрашивание DAPI использовали для определения положения ядра. После сверхэкспрессии GJB2 токсичность волосковых клеток (Myo7) не наблюдается или является низкой.

[0453] Частицы гAAV Anc80, содержащие конструкции гAAV, управляемые комбинациями промотор/энхансер CAG, CMVe-GJB2p или smCBA, получали и трансдуцировали в эксплантаты улитки новорожденных мышей (P2) с известным MOI (приблизительно $5,8 \times 10^9$, $1,4 \times 10^{10}$ или $1,8 \times 10^{10}$ гв/на улитку, соответственно). Эксплантаты выращивали до уровней, подходящих для сбора (например, в течение 72 часов после трансдукции), а затем готовили для иммунофлуоресцентного окрашивания/визуализации путем фиксации с использованием 4% PFA. Затем эксплантаты окрашивали DAPI (показаны синим цветом) и иммуноокрашивали с использованием антител против FLAG (показаны зеленым цветом) и антител против Myo7a, специфичных для волосковых клеток (показаны красным), затем эксплантаты визуализировали (иллюстративные данные представлены на фиг. 4A-4C). Надежный сигнал FLAG наблюдали в опорных клетках эксплантатов, трансдуцированных частицами гAAV, содержащими AAVAnc80-CAG.5UTR.hGJB2.3F.3UTR (как показано на фиг. 2C, панель (C), SEQ ID NO: 82) при 5,8E9

гв/эксплантат (см. фиг. 4А, панель (А)). Надежный сигнал FLAG наблюдали в опорных клетках в эксплантах, трансдуцированных частицами гAAV, содержащими AAVAnc80-smCBA.5UTR.hGJB2.3F.3UTR (как показано на фиг. 2D, панель (D), SEQ ID NO: 83) при $1,4E10$ гв/эксплантат. (см. фиг. 4B, панель (B)). Надежный сигнал FLAG наблюдали в опорных клетках эксплантатов, трансдуцированных частицами гAAV, содержащими AAVAnc80-CMVeGFAPp.5UTR.hGJB2.3F.3UTR (как показано на фиг. 2E, панель (E), SEQ ID NO: 84) при $1,8E10$ гв/эксплантат (см. фиг. 4B, панель (C)). В разных образцах были обнаружены различия в экспрессии FLAG, вероятно, в результате изменчивости титра векторов.

Пример 7. Хирургический метод на пожилых мышах

[0454] Настоящий пример относится к введению описанных в настоящем документе конструкций во внутреннее ухо пожилых мышей. Частицы гAAV, содержащие капсид AAV и конструкцию, кодирующую белок коннексин 26 или его характерную функциональную часть, готовили в буфере для состава (например, искусственной перилимфы или $1\times$ PBS с плюроновой кислотой F68), а затем вводили в барабанную лестницу мышам, как описано в Shu et al., *Human Gene Therapy*, 27(9):687-699, 2016, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Самцов и самок мышей старше P15 анестезировали с помощью внутрибрюшинной инъекции ксилазина (например, приблизительно 5-10 мг/кг) и кетамина (например, приблизительно 90-120 мг/кг). Температуру тела поддерживали на уровне 37°C с помощью электрической грелки. Производили разрез правой заушной области и обнажали барабанную буллу и задний полукружный канал. Буллу перфорировали хирургической иглой и небольшое отверстие расширяли, чтобы обеспечить доступ к улитке. Кость улитковой боковой стенки барабанной лестницы истончали с помощью бормашины так, чтобы перепончатая боковая стенка осталась неповрежденной. Затем в заднем полукружном канале (PSCC) просверливали небольшое отверстие. Прокходимость каналостомы подтверждается визуализацией медленного истечения перилимфы. Систему микроинъекции нанолитров в сочетании со стеклянной микропипеткой использовали для доставки в общей сложности приблизительно 1 мкл буфера, содержащего конструкцию (например, конструкции гAAV, описанные в настоящем документе, приблизительно от $4,5\times 10^9$ до 5×10^{10} гв/на улитку в искусственной перилимфе или $1\times$ PBS с плюроновой кислотой F68) к барабанной лестнице со скоростью приблизительно 2 нл/с. Стеклообразную

микропипетку оставляли на месте на 5 минут после инъекции. После кохлеостомии и инъекции отверстие барабанной буллы и PSSC герметизировали небольшими кусочками жира, а мышцы и кожу зашивали. Мышам позволяли выйти из наркоза и их боль контролировали с помощью гидрохлорида бупренорфина в дозе 0,15 мг/кг в течение 3 дней.

Пример 8. Трансгенная экспрессия и визуализация белка коннексина 26 у мышей дикого типа

[0455] Этот пример относится к трансгенной экспрессии и анализу трансгенного белка коннексина 26 у мышей дикого типа и мышей с индуцируемым условным нокаутом GJB2. Мышам дикого типа вводили частицы AAVAnc80 ($1,2 \times 10^{10}$ мкг/улитка), содержащие CAG.hGJB2.FLAG.GFP (схема представлена на фиг. 2H), в орган улитку методом, описанным в примере 7. Через 10 дней после введения ясный и устойчивый экзогенный коннексин 26 (FLAG, фиолетовый) был обнаружен в мембране опорных клеток сенсорного эпителия (фиг. 9A, средняя и правая панели). Экспрессия экзогенного коннексина 26 также была обнаружена во внутренних волосковых клетках. Эндогенный коннексин 26 (красный) был обнаружен во всех опорных клетках (фиг. 9A, левая и правая панели).

[0456] Молодым мышам дикого типа вводили 1 мкл частиц AAVAnc80, содержащих AAVAnc80-CMVeGFAPp.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (SEQ ID NO: 84), AAVAnc80-GDF6p.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (конструкция, содержащая SEQ ID NO: 61 и селективный промотор опорных клеток, содержащий SEQ ID NO: 90), AAVAnc80-IGFBP2p.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (конструкция, содержащая SEQ ID NO: 54 и селективный промотор опорных клеток, содержащий SEQ ID NO: 57), AAVAnc80 - PARM1p.mGJB2p.5UTR.hGJB2.FLAG.3UTR (конструкция, содержащая SEQ ID NO: 7 и селективный промотор опорных клеток, содержащий SEQ ID NO: 40), AAVAnc80-GFAPp.mGJB2p.hGJB2, AAVAnc80-MMP15p.mGJB2p.hGJB2 или AAANC80-VIMp.mGJB2p.hGJB2. Введение конструкции hGJB2 с промотором, включающим энхансер CMV, приводило к поддержанию клеточной экспрессии, которая колокализовалась с экспрессией эндогенного коннексина 26 (фиг. 9B, звездочка). Однако экспрессия внутренних волосковых клеток все же была обнаружена (стрелка). Напротив, введение конструкции hGJB2 с промоторами, полученными из генов GDF6 опорных клеток (фиг. 9C), IGFBP2 (фиг. 9D) и PARM1 (фиг. 9E) в сочетании с минимальным промотором GJB2, приводило к поддержке клеточной экспрессии без обнаружения экспрессии во внутренних волосковых клетках.

[0457] Введение частиц AAVAnc80, содержащих AAVAnc80-GFAPp.mGJB2p.hGJB2, не приводило к поддержанию клеточной экспрессии GJB2 (фиг. 9F). Введение частиц AAVAnc80, содержащих AAVAnc80-MMP15p.mGJB2p.hGJB2 или AAVAnc80-VIMp.mGJB2p.hGJB2, приводило к поддержанию клеточной экспрессии меченого flag hGJB2. Экспрессия меченого flag hGJB2 не обнаруживается в волосковых клетках, как отмечено при окрашивании Muo7a. Аналогично, введение конструкции hGJB2 с промоторами, полученными из генов опорных клеток GDF6 (фиг. 9I), PARM1 (фиг. 9J), VIM (фиг. 9K) и MMP15p (фиг. 9L), приводило к поддержке клеточной экспрессии без обнаружения экспрессия во внутренних волосковых клетках.

[0458] Молодым мышам дикого типа вводили частицы AAVAnc80, содержащие AAVAnc80.CMVe.GFAP.mGJB2p.hGJB2.FLAG, AAVAnc80.CMVe.GDF6.mGJB2p.hGJB2.FLAG или AAVAnc80.CMVe.PARM1.mGJB2p.hGJB2.FLAG через мембрану круглого окна с фенестрацией заднего полукружного канала. Через 4 недели после введения мышей подвергали эвтаназии, собирали внутреннее ухо и фиксировали в PFA, а инъецированное (левое) ухо обрабатывали для иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием фаллоидина для маркировки всех клеток и пучка стереоцилий волосковых клеток, анти-FLAG для маркировки трансгена и маркер волосковых клеток Muo7a. Антитело против Cx26 также использовали в некоторых образцах для совместной локализации экспрессии трансгена с эндогенной экспрессией Cx26. Были визуализированы многочисленные области основания, середины и верхушки улитки, и представленные изображения представлены на фиг. 9M-9O.

[0459] Экспрессию трансгена Cx26-FLAG (зеленый) обнаружили в опорных клетках, перекрывающуюся с эндогенной экспрессией Cx26 (звездочка), а в некоторых случаях наблюдали также во внутренних волосковых клетках (стрелка) (фиг. 9M). Фиг. 9N и 9O демонстрируют устойчивую экспрессию FLAG в опорных клетках (зеленые) с не выявленной экспрессией в ИС или потерей волосковых клеток. Кроме того, между подтипами опорных клеток наблюдали паттерны дифференциальной экспрессии.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полинуклеотид, содержащий последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

2. Полинуклеотид по п. 1, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

3. Полинуклеотид по п. 1, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

4. Полинуклеотид по п. 1, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

5. Полинуклеотид по п. 1, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

6. Полинуклеотид по любому из пп. 1-5, где полинуклеотид способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента.

7. Конструкция, содержащая полинуклеотид по любому из пп. 1-6 и последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента.

8. Конструкция по п. 7, где конструкция представляет собой кассету экспрессии.

9. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6 или конструкция по любому из пп. 7-8, где полинуклеотид представляет собой промотор и функционально связан с кодирующей последовательностью.

10. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6 или конструкция по любому из пп. 7-9, где

полинуклеотид способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности в опорной клетке внутреннего уха.

11. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6 или конструкция по любому из пп. 7-10, где полипептид представляет собой полипептид коннексин 26 или его функциональный фрагмент.

12. Экспрессионная конструкция, содержащая кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с промотором, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99, где промотор способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности.

13. Экспрессионная конструкция по п. 12, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

14. Экспрессионная конструкция по п. 12, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

15. Экспрессионная конструкция по п. 12, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

16. Экспрессионная конструкция по п. 12, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

17. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-16, где экспрессионная

конструкция дополнительно содержит второй промотор, функционально связанный с кодирующей последовательностью, где второй промотор является гетерологичным или гомологичным по отношению к кодирующей последовательности.

18. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-17, где промотор способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности в опорной клетке внутреннего уха.

19. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6, конструкция по любому из пп. 7-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-18, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью, выбранной из одной или нескольких последовательностей согласно SEQ ID NO: 90, 40, 96 или 99.

20. Полинуклеотид или конструкция по любому из пп. 10-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-19, где опорная клетка внутреннего уха выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

21. Полинуклеотид по п. 6, конструкция по любому из пп. 7-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-20, дополнительно содержащие минимальный промотор GJB2, который функционально связан с кодирующей последовательностью для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента.

22. Полинуклеотид по п. 6, конструкция по любому из пп. 7-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-20, которые содержат последовательность нуклеиновой кислоты GJB2, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

23. Экспрессионная конструкция, содержащая кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным

промотором GJB2, где полинуклеотид экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха.

24. Экспрессионная конструкция по п. 23, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента.

25. Экспрессионная конструкция по п. 23 или 24, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

26. Экспрессионная конструкция по п. 25, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

27. Экспрессионная конструкция по п. 25, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

28. Экспрессионная конструкция по п. 25, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

29. Экспрессионная конструкция по п. 25, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

30. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 23-29, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью, выбранной из одной или нескольких последовательностей согласно SEQ ID NO: 90, 40, 96 или 99.

31. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 23-30, где опорная клетка внутреннего уха выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

32. Полинуклеотид, конструкция или экспрессионная конструкция по любому из пп. 21-31, где минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

33. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 23-32, которая содержит последовательность нуклеиновой кислоты GJB2, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

34. Конструкция вирусного вектора, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) кодирующую последовательность для полипептида коннексин 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с промотором, который способен управлять транскрипцией кодирующей последовательности в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности.

35. Конструкция вирусного вектора по п. 34, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

36. Конструкция вирусного вектора по п. 35, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

37. Конструкция вирусного вектора по п. 35, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

38. Конструкция вирусного вектора по п. 35, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

39. Конструкция вирусного вектора по п. 35, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

40. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-39, дополнительно содержащая 5' нетранслируемую область (UTR).

41. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-40, дополнительно содержащая 3' нетранслируемую область (UTR).

42. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-39, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с промотором, который экспрессирует полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

43. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-39, которая содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

44. Конструкция вирусного вектора, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его

функционального фрагмента, функционально связанную с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности.

45. Вирусный вектор конструкция по п. 44, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

46. Конструкция вирусного вектора по п. 45, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

47. Конструкция вирусного вектора по п. 45, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

48. Конструкция вирусного вектора по п. 45, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 96.

49. Конструкция вирусного вектора по п. 45, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

50. Конструкция вирусного вектора по п. 44-49, дополнительно содержащая 5' нетранслируемую область (UTR).

51. Конструкция вирусного вектора по п. 44-50, дополнительно содержащая 3' нетранслируемую область (UTR).

52. Конструкция вирусного вектора по п. 44-49, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента, функционально связанную с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

53. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-52, которая содержит последовательность нуклеиновой кислоты GJB2, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 117-126.

54. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-53, где промотор является гетерологичным по отношению к кодирующей последовательности для коннексина 26 или его функционального фрагмента.

55. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-54, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха выбран из одной или нескольких из последовательностей, имеющих по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

56. Конструкция вирусного вектора по п. 55, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 90.

57. Конструкция вирусного вектора по п. 56, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 40.

58. Конструкция вирусного вектора по п. 56, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно

SEQ ID NO: 96.

59. Конструкция вирусного вектора по п. 56, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 99.

60. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 44-59, где минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

61. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-60, где промотор способен экспрессировать кодирующую последовательность для полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха, выбранной из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

62. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6, конструкция по любому из пп. 7-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-33, где конструкция дополнительно содержит 5' UTR.

63. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-61, где 5' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66.

64. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6, конструкция по любому из пп. 7-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-33, где конструкция дополнительно содержит 3' UTR.

65. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-63, где 3' UTR содержит

последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69.

66. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащие полиА хвост.

67. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по п. 66, где полиА хвост представляет собой поли(А) гормона роста крупного рогатого скота, мышиногo β -глобина, мышиногo α -глобина, человеческого коллагена, вируса полиомы, гена тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV TK), гена тяжелой цепи IgG, человеческого гормона роста или позднего и раннего SV40.

68. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по п. 67, где полиА хвост представляет собой полиА гормона роста крупного рогатого скота.

69. Полинуклеотид по любому из пп. 1-6, конструкция по любому из пп. 7-11 или экспрессионная конструкция по любому из пп. 12-33, дополнительно содержащие 5' и 3' инвертированный концевой повтор (ITR).

70. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 34-62, где 5' ITR и 3' ITR фланкируют промотор и полинуклеотид.

71. Полинуклеотид, конструкция или экспрессионная конструкция по п. 70 или конструкция вирусного вектора по п. 70, где 5' ITR и 3' ITR представляют собой AAV ITR, происходящие из серотипа, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и AAV Anc80 ITR.

72. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по п. 71, где AAV ITR происходят из серотипа AAV2.

73. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 70-72, где 5' AAV ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или SEQ ID NO: 52.

74. Полинуклеотид, конструкция или экспрессионная конструкция по пп. 69 или 71-72 или конструкция вирусного вектора по любому из пп. 70-72, где 3' AAV ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 53.

75. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция

вирусного вектора по пп. 73-74, где

а. 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8, и 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9, или

б. 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, и 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

76. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по пп. 73-75, где (i) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или 52, (ii) 5' UTR содержит нуклеиновую кислоту любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66, (iii) промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 10-16, 28, 40, 57, 90-99, (iv) 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69, и (v) 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или 53.

77. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по пп. 73-76, где (i) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или 52, (ii) 5' UTR содержит нуклеиновую кислоту любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66, (iii) селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 10-16, 28, 40, 57, 90-99, минимальный промотор GJB2 содержит последовательность согласно SEQ ID NO: 86, (v) 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69 и (vi) 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или 53.

78. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 7, 17, 38, 45-51, 54, 61, 82-84, 87-88 и 100-107.

79. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция селективно экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха.

80. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция содержит нуклеотиды 12-4557 последовательности согласно SEQ ID NO: 7, нуклеотиды 12-4338 последовательности согласно SEQ ID NO: 17, нуклеотиды 12-3976 последовательности

согласно SEQ ID NO: 38, нуклеотиды 12-4754 последовательности согласно SEQ ID NO: 54, нуклеотиды 12-4429 последовательности согласно SEQ ID NO: 61, нуклеотиды 12-4645 последовательности согласно SEQ ID NO: 100, нуклеотиды 12-4708 последовательности согласно SEQ ID NO: 101, нуклеотиды 12-4993 последовательности согласно SEQ ID NO: 102, нуклеотиды 12-4496 последовательности согласно SEQ ID NO: 103, нуклеотиды 12-4253 последовательности согласно SEQ ID NO: 104, нуклеотиды 12-4320 последовательности согласно SEQ ID NO: 105, нуклеотиды 12-4464 последовательности согласно SEQ ID NO: 106 или нуклеотиды 12-4328 последовательности согласно SEQ ID NO: 107.

81. Вирусный вектор, содержащий полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов.

82. Вектор по п. 81, где вирусный вектор выбран из группы, состоящей из вектора аденоассоциированного вируса (AAV), аденовируса или лентивируса.

83. Вектор по п. 82, где вирусный вектор представляет собой вектор AAV.

84. Частица AAV, содержащая полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из пп. 1-80.

85. Вирусный вектор по п. 83 или частица AAV по п. 84, которые содержат капсид AAV, где капсид AAV представляет собой или происходит из капсида серотипа AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh39, AAV-rh43 или AAV Anc80.

86. Частица AAV по п. 85, где капсид AAV представляет собой капсид AAV Anc80.

87. Композиция, содержащая полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из пп. 1-80, вектор по любому из пп. 81-83 или частицу AAV по п. 84-86.

88. Композиция по п. 87, где композиция представляет собой фармацевтическую композицию, дополнительно содержащую фармацевтически приемлемый носитель.

89. Композиция по п. 88, где фармацевтическая композиция представляет собой синтетический раствор перилимфа.

90. Клетка *ex vivo*, содержащая полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию, конструкцию вирусного вектора, вирусный вектор или частицу AAV по любому из предшествующих пунктов.

91. Клетка *ex vivo* по п. 90, где клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего

уха.

92. Клетка *ex vivo* по п. 91, где клетка *ex vivo* представляет собой опорную клетку внутреннего уха.

93. Клетка *ex vivo* по п. 92, где опорная клетка выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

94. Способ, предусматривающий трансдукцию клетки *ex vivo*:

a. полинуклеотидом, конструкцией, экспрессионной конструкцией, конструкцией вирусного вектора, вирусным вектором или частицей AAV по любому из предшествующих пунктов, и

b. одной или несколькими хелперными плазмидами, коллективно содержащими ген AAV Rep, ген AAV Cap, ген AAV VA, ген AAV E2a и ген AAV E4.

95. Способ по п. 94, где клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего уха.

96. Способ по п. 95, где клетка *ex vivo* представляет собой опорную клетку внутреннего уха.

97. Способ по п. 96, где опорная клетка выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

98. Способ экспрессии полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов субъекту.

99. Способ повышения экспрессии полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов субъекту.

100. Способ по п. 98 или 99, где экспрессия полипептида коннексина 26 или его функционального фрагмента в опорной клетке внутреннего уха повышается относительно эндогенной экспрессии полипептида в опорной клетке внутреннего уха.

101. Способ лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов субъекту.

102. Способ по любому из пп. 98-101, где (i) полипептид коннексина 26 или его функциональный фрагмент преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха, (ii) полипептид коннексина 26 или его функциональный фрагмент селективно экспрессируется на более высоком уровне в опорных клетках внутреннего уха чем в волосковых клетках внутреннего уха, (iii) полипептид коннексина 26 или его функциональный фрагмент не экспрессируется на уровнях, достаточных для того, чтобы вызвать токсичность в волосковых клетках внутреннего уха, или (iv) или любая их комбинация.

103. Способ по пп. 98-102, где опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO) и клеток OC90+ (OC90).

104. Способ по любому из пп. 98-103, где введение проводят во внутреннее ухо субъекта.

105. Способ по п. 104, где введение проводят в орган улитку субъекта.

106. Способ по п. 104-105, где введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

107. Применение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo* по

любому из предшествующих пунктов, для лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития.

108. Применение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции, конструкции вирусного вектора, вирусного вектора, частицы AAV или клетки *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов для получения лекарственного средства для лечения потери слуха.

109. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор, частица AAV или клетка *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов для применения в качестве лекарственного средства.

110. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор, частица AAV или клетка *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов для применения для лечения потери слуха.

111. Набор, содержащий полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию, конструкцию вирусного вектора, вирусный вектор, частицу AAV или клетку *ex vivo* по любому из предшествующих пунктов.

112. Способ по любому из пп. 98-106, применение по любому из пп. 99-108 или набор по п. 111, где конструкция, вектор, частица AAV, композиция или клетка *ex vivo* предварительно загружены в устройство.

113. Способ, применение или набор по п. 112, где устройство представляет собой микрокатетер.

114. Способ, применение или набор по п. 113, где микрокатетер имеет такую форму, что он может входить в полость среднего уха через наружный слуховой проход и контактировать концом микрокатетера с RWM.

115. Способ, применение или набор по любому из пп. 111-114, где дистальный конец микрокатетера содержит по меньшей мере одну микроиглу диаметром от 10 до 1000 микрон.

116. Набор по любому из пп. 111-115, дополнительно содержащий устройство.

117. Набор по п. 116, где устройство представляет собой устройство, представленное на любом из фиг. 5-8.

118. Набор по любому из пп. 116 или 117, где устройство содержит иглу, содержащую изогнутую часть и кончик под углом.

119. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор, частица AAV по любому из предшествующих

пунктов, содержащие последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

120. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор или частица AAV по любому из предшествующих пунктов, содержащие последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

121. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор или частица AAV по любому из предшествующих пунктов, содержащие последовательность, имеющую по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 40, 90, 96 или 99.

122. Полинуклеотид, содержащий последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

123. Конструкция, содержащая полинуклеотид по п. 122 и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид.

124. Конструкция по п. 123, где полинуклеотид способен управлять транскрипцией последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид.

125. Конструкция по любому из пп. 123-124, где полинуклеотид представляет собой промотор и функционально связан с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид.

126. Конструкция по пп. 123-125, где конструкция представляет собой кассету экспрессии.

127. Конструкция по любому из пп. 123-126, где полинуклеотид способен управлять транскрипцией последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, в опорной клетке внутреннего уха.

128. Конструкция по любому из пп. 123-127, где полипептид представляет собой терапевтический полипептид, репортерный полипептид или полипептид опорной клетки внутреннего уха.

129. Экспрессионная конструкция, содержащая полинуклеотид, кодирующий

полипептид, функционально связанный с промотором, где промотор выбран из одного или нескольких из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора, VIM промотора, их производных или их фрагментов.

130. Экспрессионная конструкция по п. 129, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

131. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 129-130, где промотор способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха.

132. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 129-131, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

133. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 131-132, где опорная клетка внутреннего уха выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hsc), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

134. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 129-133, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

135. Экспрессионная конструкция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха.

136. Экспрессионная конструкция по п. 135, где микроРНК экспрессируется в волосковой клетке внутреннего уха.

137. Экспрессионная конструкция по п. 136, где микроРНК представляет собой одну или несколько из miR-194, miR-140, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183.

138. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 129-137, дополнительно содержащая минимальный промотор GJB2, который функционально связан с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид.

139. Экспрессионная конструкция, содержащая полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где полинуклеотид экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха.

140. Экспрессионная конструкция по п. 139, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

141. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-140, где полипептид представляет собой терапевтический полипептид, репортерный полипептид или полипептид опорной клетки внутреннего уха.

142. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-141, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха выбран из одного или нескольких из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора или VIM промотора.

143. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-142, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

144. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-143, где опорная клетка внутреннего уха выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера

(КО), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток ОС90+ (ОС90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

145. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-144, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

146. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-145, где минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86

147. Экспрессионная конструкция по любому из пп. 139-146, дополнительно содержащая регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха.

148. Экспрессионная конструкция по п. 147, где микроРНК экспрессируется в волосковой клетке внутреннего уха.

149. Экспрессионная конструкция по п. 148, где микроРНК представляет собой одну или несколько из miR-194, miR-140, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183.

150. Конструкция вирусного вектора, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

151. Конструкция вирусного вектора по п. 150, где промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

152. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-151, содержащая: (i) 5'

инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, и (iv) 3' ITR.

153. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-152, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, (iii) 3' нетранслируемую область (UTR) и (iv) 3' ITR.

154. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-153, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (iv) 3' нетранслируемую область (UTR) и (v) 3' ITR.

155. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-154, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

156. Конструкция вирусного вектора, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

157. Конструкция вирусного вектора по п. 156, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iii) 3' ITR, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из

последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

158. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 156-157, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, и (iv) 3' ITR.

159. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 156-158, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) 3' нетранслируемую область (UTR), и (iv) 3' ITR.

160. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 156-159, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (iv) 3' нетранслируемую область (UTR), и (v) 3' ITR.

161. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 156-160, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, (iv) 3' UTR и (v) 3' ITR.

162. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 156-161, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

163. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 156-162, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, который способен управлять транскрипцией полинуклеотида в опорной клетке внутреннего уха, (iii)

регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

164. Конструкция вирусного вектора, содержащая полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха.

165. Конструкция вирусного вектора по п. 164, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, и (iv) 3' ITR.

166. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 164-165, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, и (v) 3' ITR.

167. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 164-166, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (iv) 3' нетранслируемую область (UTR) и (v) 3' ITR.

168. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 164-167, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с промотором, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

169. Конструкция вирусного вектора, содержащая полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, где конструкция содержит регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха.

170. Конструкция вирусного вектора по п. 169, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным

промотором GJB2, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, и (iv) 3' ITR.

171. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 169-170, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, и (v) 3' ITR.

172. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 169-171, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iii) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (iv) 3' нетранслируемую область (UTR) и (v) 3' ITR.

173. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 169-172, содержащая: (i) 5' инвертированный концевой повтор (ITR), (ii) 5' нетранслируемую область (UTR), (iii) полинуклеотид, кодирующий полипептид, функционально связанный с селективным промотором опорной клетки внутреннего уха и минимальным промотором GJB2, (iv) регуляторный сайт-мишень микроРНК (miRTS) для микроРНК, экспрессируемой в клетке внутреннего уха, (v) 3' UTR и (vi) 3' ITR.

174. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 151-173, где полипептид представляет собой терапевтический полипептид, репортерный полипептид, полипептид опорной клетки внутреннего уха.

175. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 60 и 160-174, где микроРНК экспрессируется в одной или нескольких из волосковых клеток внутреннего уха, клеток спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клеток базилярной мембраны, средних опорных клетка, клеток спирального лимба или внутренних клетках бороздки.

176. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется в волосковых клетках внутреннего уха.

177. Конструкция вирусного вектора по п. 176, где микроРНК представляет собой одну или несколько из miR-194, miR-140, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183.

178. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется в

клетках спирального ганглия.

179. Конструкция вирусного вектора по п. 178, где микроРНК выбрана из одной или нескольких из miR-194, miR-18a, miR-99a, miR-30b, miR-15a, miR182 или miR-183.

180. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется в латеральных опорных клетках.

181. Конструкция вирусного вектора по п. 180, где микроРНК выбрана из одной или нескольких из miR-99a, miR-30b или miR-15a.

182. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется в клетках базилярной мембраны.

183. Конструкция вирусного вектора по п. 182, где микроРНК выбрана из одной или нескольких из miR-99a, miR-30b или miR-15a.

184. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется в средних опорных клетках.

185. Конструкция вирусного вектора по п. 184, где микроРНК выбрана из одной или нескольких из miR182 и miR-183.

186. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется в клетках спирального лимба.

187. Конструкция вирусного вектора по п. 186, где микроРНК выбрана из одной или нескольких из miR182 и miR-183.

188. Конструкция вирусного вектора по п. 175, где микроРНК экспрессируется во внутренних клетках бороздки.

189. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 186, где микроРНК выбрана из одной или нескольких из miR182 и miR-183.

190. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 160 и 162-189, где регуляторный сайт-мишень микроРНК содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 1-6, 78 или 79.

191. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-190, где промотор является гетерологичным по отношению к полинуклеотиду.

192. Конструкция вирусного вектора по п. 191, где промотор представляет собой индуцибельный промотор, конститутивный промотор, тканеспецифичный промотор или клеточно-селективный промотор.

193. Конструкция вирусного вектора по п. 192, где конститутивный промотор представляет собой CAG промотор, CBA промотор, CMV промотор или CB7 промотор.

194. Конструкция вирусного вектора по пп. 192-193, где конститутивный промотор содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 10-15.

195. Конструкция вирусного вектора по п. 192, где промотор представляет собой клеточно-селективный промотор.

196. Конструкция вирусного вектора по п. 195, где клеточно-селективный промотор представляет собой селективный промотор опорной клетки внутреннего уха.

197. Конструкция вирусного вектора по п. 196, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха выбран из одного или нескольких из GJB6 промотора, GDF6 промотора, IGFBP2 промотора, RBP7 промотора, PARM1 промотора, GFAP промотора, BACE2 промотора, DBI2 промотора, FABP3 промотора, KLHL14 промотора, MMP15 промотора, SPARC промотора, TSPAN8 промотора, VIM промотора, их производных или их фрагментов.

198. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 196-197, где селективный промотор опорной клетки внутреннего уха имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 16, 28, 40, 57 или 90-99.

199. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 169-198, где минимальный промотор GJB2 содержит последовательность нуклеиновой кислоты с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью согласно SEQ ID NO: 86.

200. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-199, где промотор способен экспрессировать полинуклеотид в опорной клетке внутреннего уха, выбранной из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних

клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (КО), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

201. Конструкция вирусного вектора по п. 174, где полипептид представляет собой терапевтический полипептид.

202. Конструкция вирусного вектора по п. 201, где терапевтический полипептид представляет собой трансмембранный белок.

203. Конструкция вирусного вектора по пп. 201-202, где полинуклеотид, кодирующий терапевтический полипептид, содержит ген, выбранный из ATP2B2, CHRNA9, CDH23, CCER2, CLRN1, CLRN2, COCH, DFNA9, DYTN, EPS8, EPS8L2, ESPN, ESPNL, GJB2, GJB6, GJB3, GSDME, DFNA5, INSM1, IKZF2, LHX3, MYO7A, MYO3A, NDP, PCDH15, PTPRQ, STRC, SLC26A5, USH1C, USH2A, SYNE4 или любой их комбинации.

204. Конструкция вирусного вектора по п. 174, где полинуклеотид кодирует полипептид опорной клетки внутреннего уха.

205. Конструкция вирусного вектора по п. 204, где полинуклеотид, кодирующий полипептид опорной клетки внутреннего уха, содержит ген, выбранный из ATP2B2, CHRNA9, CDH23, CCER2, CLRN1, CLRN2, COCH, DFNA9, DYTN, EPS8, EPS8L2, ESPN, ESPNL, GJB2, GJB6, GJB3, GSDME, DFNA5, INSM1, IKZF2, LHX3, MYO7A, MYO3A, NDP, PCDH15, PTPRQ, STRC, SLC26A5, USH1C, USH2A, SYNE4 или любой их комбинации.

206. Конструкция вирусного вектора по п. 174, где полинуклеотид кодирует репортерный полипептид.

207. Конструкция вирусного вектора по п. 206, где репортерный полипептид представляет собой одну или несколько из бета-лактамазы, бета-галактозидазы (LacZ), щелочной фосфатазы, тимидинкиназы, зеленого флуоресцентного белка (GFP), красного флуоресцентного белка, флуоресцентного белка mCherry, желтого флуоресцентного белка, метки FLAG, хлорамфениколацетилтрансферазы (CAT) и люциферазы.

208. Конструкция вирусного вектора по пп. 150-207, где конструкция дополнительно содержит 5' UTR.

209. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-208, где 5' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66.

210. Конструкция вирусного вектора по пп. 150-209, где конструкция дополнительно содержит 3' UTR.

211. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 210, где 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69.

212. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 208-211, где 3' UTR и/или 5' UTR содержит miRTS.

213. Конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая полиА хвост.

214. Конструкция вирусного вектора по п. 213, где полиА хвост представляет собой поли(А) гормона роста крупного рогатого скота, мышинового β -глобина, мышинового α -глобина, человеческого коллагена, вируса полиомы, гена тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV TK), гена тяжелой цепи IgG, человеческого гормона роста или позднего и раннего SV40.

215. Конструкция вирусного вектора по п. 214, где полиА хвост представляет собой полиА гормона роста крупного рогатого скота.

216. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-215, дополнительно содержащая 5' и 3' инвертированный концевой повтор (ITR),

217. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 216, где 5' ITR и 3' ITR фланкируют промотор и полинуклеотид.

218. Конструкция вирусного вектора по п. 217, где 5' ITR и 3' ITR представляют собой AAV ITR, происходящие из серотипа, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и AAV Anc80 ITR.

219. Конструкция вирусного вектора по п. 218, где AAV ITR происходят из серотипа AAV2.

220. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 216-219, где 5' AAV ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или SEQ ID NO: 52.

221. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 216-220, где 3' AAV ITR

содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 53.

222. Конструкция вирусного вектора по пп. 220 или 221, где

а. 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8, и 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или

б. 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 52, и 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 53.

223. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 220-222, где (i) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или 52, (ii) 5' UTR содержит нуклеиновую кислоту любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66, (iii) промотор содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 10-16, 28, 40, 57, 90-99, (iv) 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69, и (v) 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или 53.

224. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 220-223, где (i) 5' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 8 или 52, (ii) 5' UTR содержит нуклеиновую кислоту любой из последовательностей согласно SEQ ID NO: 20, 21 или 66, (iii) селективный промотор опорной клетки внутреннего уха содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 10-16, 28, 40, 57, 90-99, минимальный промотор GJB2 содержит sequence последовательности согласно SEQ ID NO: 86, (v) 3' UTR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 22, 67, 68 или 69, и (vi) 3' ITR содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 9 или 53.

225. Конструкция вирусного вектора по любому из пп. 150-224, где 3' UTR и/или 5' UTR содержит miRTS.

226. Конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно любому из SEQ ID NO: 7, 17, 38, 45-51, 54, 61, 82-84, 87-88 и 100-107.

227. Конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция селективно экспрессируется в опорной клетке внутреннего уха.

228. Конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция содержит нуклеотиды 12-4557 последовательности согласно SEQ ID NO: 7, нуклеотиды 12-4338 последовательности согласно SEQ ID NO: 17, нуклеотиды 12-3976

последовательности согласно SEQ ID NO: 38, нуклеотиды 12-4754 последовательности согласно SEQ ID NO: 54, нуклеотиды 12-4429 последовательности согласно SEQ ID NO: 61, нуклеотиды 12-4645 последовательности согласно SEQ ID NO: 100, нуклеотиды 12-4708 последовательности согласно SEQ ID NO: 101, нуклеотиды 12-4993 последовательности согласно SEQ ID NO: 102, нуклеотиды 12-4496 последовательности согласно SEQ ID NO: 103, нуклеотиды 12-4253 последовательности согласно SEQ ID NO: 104, нуклеотиды 12-4320 последовательности согласно SEQ ID NO: 105, нуклеотиды 12-4464 последовательности согласно SEQ ID NO: 106 или нуклеотиды 12-4328 последовательности согласно SEQ ID NO: 107.

229. Конструкция вирусного вектора по любому из предшествующих пунктов, где конструкция представляет собой кассету экспрессии.

230. Вектор, содержащий полинуклеотид или конструкцию по любому из предшествующих пунктов.

231. Вектор по п. 230, где вектор представляет собой вектор млекопитающего или вирусный вектор.

232. Вектор по п. 230 или 231, где вектор представляет собой вирусный вектор.

233. Вектор по п. 232, где вирусный вектор выбран из группы, состоящей из вектора аденоассоциированного вируса (AAV), аденовируса или лентивируса.

234. Вектор по п. 233, где вирусный вектор представляет собой вектор AAV.

235. Частица AAV содержащая полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из пп. 122-235.

236. Частица AAV по п. 235, дополнительно содержащая капсид AAV, где капсид AAV представляет собой или происходит из AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh39, AAV-rh43 или AAV Anc80 капсида.

237. Частица AAV по п. 236, где капсид AAV представляет собой AAV Anc80 капсид.

238. Композиция, содержащая полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектор по любому из пп. 230-234 или частицу AAV по п. 235-237.

239. Композиция по п. 238, где композиция представляет собой фармацевтическую композицию, дополнительно содержащую фармацевтически приемлемый носитель.

240. Композиция по пп. 238 или 239, где фармацевтическая композиция представляет собой синтетический раствор перилимфа.

241. Клетка *ex vivo*, содержащая полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектор по любому из пп. 230-234 или частицу AAV по п. 235-237.

242. Клетка *ex vivo* по п. 241, где клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего уха.

243. Клетка *ex vivo* по п. 242, где клетка *ex vivo* представляет собой опорную клетку внутреннего уха.

244. Клетка *ex vivo* по п. 243, где опорная клетка выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

245. Способ, предусматривающий трансдукцию клетки *ex vivo*:

а. полинуклеотидом, конструкцией, экспрессионной конструкцией или конструкцией вирусного вектора по любому из пп. 122-229 или вектором по любому из пп. 230-234, и

б. одной или несколькими хелперными плазмидами, коллективно содержащими ген AAV Rep, ген AAV Cap, ген AAV VA, ген AAV E2a и ген AAV E4.

246. Способ по п. 245, где клетка *ex vivo* представляет собой клетку внутреннего уха.

247. Способ по п. 246, где клетка *ex vivo* представляет собой опорную клетку внутреннего уха.

248. Способ по п. 247, где опорная клетка выбрана из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO), клеток большого эпителиального гребня (GER) (включая латеральные клетки большого эпителиального гребня (LGER)) и клеток OC90+ (OC90), фибробластов и других клеток боковой стенки.

249. Способ экспрессии терапевтического полипептида в опорной клетке

внутреннего уха субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

250. Способ экспрессии полипептида в опорной клетке внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 в опорную клетку внутреннего уха.

251. Способ повышения экспрессии терапевтического полипептида в опорной клетке внутреннего уха субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

252. Способ повышения экспрессии полипептида в опорной клетке внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 в опорную клетку внутреннего уха.

253. Способ по п. 249 или 251, где экспрессия терапевтического полипептида снижается, подавляется или исключается в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха, по сравнению с эндогенной экспрессией полипептида в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха.

254. Способ по п. 250 или 252, где экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха, по сравнению с эндогенной экспрессией полипептида в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха.

255. Способ по п. 252-252, где экспрессия полипептида в опорной клетке внутреннего уха повышается относительно эндогенной экспрессии полипептида в опорной клетке внутреннего уха.

256. Способ снижения экспрессии терапевтического полипептида в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного

вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

257. Способ снижения экспрессии полипептида в клетках, не представляющих собой опорные клетки внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

258. Способ по п. 256 или 257, где экспрессия полипептида в клетке, не представляющей собой опорную клетку внутреннего уха, снижается относительно эндогенной экспрессии полипептида в клетке, не представляющей собой опорную клетку внутреннего уха.

259. Способ по любому из пп. 249-258, где опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hec), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO) и клеток OC90+ (OC90).

260. Способ снижения токсичности, связанной с экспрессией терапевтического полипептида в клетке внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

261. Способ снижения токсичности, связанной с экспрессией полипептида в клетке внутреннего уха, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

262. Способ по пп. 260-261, где клетки внутреннего уха выбраны из волосковых клеток внутреннего уха, клеток спирального ганглия, латеральных опорных клеток, клеток базилярной мембраны, средних опорных клеток, клеток спирального лимба, внутренних клеток бороздки или любой их комбинации.

263. Способ лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития, предусматривающий введение полинуклеотида, конструкции,

экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 субъекту.

264. Способ по п. 260, где экспрессия терапевтического полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба, внутренних клетках бороздки или любой их комбинации.

265. Способ по п. 261, где экспрессия полипептида снижается, подавляется или исключается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба, внутренних клетках бороздки или любой их комбинации.

266. Способ по п. 260, где токсичность в результате экспрессии терапевтического полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба, внутренних клетках бороздки или любой их комбинации.

267. Способ по п. 261, где токсичность в результате экспрессии полипептида снижается в волосковых клетках внутреннего уха, клетках спирального ганглия, латеральных опорных клетках, клетках базилярной мембраны, средних опорных клетках, клетках спирального лимба, внутренних клетках бороздки или любой их комбинации.

268. Способ по любому из пп. 249, 251, 256 или 260, где (i) терапевтический полипептид преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха, (ii) терапевтический полипептид селективно экспрессируется на более высоком уровне в опорных клетках внутреннего уха чем в волосковых клетках внутреннего уха, (iii) терапевтический полипептид не экспрессируется на уровнях, достаточных для того, чтобы вызвать токсичность в волосковых клетках внутреннего уха или (iv) или любая их комбинация.

269. Способ по любому из пп. 250, 252, 257 или 261, где (i) полипептид преимущественно экспрессируется в опорных клетках внутреннего уха, (ii) полипептид селективно экспрессируется на более высоком уровне в опорных клетках внутреннего уха чем в волосковых клетках внутреннего уха, (iii) полипептид не экспрессируется на уровнях, достаточных для того, чтобы вызвать токсичность в волосковых клетках внутреннего уха

или (iv) или любая их комбинация.

270. Способ по пп. 250-269, где опорные клетки внутреннего уха выбраны из одной или нескольких из внутренних фаланговых клеток/пограничных клеток (IPhC), внутренних столбовых клеток (IPC), внешних столбовых клеток (OPC), клеток Дейтерса ряда 1 и 2 (DC1/2), клеток Дейтерса ряда 3 (DC3), клеток Гензена (Hes), клеток Клаудиуса/внешних клеток бороздки (CC/OSC), интердентальных клеток (Idc), внутренних клеток бороздки (ISC), клеток органа Келликера (KO) и клеток OC90+ (OC90).

271. Способ по любому из пп. 250-270, где введение проводят во внутреннее ухо субъекта.

272. Способ по п. 271, где введение проводят в орган улитки субъекта.

273. Способ по п. 271-272, где введение проводят посредством инъекции в мембрану круглого окна улитки.

274. Применение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 для лечения потери слуха у субъекта, страдающего потерей слуха или имеющего риск ее развития.

275. Применение полинуклеотида, конструкции, экспрессионной конструкции или конструкции вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектора по любому из пп. 230-234, или частицы AAV по п. 235-237, или клетки *ex vivo* по любому из пп. 241-244 для получения лекарственного средства для лечения потери слуха.

276. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектор по любому из пп. 230-234, или частица AAV по п. 235-237, или клетка *ex vivo* по любому из пп. 241-244 для применения в качестве лекарственного средства.

277. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция или конструкция вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектор по любому из пп. 230-234, или частица AAV по п. 235-237, или клетка *ex vivo* по любому из пп. 241-244 для применения для лечения потери слуха.

278. Набор, содержащий полинуклеотид, конструкцию, экспрессионную конструкцию или конструкцию вирусного вектора по любому из пп. 122-229, вектор по любому из пп. 230-234, или частицу AAV по п. 235-237, или клетку *ex vivo* по любому из пп. 241-244.

279. Набор по п. 278, где полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, вектор, частица AAV, композиция или клетка *ex vivo* предварительно загружены в устройство.

280. Набор по п. 279, где устройство представляет собой микрокатетер.

281. Набор по п. 280, где микрокатетер имеет такую форму, что он может входить в полость среднего уха через наружный слуховой проход и контактировать концом микрокатетера с RWM.

282. Набор по любому из пп. 278-280, где дистальный конец микрокатетера содержит по меньшей мере одну микроиглу диаметром от 10 до 1000 микрон.

283. Набор по п. 278, дополнительно содержащий устройство.

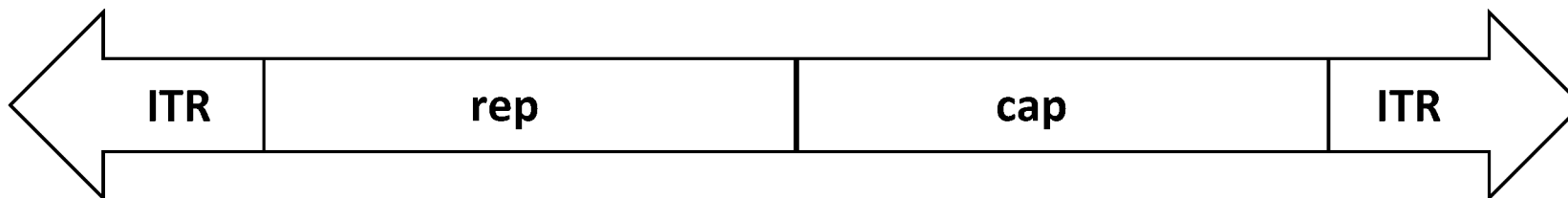
284. Набор по п. 283, где устройство представляет собой устройство, представленное на любом из фиг. 5-8.

285. Набор по любому из пп. 283-284, где устройство содержит иглу, содержащую изогнутую часть и кончик под углом.

286. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор, частица AAV, клетка *ex vivo*, способ, применение или набор по любому из предшествующих пунктов, где полинуклеотид или промотор представляет собой клеточно-селективный промотор.

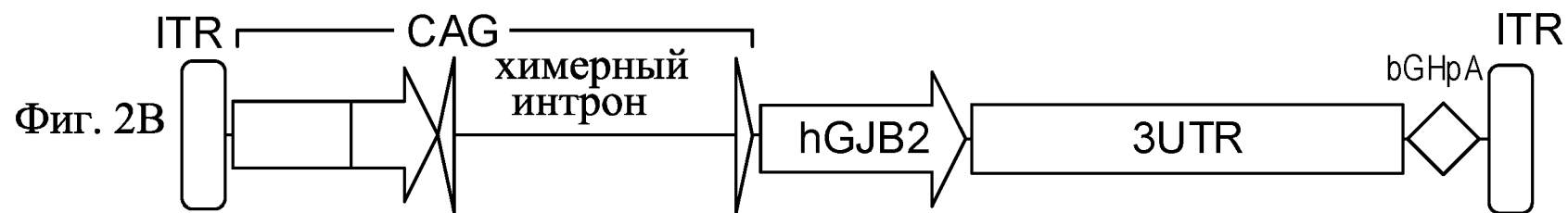
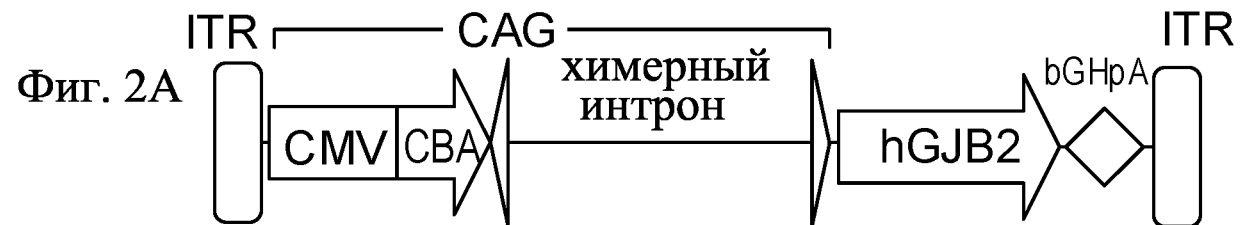
287. Полинуклеотид, конструкция, экспрессионная конструкция, конструкция вирусного вектора, вирусный вектор, частица AAV, клетка *ex vivo*, способ, применение или набор по п. 286, где клеточно-селективный промотор представляет собой промотор, который является преимущественно активным в одной или нескольких опорных клетках внутреннего уха.

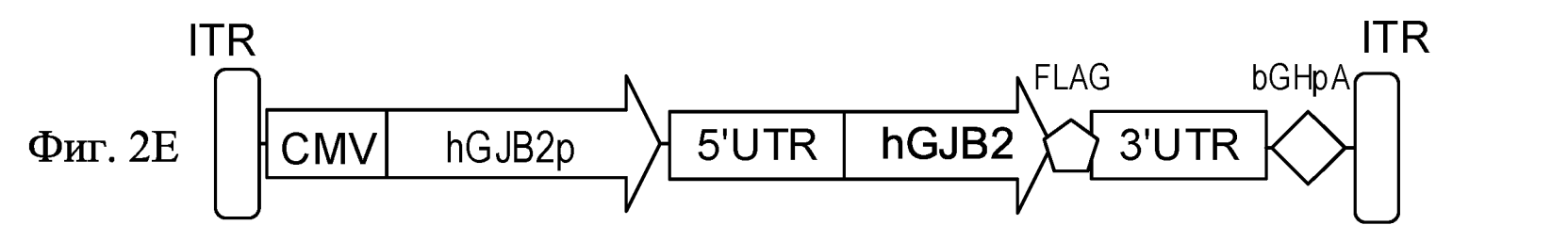
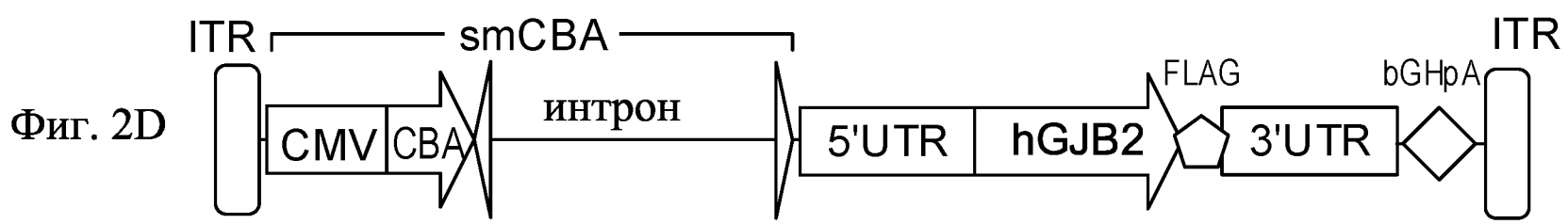
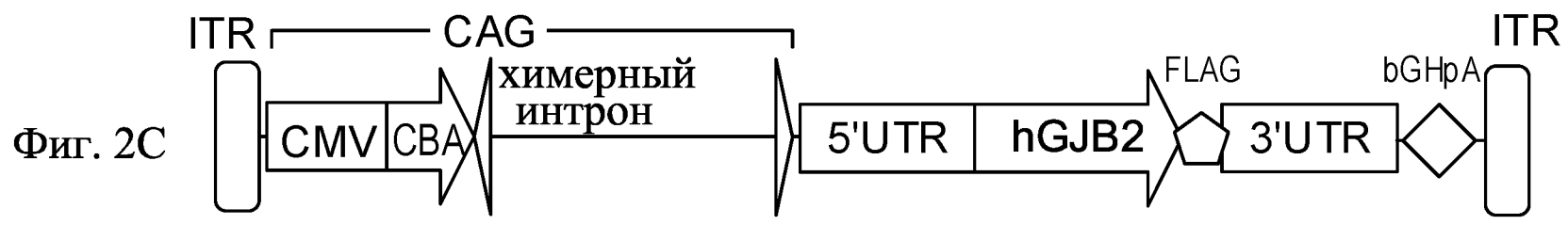
Фиг. 1А

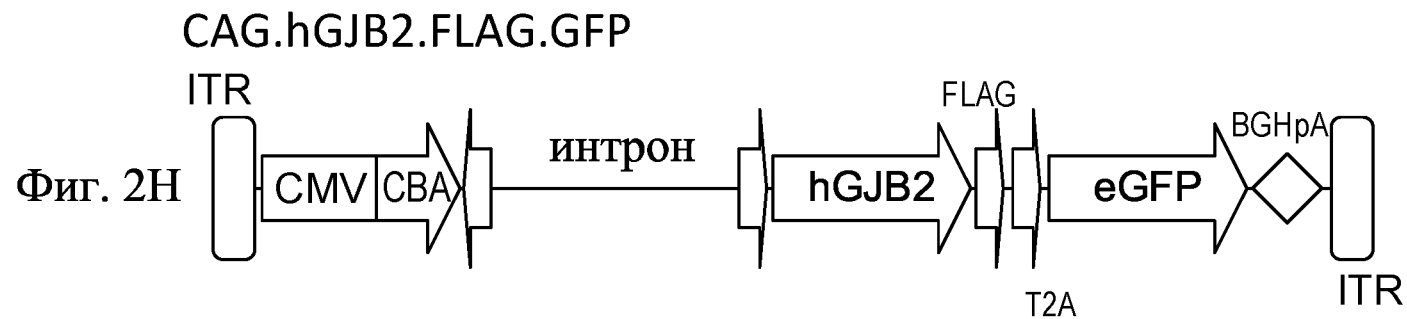
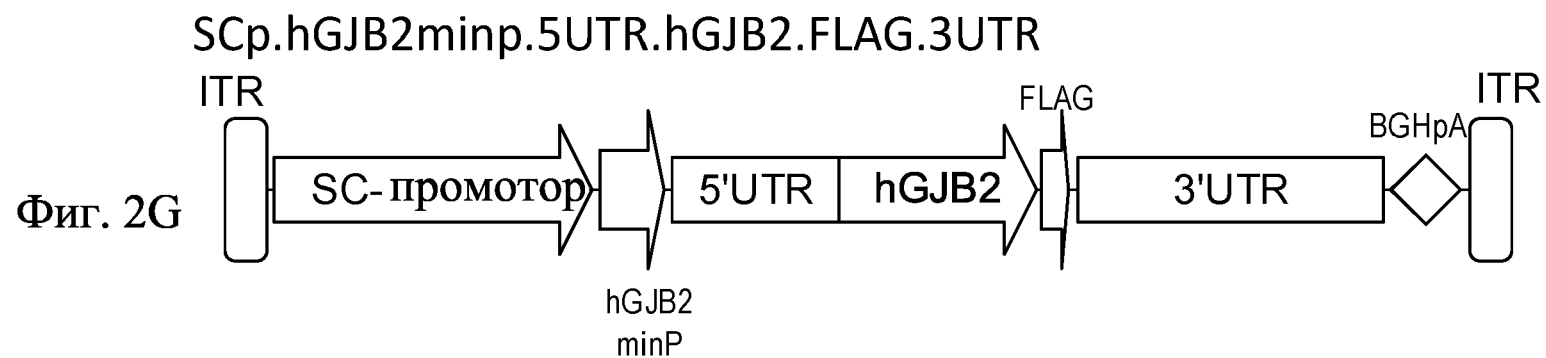
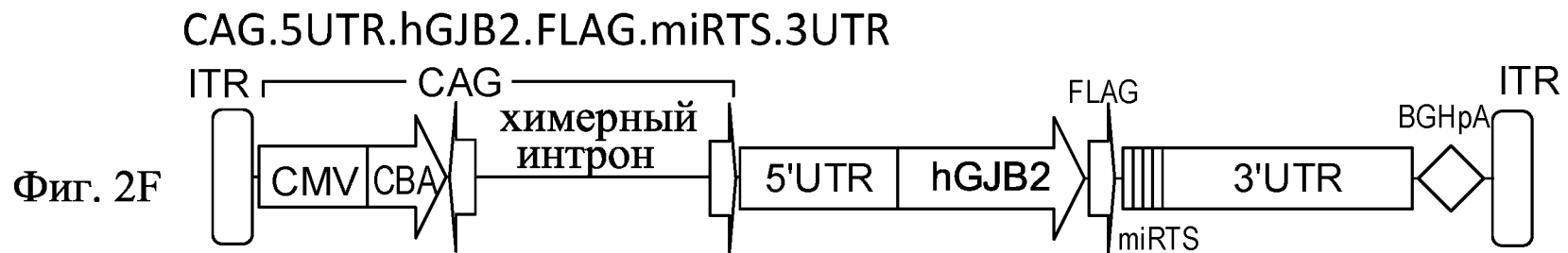


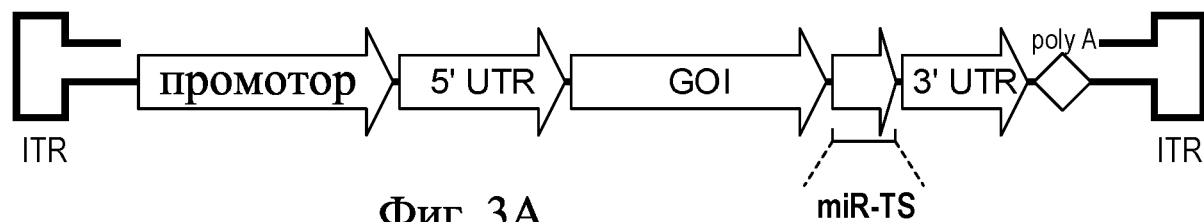
Фиг. 1В







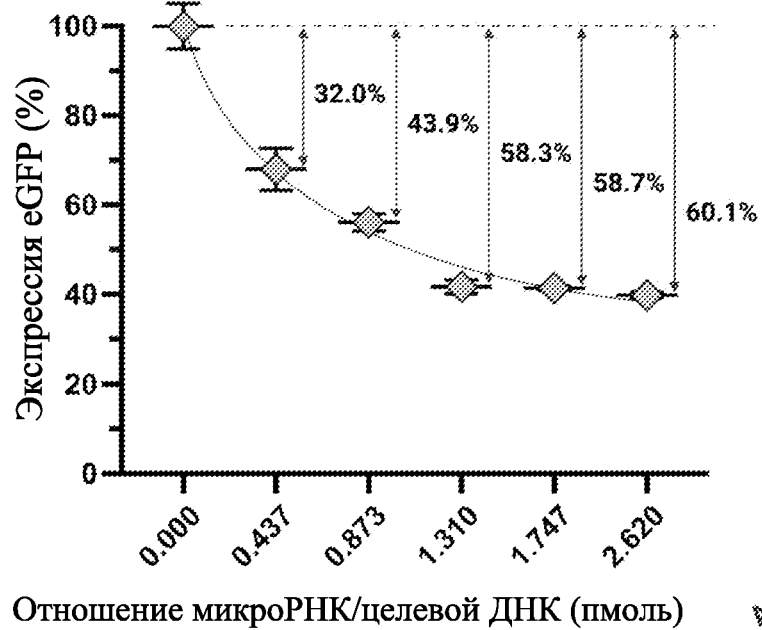




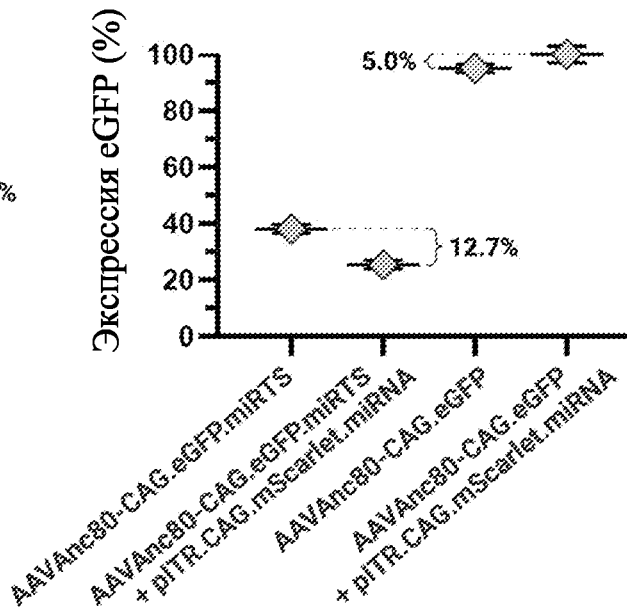
Фиг. 3А



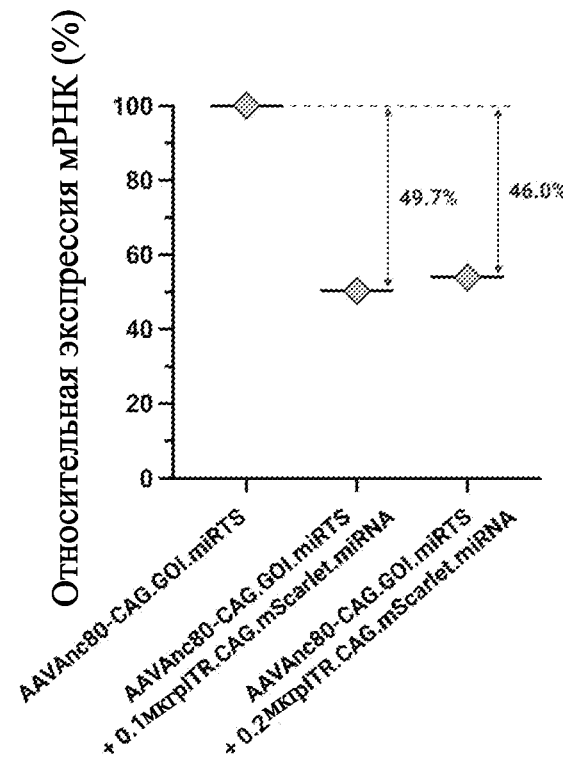
Фиг. 3В



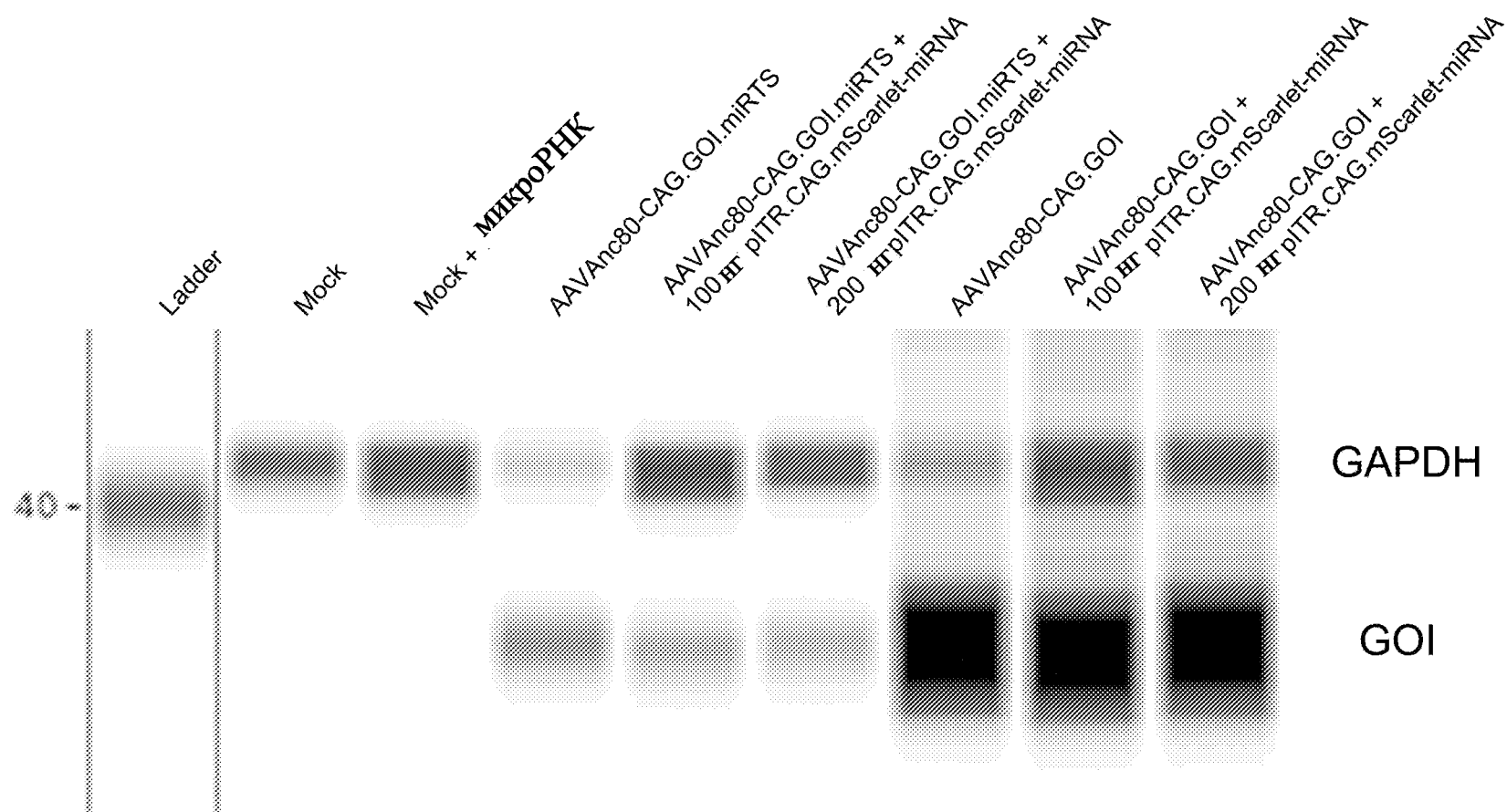
Фиг. 3С



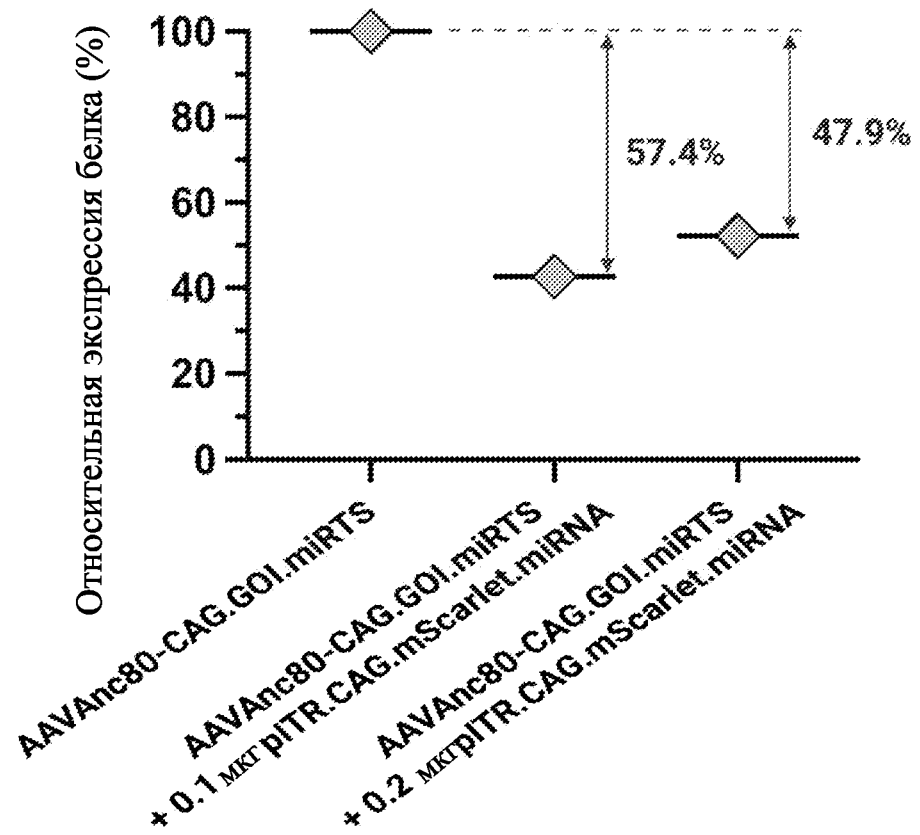
Фиг. 3D



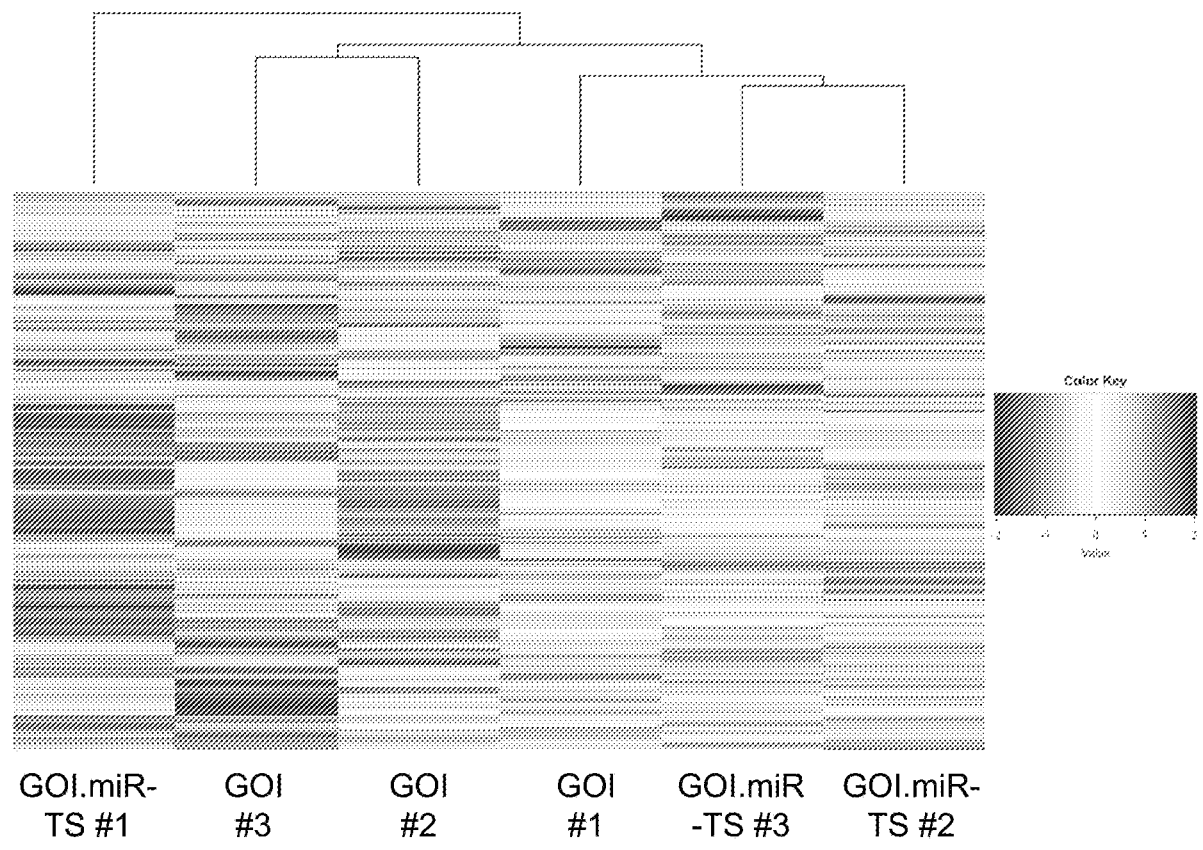
Фиг. 3Е



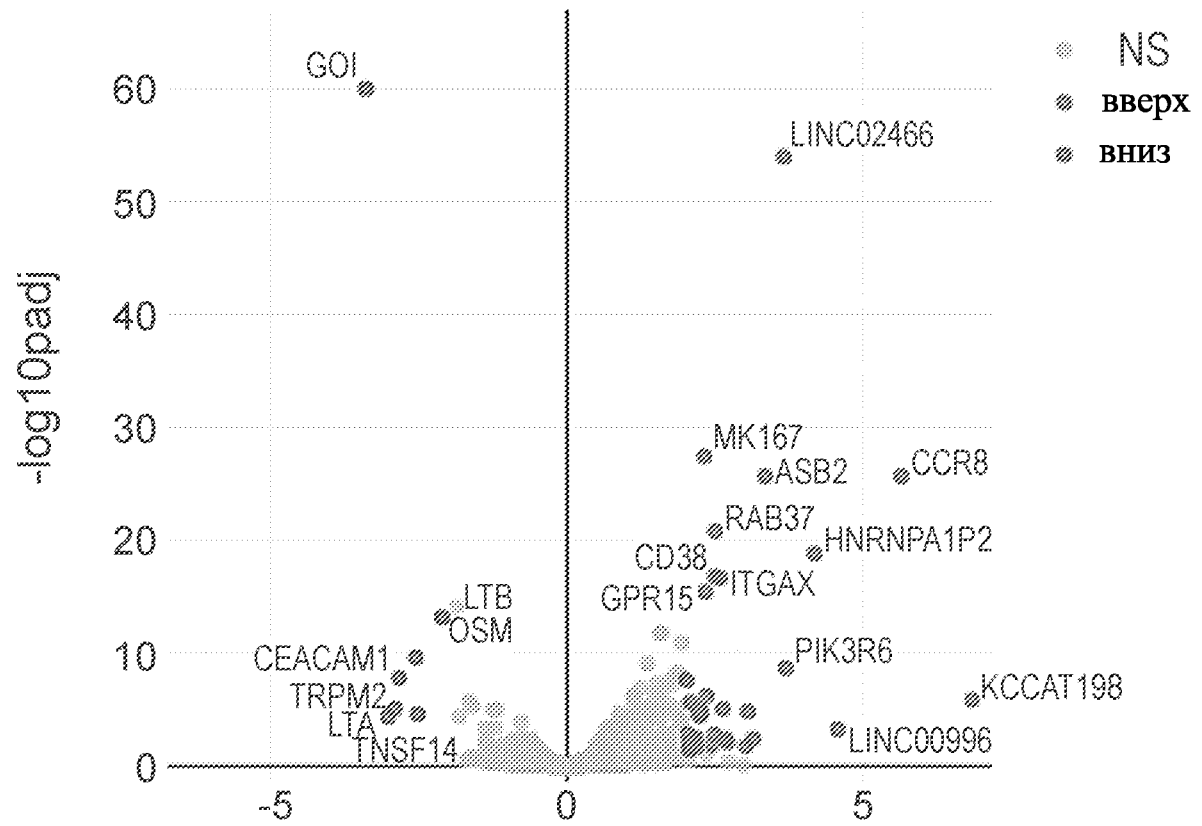
Фиг. 3F



Фиг. 3G

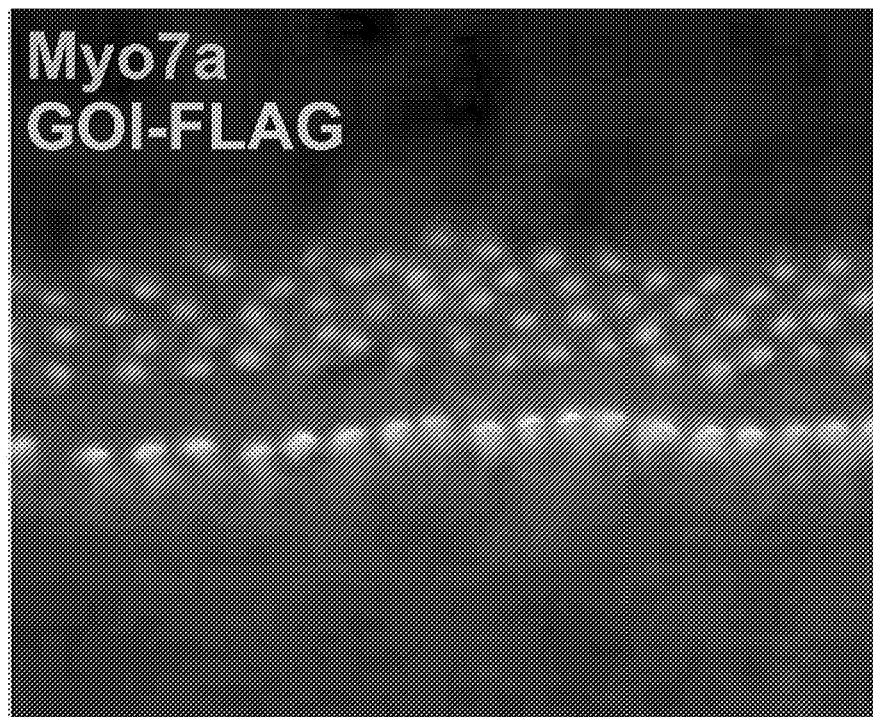


Фиг. 3Н



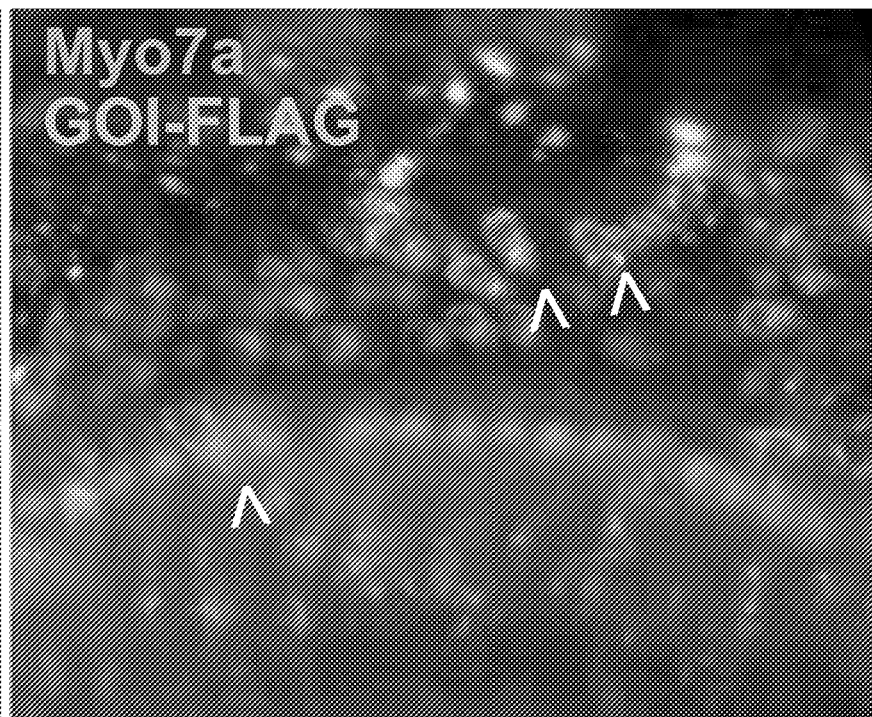
log2FC
Фиг. 3I

Необработанный



Фиг. 3J

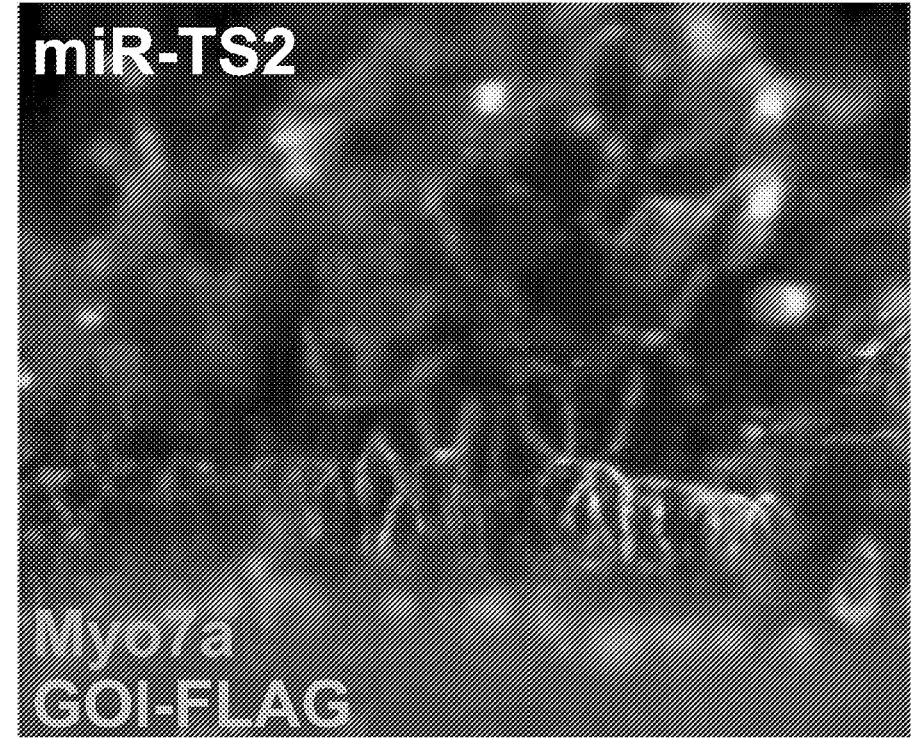
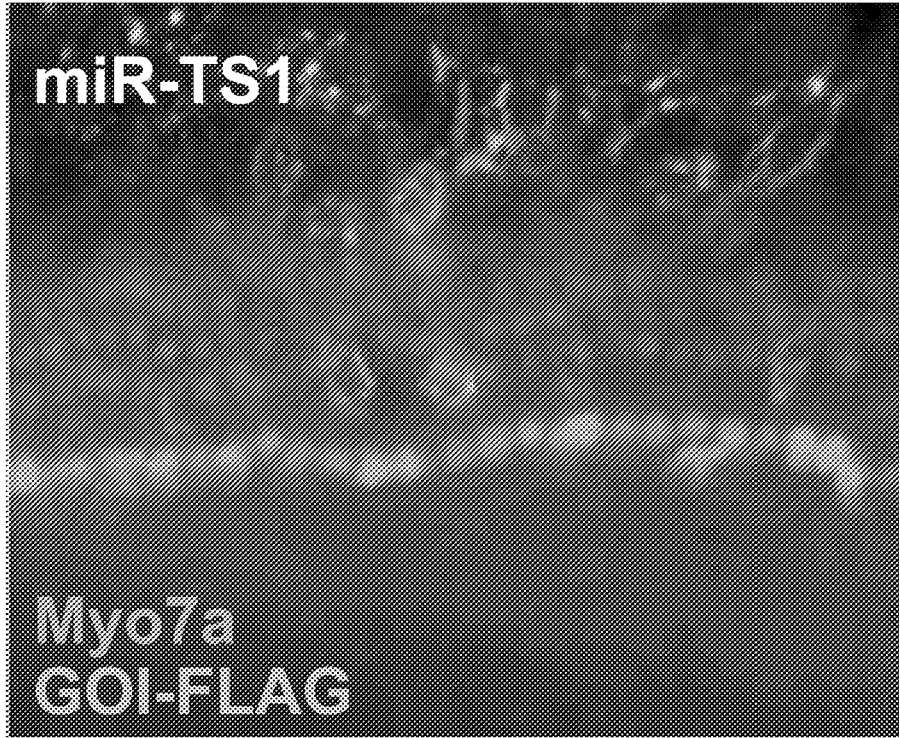
AAVanc80-CAG.GOI.FLAG



Фиг. 3K

AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS

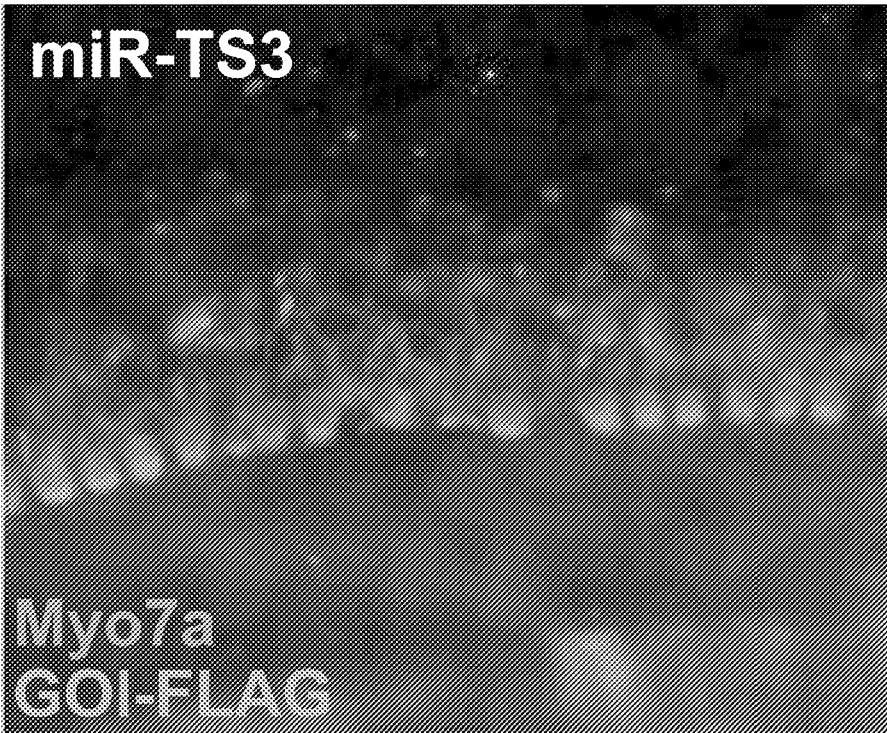
AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS



Фиг. 3L

Фиг. 3M

AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS

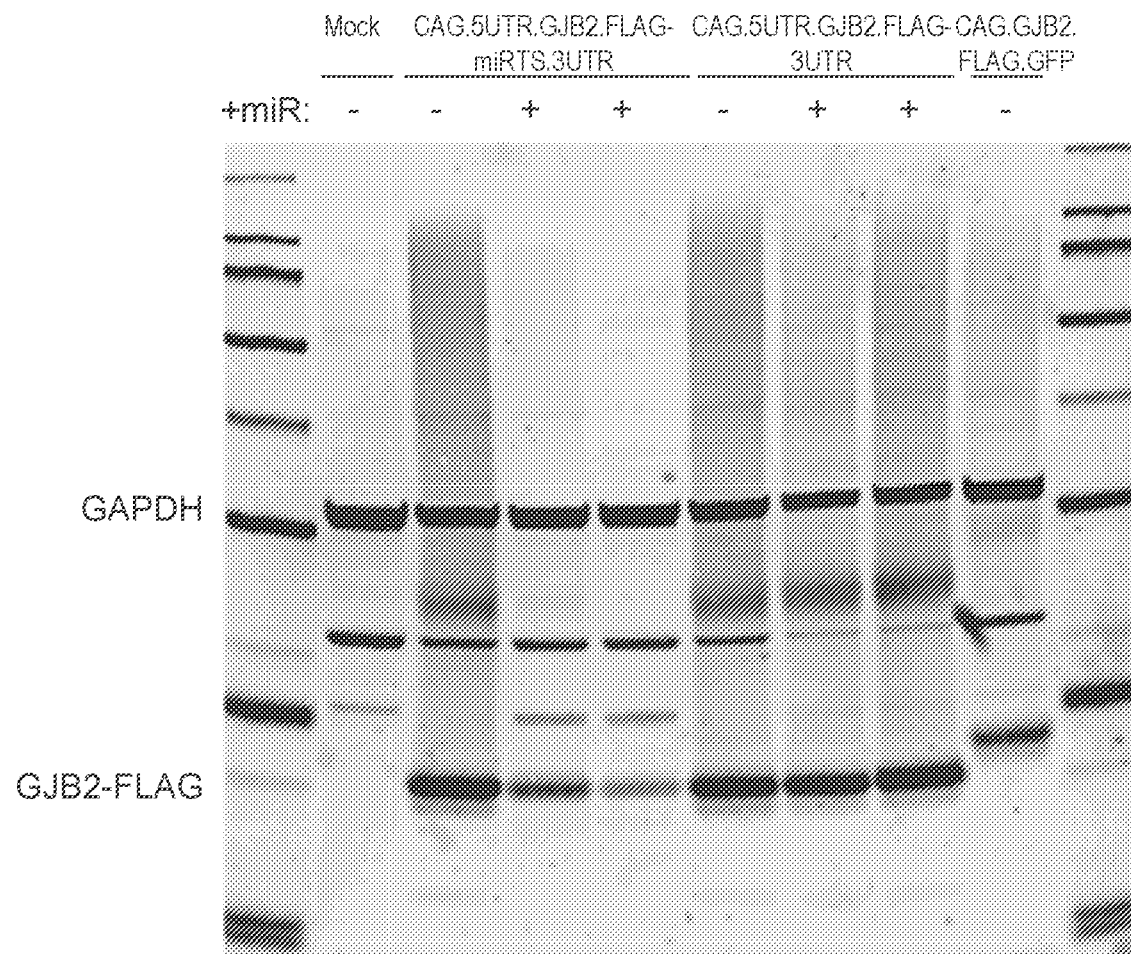


Фиг. 3N

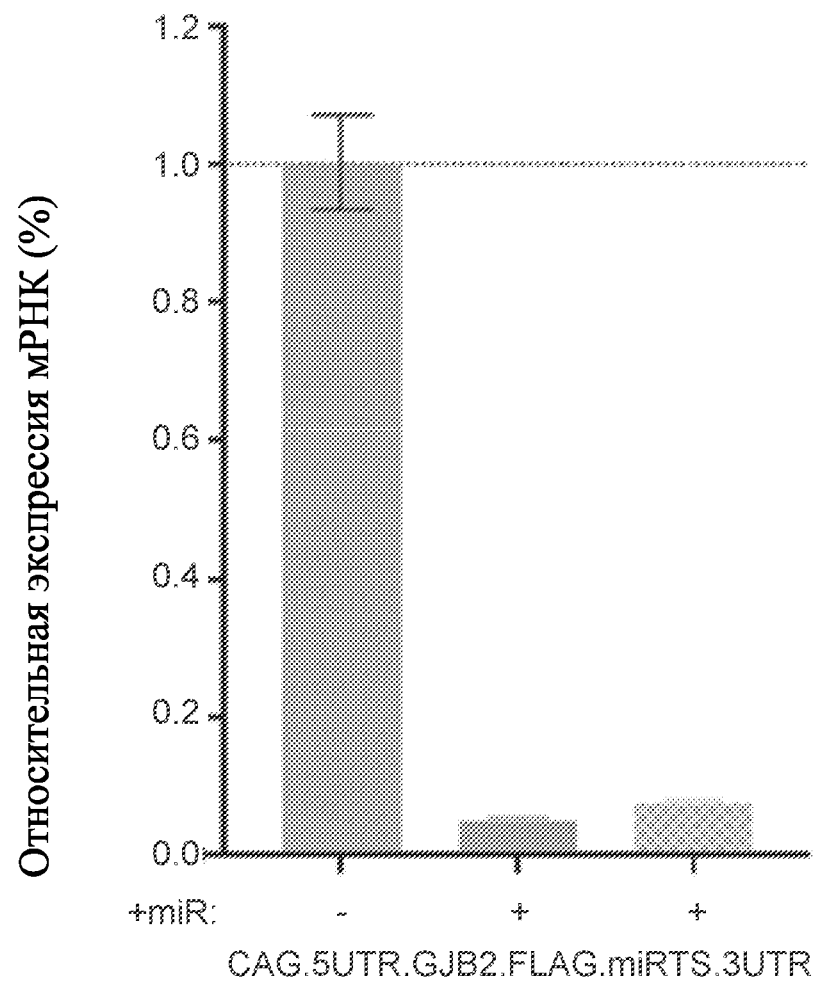
AAVAnc80-CAG.GOI.FLAG.miRTS



Фиг. 3O

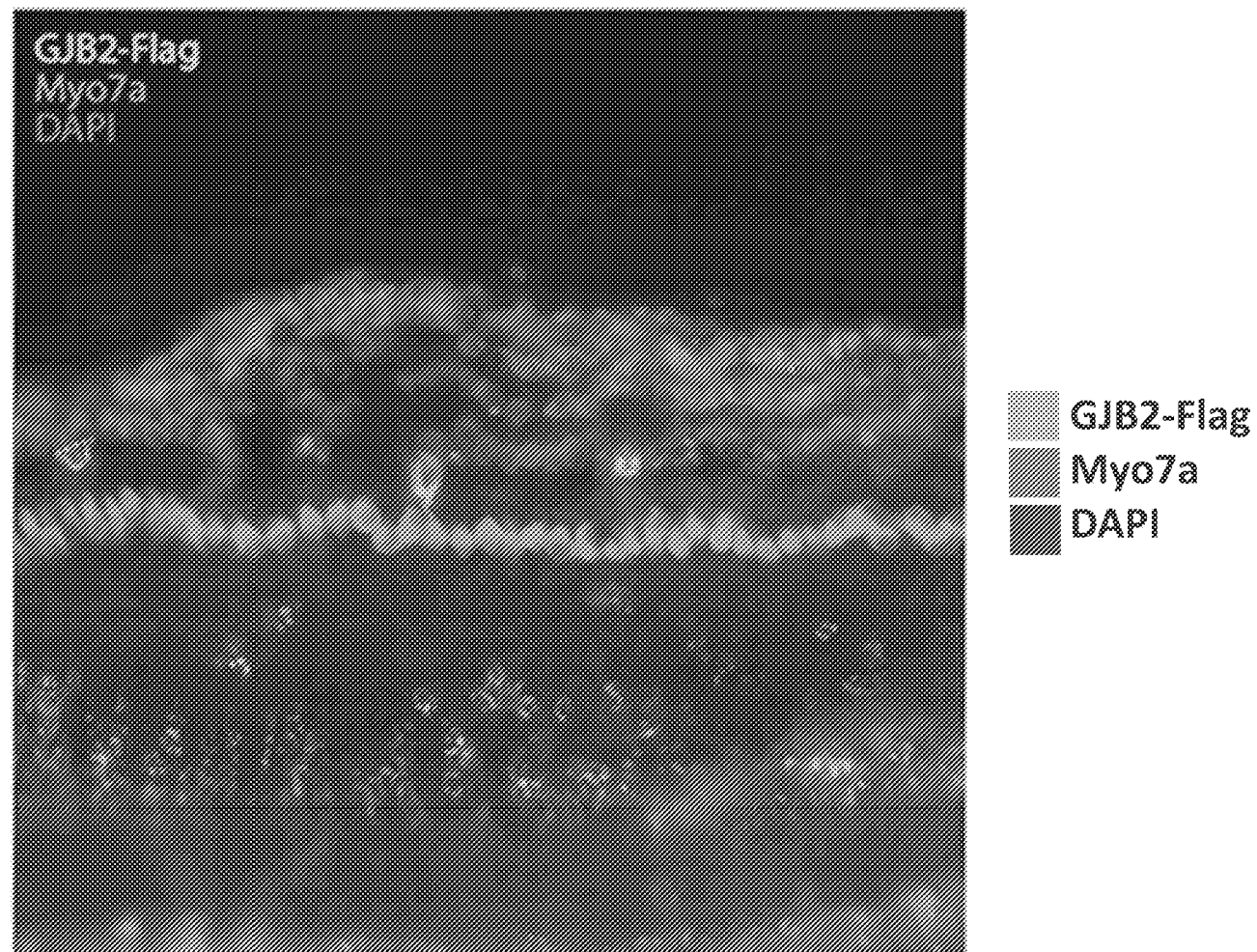


Фиг. 3Р



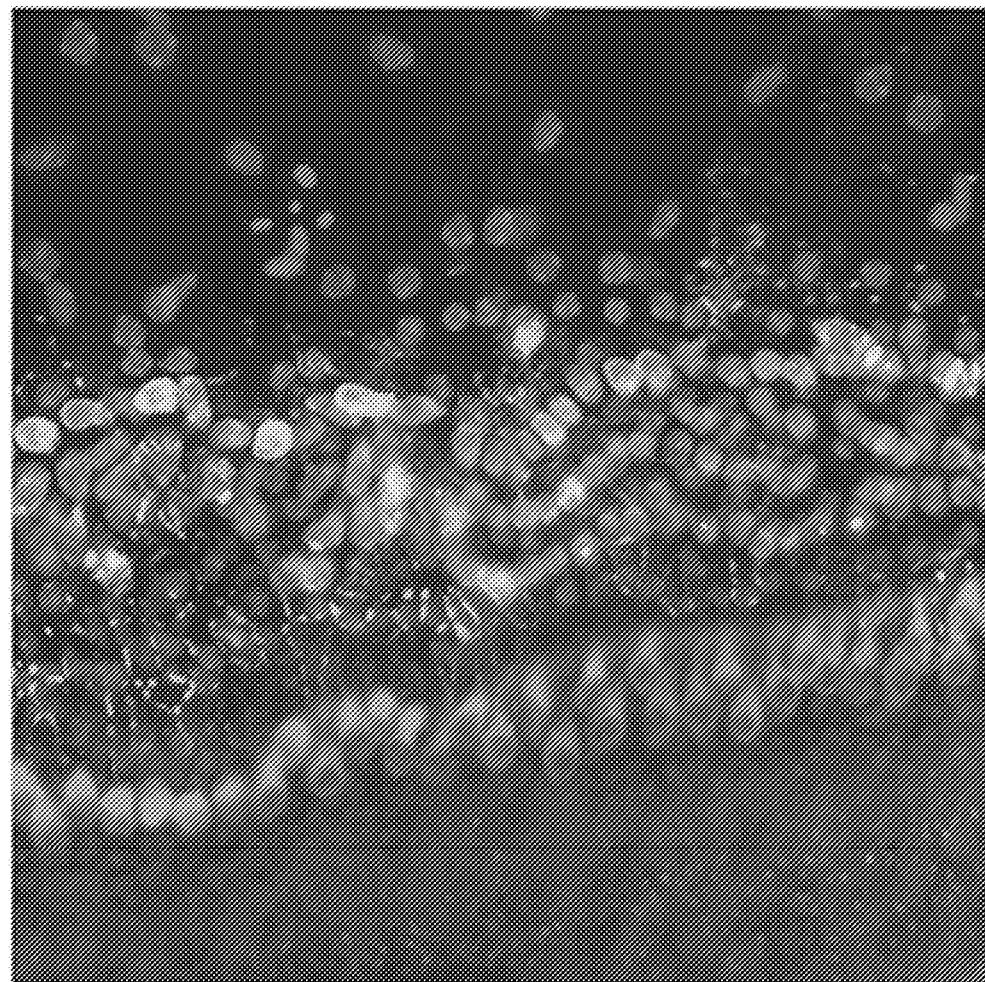
Фиг. 3Q

AAVAnc80-CAG.5UTR.hGJB2.3F.3UTR; 5.8E9 гв/эксплантат



Фиг. 4А

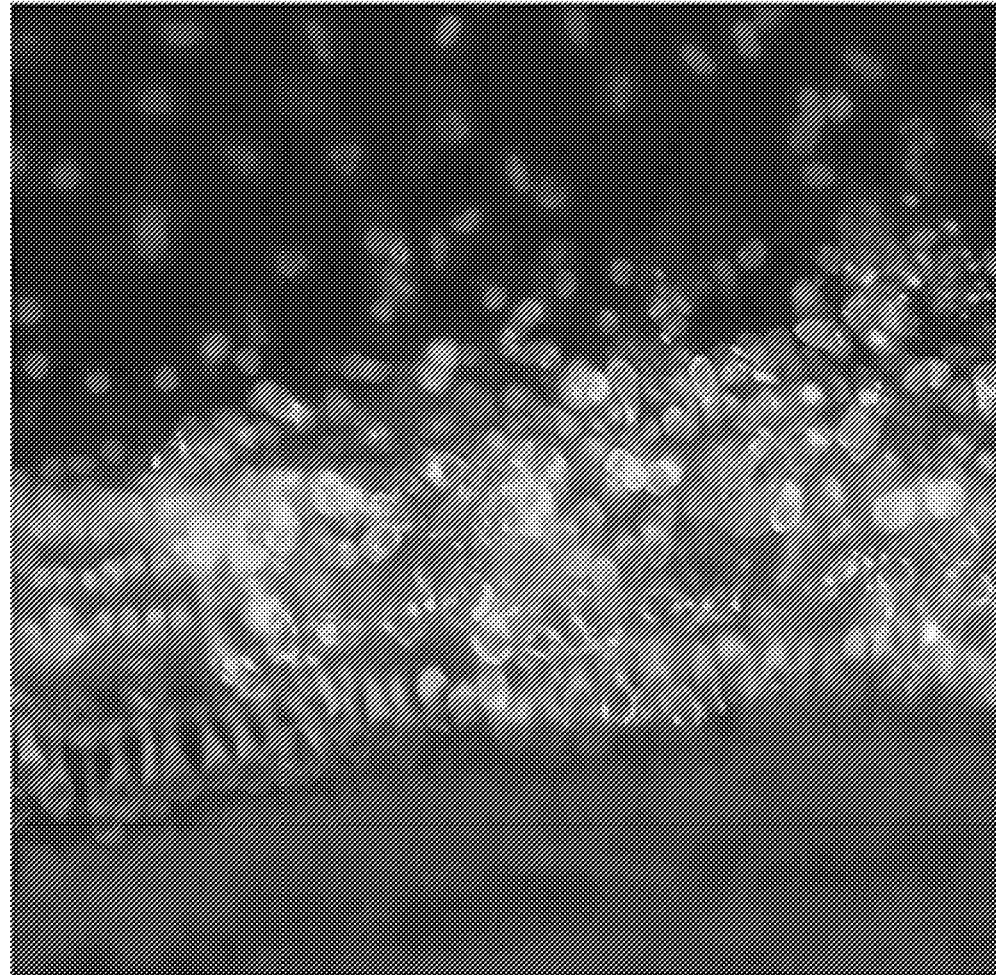
AAVAnc80-smCBA.5UTR.hGJB2.3F.3UTR; 1.4E10 гв/эксплантат



GJB2-Flag
Myo7a
DAPI

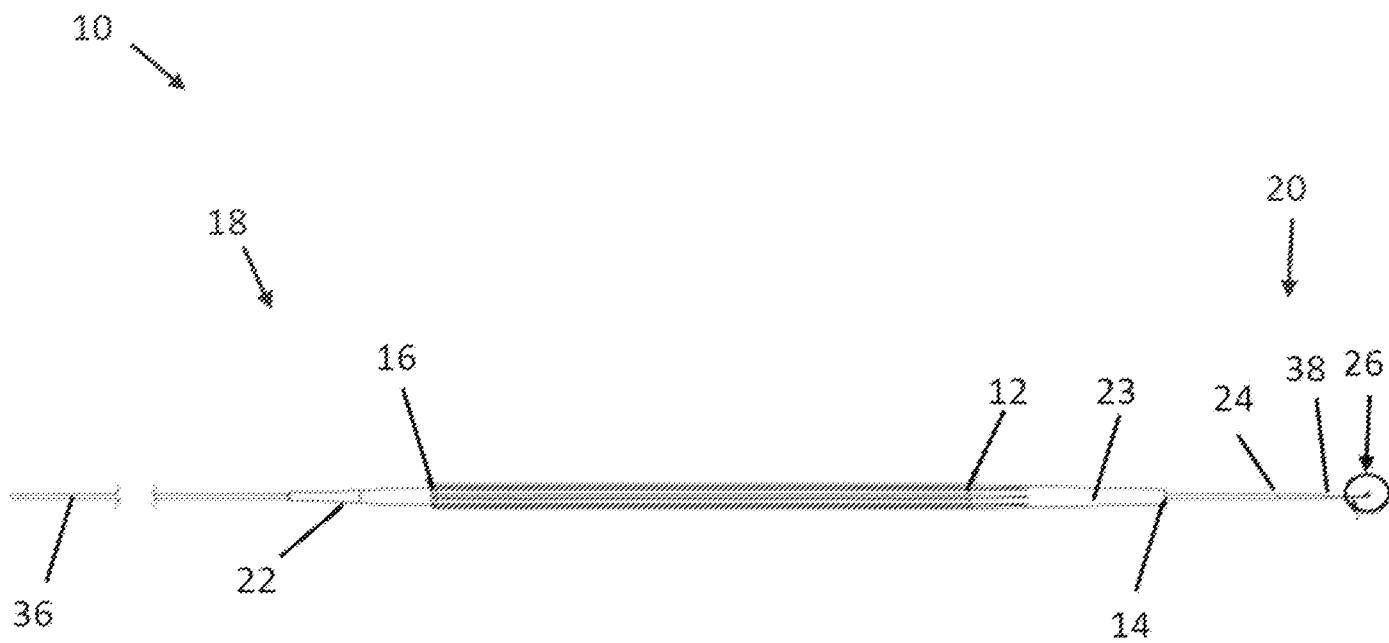
Фиг. 4В

AAVAnc80-CMVeGJB2p.5UTR.hGJB2.3F.3UTR; 1.8E10 гв/эксплантат

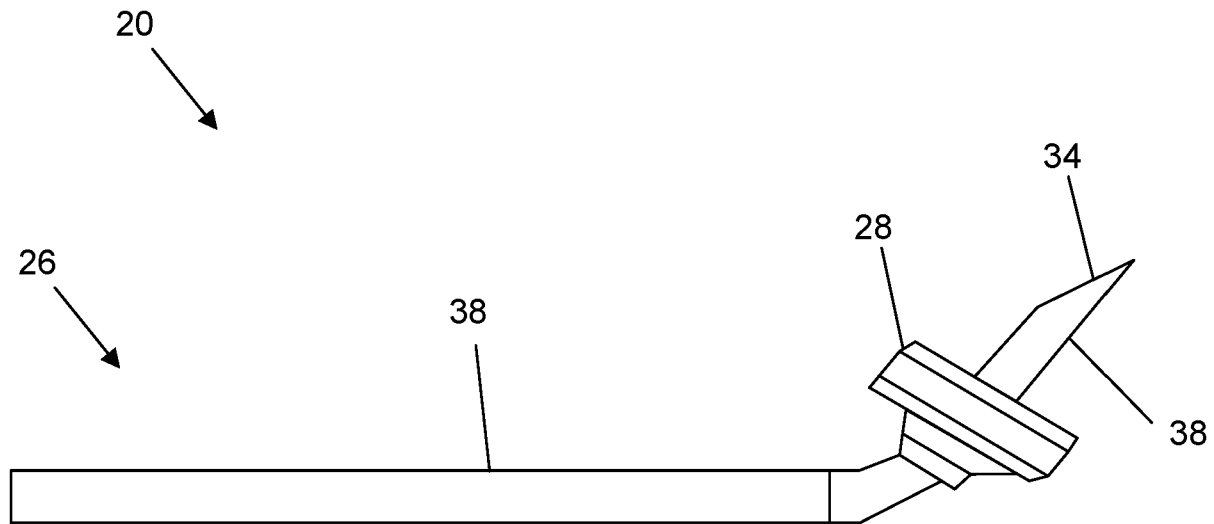


GJB2-Flag
Myo7a
DAPI

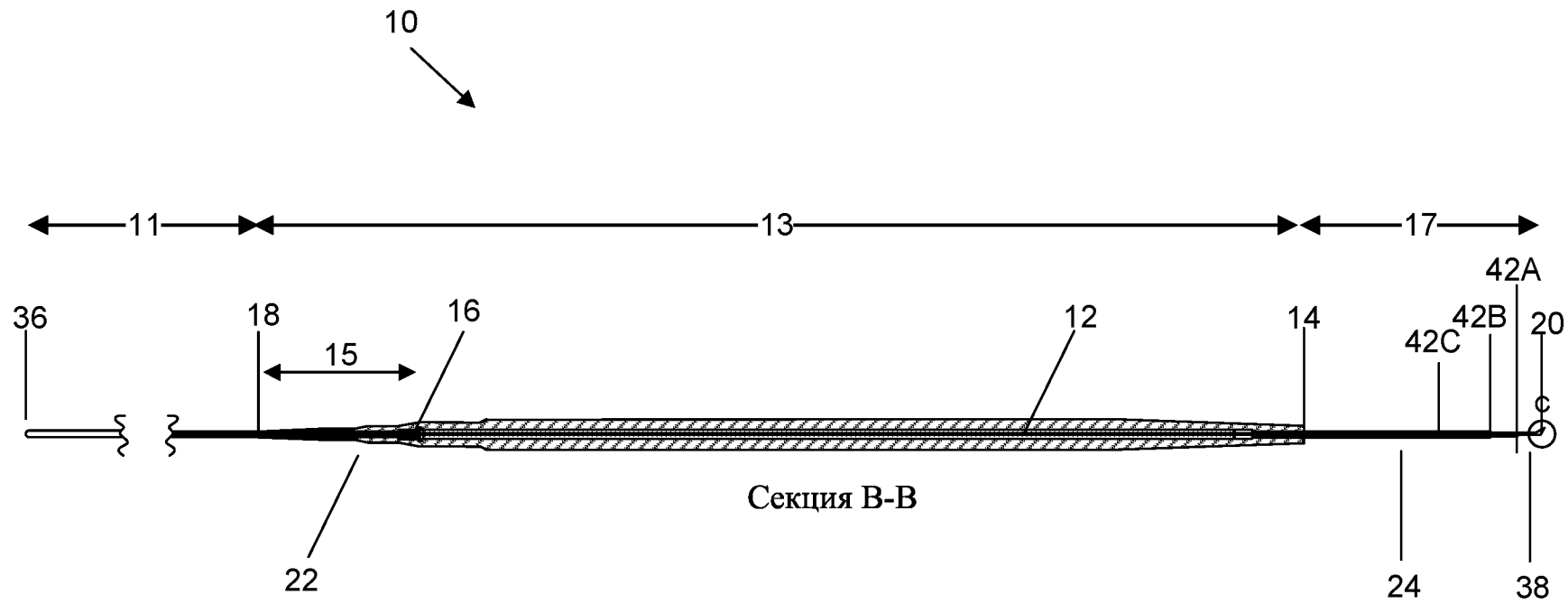
Фиг. 4С



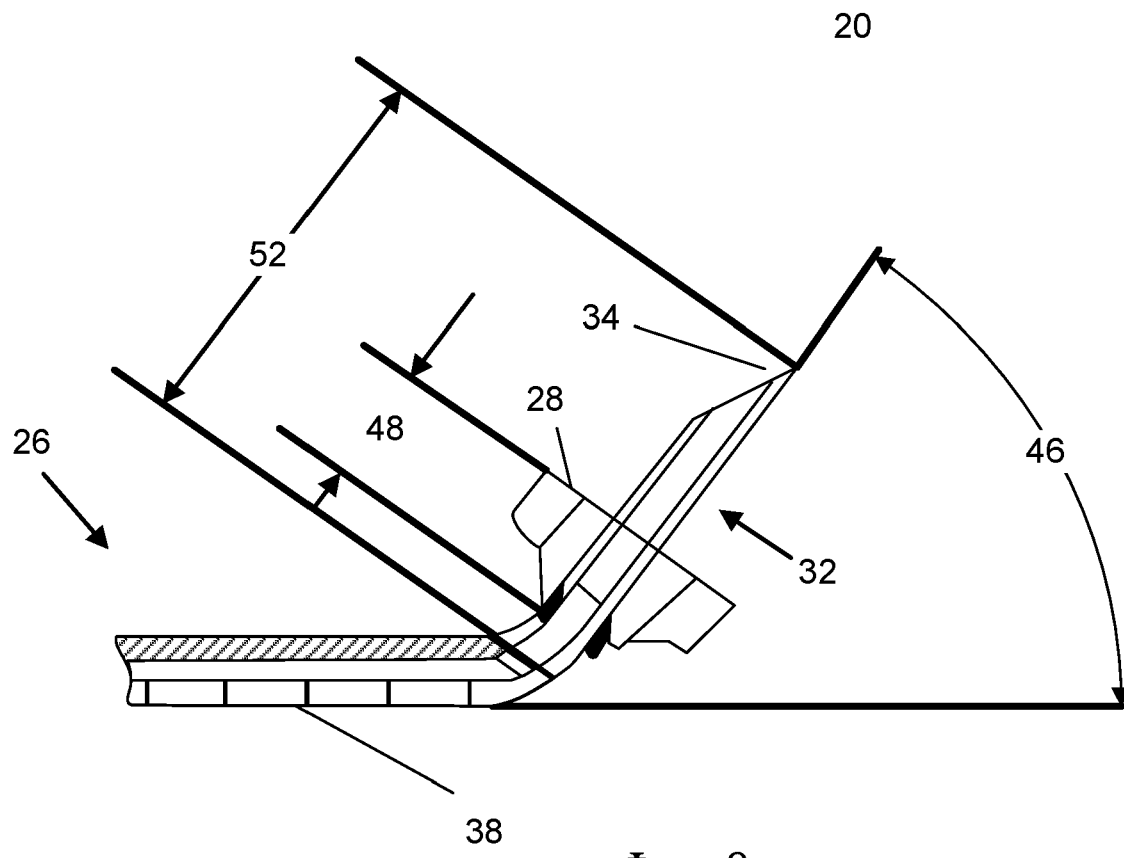
Фиг. 5



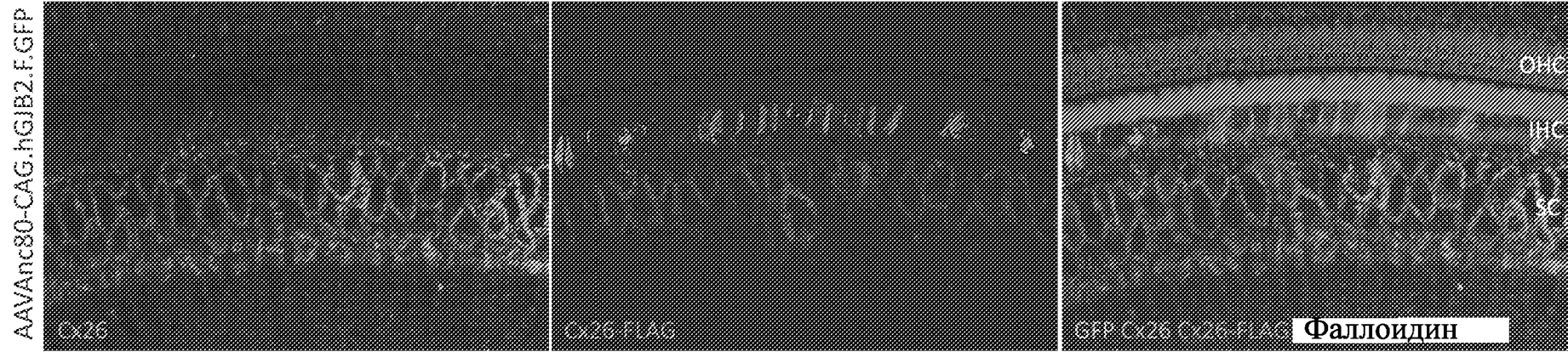
Фиг. 6



Фиг. 7



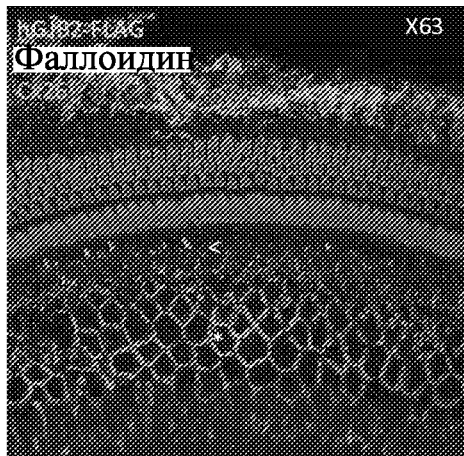
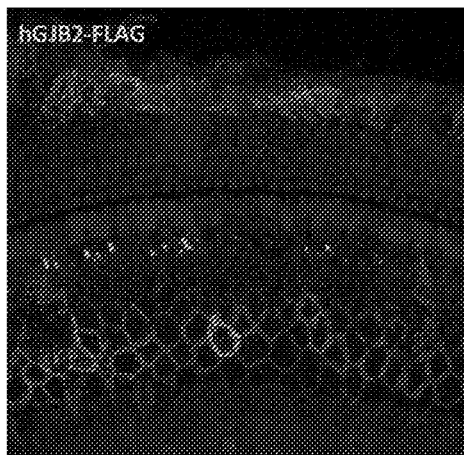
Фиг. 8



Фиг. 9А

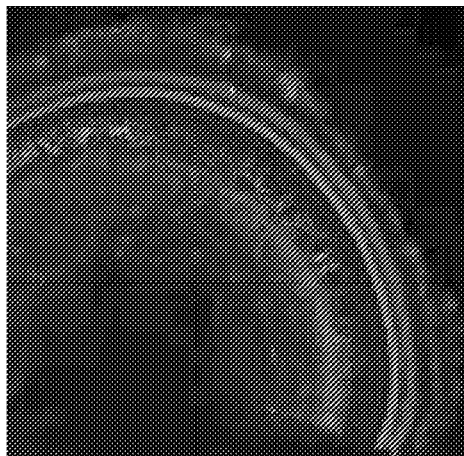
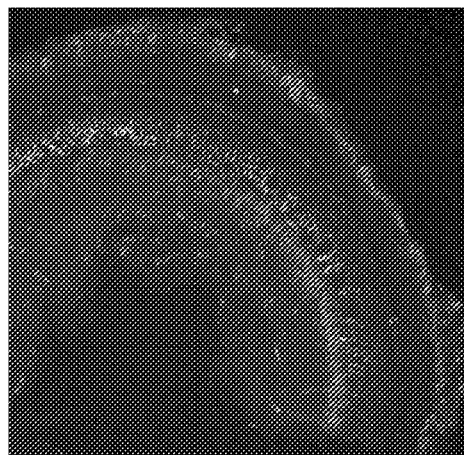
Фиг. 9В

AAVAnc80-CMVeGFAPp.hGJB2



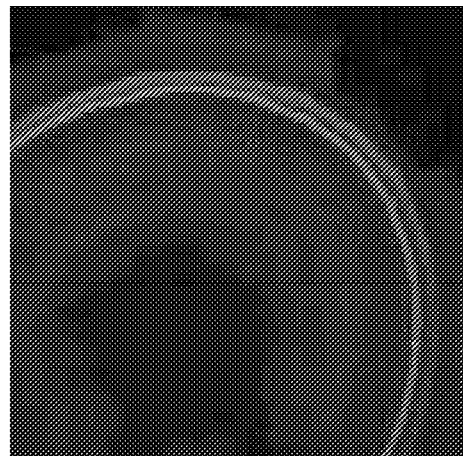
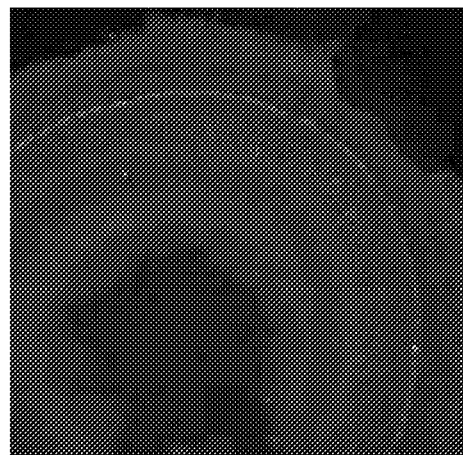
Фиг. 9С

AAVAnc80-GDF6p.hGJB2



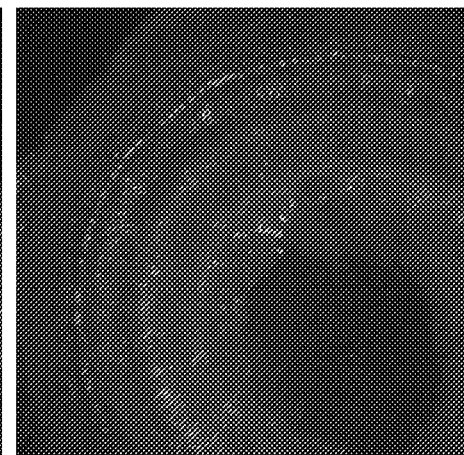
Фиг. 9D

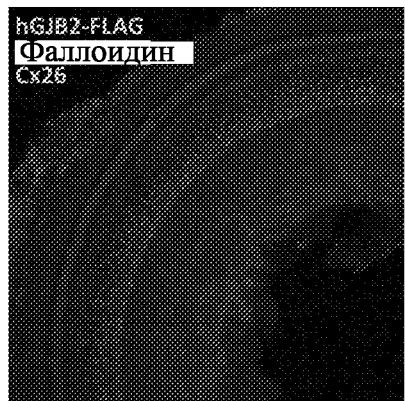
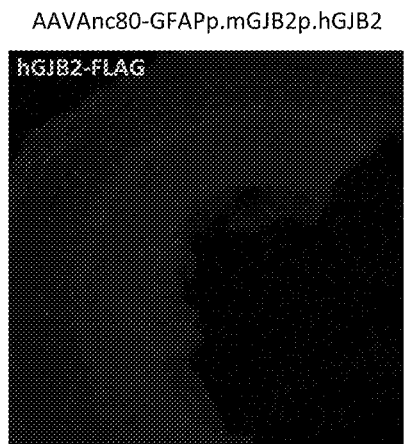
AAVAnc80-IGFBP2p.hGJB2



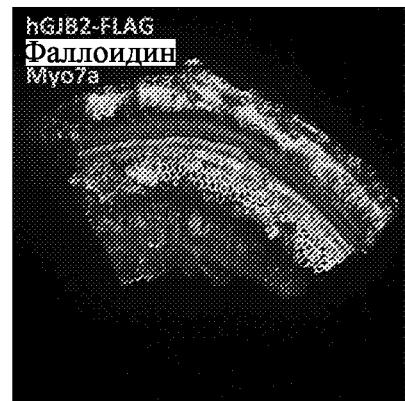
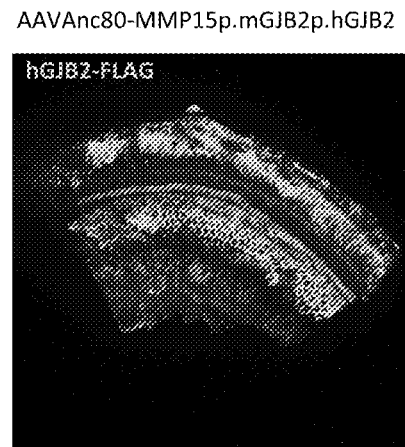
Фиг. 9Е

AAVAnc80-PARM1p.hGJB2

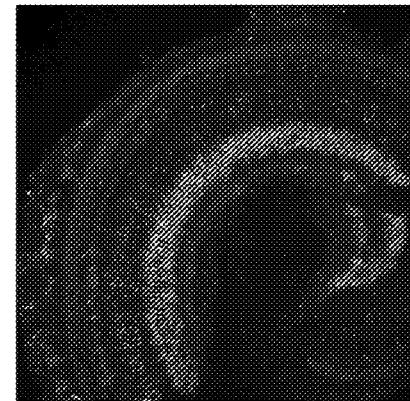
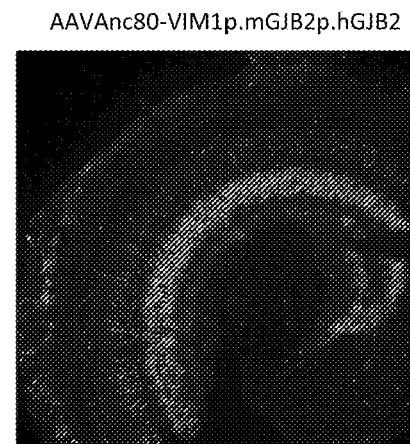




Фиг. 9F

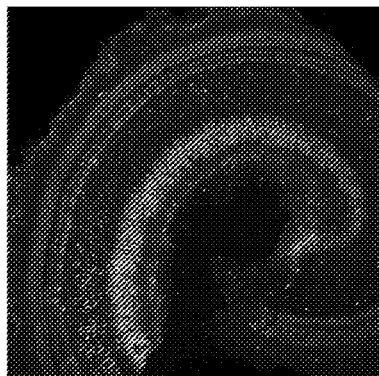
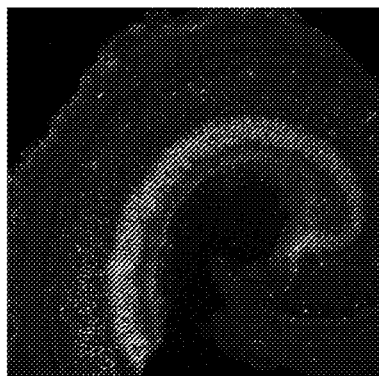


Фиг. 9G



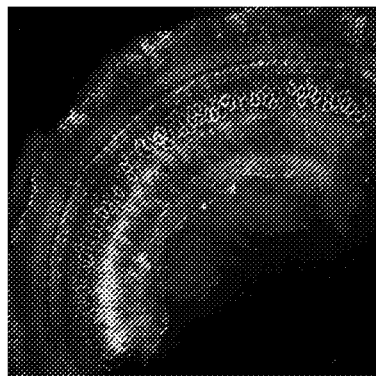
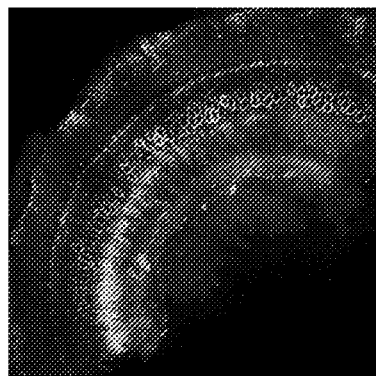
Фиг. 9H

AAVAnc80-GDF6p.mGJB2p.hGJB2



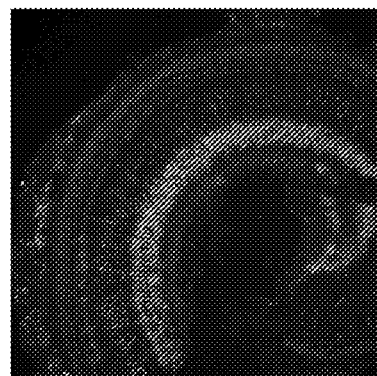
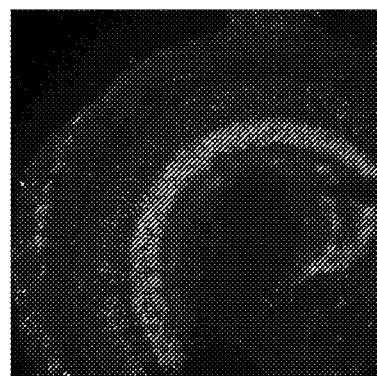
Фиг. 9I

AAVAnc80-PARM1p.mGJB2p.hGJB2



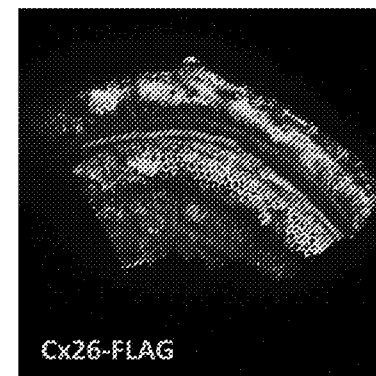
Фиг. 9J

AAVAnc80-VIM1p.mGJB2p.hGJB2



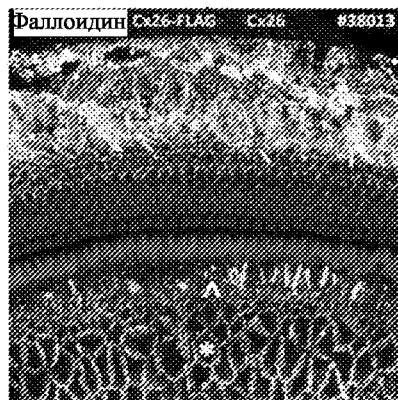
Фиг. 9K

AAVAnc80-MMP15p.mGJB2p.hGJB2



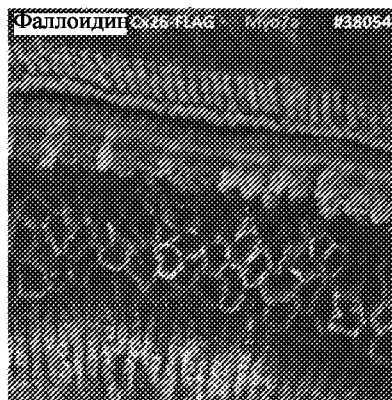
Фиг. 9L

AAVAnc80-
CMVeGFAPp.hGJB2



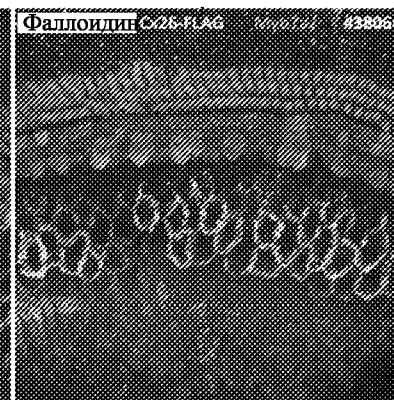
Фиг. 9М

AAVAnc80-GDF6p.hGJB2

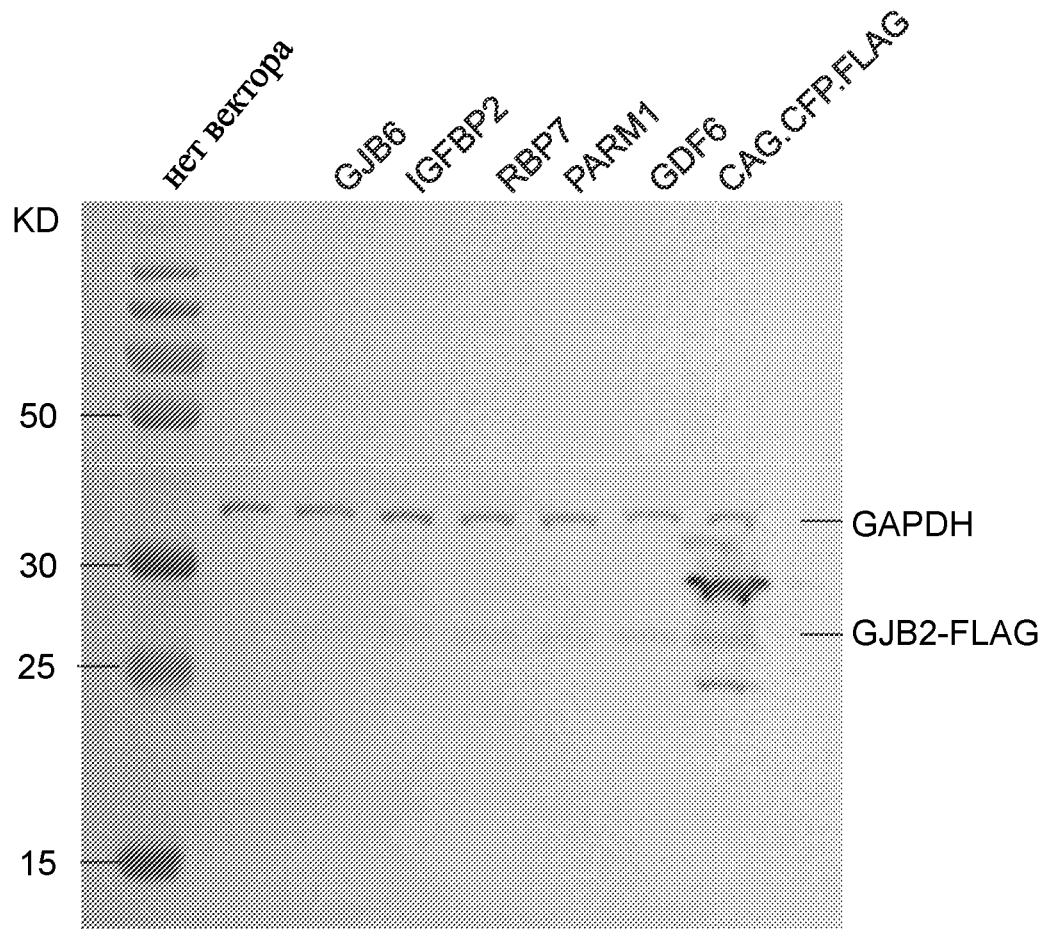


Фиг. 9N

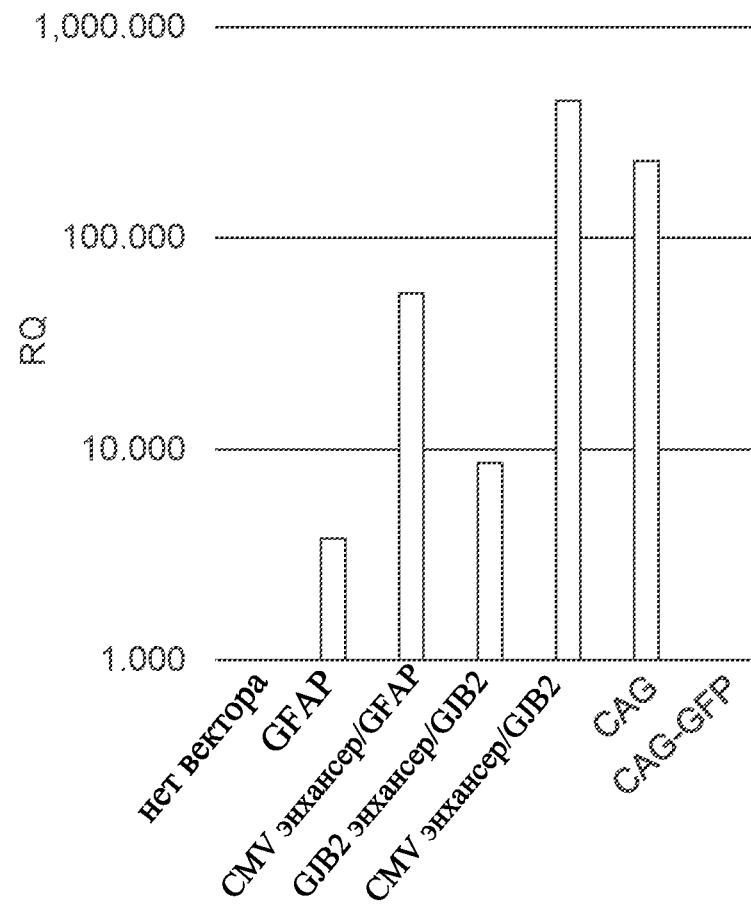
AAVAnc80-
PARM1p.hGJB2



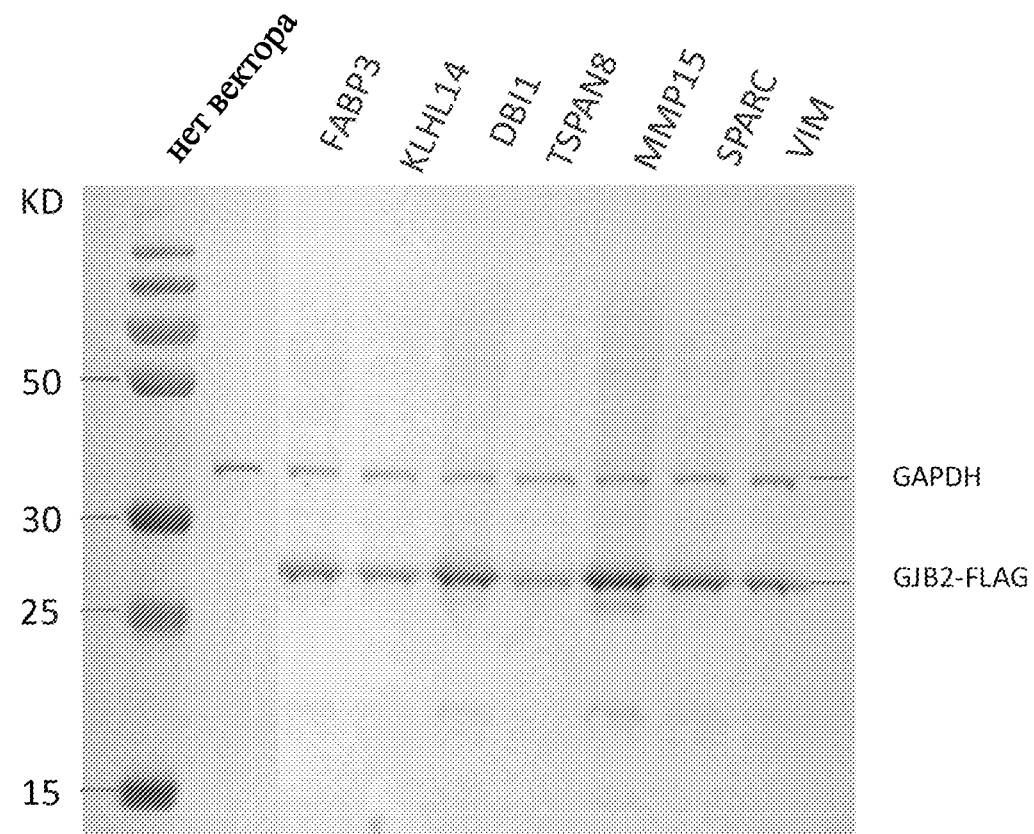
Фиг. 9О



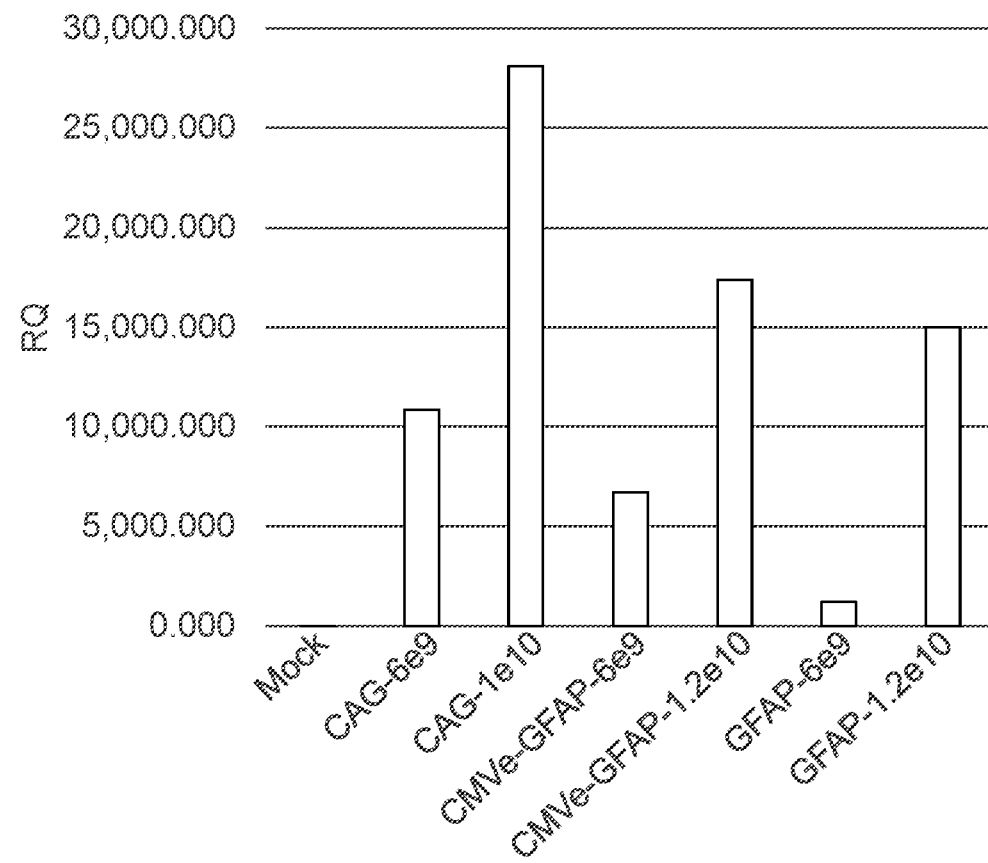
Фиг. 10А



Фиг. 10В



Фиг. 10С



Фиг. 11