



(51) МПК
A61K 39/215 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 39/215 (2020.08); *A61P 31/14* (2020.08); *C12N 7/00* (2020.08); *C12N 15/86* (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020127980, 22.08.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 22.08.2020

Дата регистрации:
 01.09.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.08.2020

(45) Опубликовано: 01.09.2020 Бюл. № 25

Адрес для переписки:

123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, ФГБУ
 "НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава
 России, патентному поверенному РФ
 Коваленко Валентине Васильевне, рег. N 226

(72) Автор(ы):

Зубкова Ольга Вадимовна (RU),
 Ожаровская Татьяна Андреевна (RU),
 Должикова Инна Вадимовна (RU),
 Попова Ольга (RU),
 Щебляков Дмитрий Викторович (RU),
 Гроусова Дарья Михайловна (RU),
 Джаруллаева Алина Шахмировна (RU),
 Тухватулин Амир Ильдарович (RU),
 Тухватулина Наталья Михайловна (RU),
 Щербинин Дмитрий Николаевич (RU),
 Есмагамбетов Ильяс Булатович (RU),
 Токарская Елизавета Александровна (RU),
 Ботиков Андрей Геннадьевич (RU),
 Ерохова Алина Сергеевна (RU),
 Ижаева Фатима Магометовна (RU),
 Семихин Александр Сергеевич (RU),
 Борисевич Сергей Владимирович (RU),
 Народицкий Борис Савельевич (RU),
 Логунов Денис Юрьевич (RU),
 Гинцбург Александр Леонидович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
 учреждение "Национальный
 исследовательский центр эпидемиологии и
 микробиологии имени почетного академика
 Н.Ф. Гамалеи" Министерства
 здравоохранения Российской Федерации
 (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: US 6251677 B1, 26.06.2001. WO
 2000012740 A2, 09.03.2000. US 20190134178 A1,
 09.05.2019. WO 2010037027 A2, 01.04.2010. KR
 102050616 B1, 03.12.2019.

(54) Фармацевтическое средство и способ его использования для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 (варианты)

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, иммунологии и вирусологии. Создано

фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса

R U 2 7 3 1 3 4 2 C 1

R U 2 7 3 1 3 4 2 C 1

R U 2 7 3 1 3 4 2 C 1

тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus 26-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus 5-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3. Также создано фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus 26-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *simian adenovirus 25-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus 5-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

NO:3. Создано также фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *simian adenovirus 25-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus 5-го* серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3. При этом каждое фармацевтическое средство находится в жидкой или лиофилизированной форме, а компонент 1 и компонент 2 находятся в разных упаковках. Каждое фармацевтическое средство применяют для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, при этом используют компонент 1 и 2 в эффективном количестве последовательно с интервалом не менее 1 недели. Изобретение обеспечивает развитие реакций гуморального и клеточного иммунного ответа против SARS-CoV-2, при этом обеспечивается повышенный уровень иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2. 4 н. и 4 з.п. ф-лы, 15 ил., 4 табл., 15 пр.

R U 2 7 3 1 3 4 2 C 1



(51) Int. Cl.
A61K 39/215 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 39/215 (2020.08); *A61P 31/14* (2020.08); *C12N 7/00* (2020.08); *C12N 15/86* (2020.08)

(21)(22) Application: 2020127980, 22.08.2020

(24) Effective date for property rights:
22.08.2020

Registration date:
01.09.2020

Priority:

(22) Date of filing: 22.08.2020

(45) Date of publication: 01.09.2020 Bull. № 25

Mail address:

123098, Moskva, ul. Gamalei, 18, FGBU "NITSEM im. N.F. Gamalei" Minzdrava Rossii, patentnomu poverennomu RF Kovalenko Valentine Vasilevne, reg. N 226

(72) Inventor(s):

Zubkova Olga Vadimovna (RU),
Ozharovskaya Tatyana Andreevna (RU),
Dolzhikova Inna Vadimovna (RU),
Popova Olga (RU),
Shchelyakov Dmitrij Viktorovich (RU),
Grousova Darya Mikhajlovna (RU),
Dzharullaeva Alina Shakhmirovna (RU),
Tukhvatulin Amir Ildarovich (RU),
Tukhvatulina Natalya Mikhajlovna (RU),
Shcherbinin Dmitrij Nikolaevich (RU),
Esmagambetov Ilyas Bulatovich (RU),
Tokarskaya Elizaveta Aleksandrovna (RU),
Botikov Andrej Gennadevich (RU),
Erokhova Alina Sergeevna (RU),
Izhaeva Fatima Magometovna (RU),
Semikhin Aleksandr Sergeevich (RU),
Borisovich Sergej Vladimirovich (RU),
Naroditskij Boris Savelevich (RU),
Logunov Denis Yurevich (RU),
Gintsburg Aleksandr Leonidovich (RU)

(73) Proprietor(s):

federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj issledovatelskij tsentr epidemiologii i mikrobiologii imeni pochetnogo akademika N.F. Gamalei" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)

(54) PHARMACEUTICAL AGENT AND METHOD FOR USE THEREOF FOR INDUCING SPECIFIC IMMUNITY TO VIRUS OF SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME SARS-COV-2 (EMBODIMENTS)

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention refers to biotechnology, immunology and virology. There is created a pharmaceutical agent for inducing specific immunity to the virus of severe acute respiratory syndrome SARS-CoV-2, containing component 1 representing an agent in form of an expression vector based on the recombinant human adenovirus genotype of 26th

serotype in which the E1 and E3 regions are deleted, and the ORF6-Ad26 region is replaced by ORF6-Ad5, with an inbuilt expression cassette selected from SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, and containing component 2, which is an agent in the form of an expression vector based on the genome of recombinant human adenovirus strain of 5th serotype in which E1 and E3 regions are deleted, with an inbuilt

RU 2731342 C1

RU 2731342 C1

R U 2 7 3 1 3 4 2 C 1

expression cassette selected from SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3. Also, a pharmaceutical agent for inducing specific immunity to the virus of severe acute respiratory syndrome SARS-CoV-2, containing component 1, which is an agent in form of an expression vector based on the genome of the recombinant human adenovirus strain of 26th serotype, in which the E1 and E3 regions are deleted, and the ORF6-Ad26 region is replaced by ORF6-Ad5, with an inbuilt expression cassette selected from SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, as well as containing component 2, which is agent in form of expression vector based on recombinant strain of simian adenovirus 25th serotype genome, in which the E1 and E3 regions are deleted, with an inbuilt expression cassette selected from SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3. There is also created a pharmaceutical agent for inducing specific immunity to the virus of severe acute respiratory syndrome SARS-CoV-2, containing component 1, representing an agent in the form of an expression vector based on the genome of the recombinant strain

of simian adenovirus of 25th serotype, in which the E1 and E3 regions are deleted, with an inbuilt expression cassette selected from SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, as well as containing component 2, which is an agent in form of an expression vector based on genome of human recombinant strain of human adenovirus of 5th serotype, in which E1 and E3 regions are deleted, with an inbuilt expression cassette selected from SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3. Each pharmaceutical agent is in a liquid or lyophilised form, and component 1 and component 2 are in different packages. Each pharmaceutical agent is used to induce specific immunity to the virus of severe acute respiratory syndrome SARS-CoV-2, wherein component 1 and 2 are used in an effective amount sequentially with an interval of not less than 1 week.

EFFECT: invention provides development of reactions of humoral and cellular immune response against SARS-CoV-2, thus providing increased level of immune response against virus SARS-CoV-2.

8 cl, 15 dwg, 4 tbl, 15 ex

R U 2 7 3 1 3 4 2 C 1

Область техники.

Изобретение относится к биотехнологии, иммунологии и вирусологии. Предложенное средство может применяться для профилактики заболеваний, вызванных вирусом тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2.

5 Уровень техники.

В конце 2019 г. в г.Ухань провинции Хубэй (КНР) была зафиксирована вспышка атипичной пневмонии неизвестной этиологии. Проведенные научные исследования позволили установить, что она была вызвана одноцепочечным РНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству Coronaviridae, к линии Beta-CoV B.11 февраля 2020

10 г. Всемирная Организация Здравоохранения присвоила новому вирусу официальное название SARS-CoV-2, а болезнь, возбудителем которой он является, получила название COVID-19 («Coronavirus disease 2019»).

15 В течение нескольких месяцев SARS-CoV-2 распространился по всему миру, став причиной пандемии, затронувшей более 200 стран. К 1 августа 2020 года количество заболевших превысило 17,5 млн человек, а количество погибших - 683 тыс. человек.

20 Коронавирус передается от человека к человеку воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактным путями. Инкубационный период составляет в среднем 5-6 дней, после чего развиваются первые симптомы заболевания. Для COVID-19 характерными симптомами являются: повышение температуры тела, сухой кашель, отышка, утомляемость. Реже встречаются - боль в горле, в суставах, насморк, головная боль.

25 Диагностика COVID-19 осложняется тем, что симптомы данного заболевания характерны для многих вирусных инфекций. Окончательный диагноз ставится на основании результатов лабораторных исследований, для которых необходимо специализированное оборудование, высококвалифицированный персонал и дорогостоящие реактивы.

30 COVID-19 может протекать как в легкой, так и тяжелой форме. При этом тяжелая форма заболевания чаще развивается у пациентов старше 60 лети имеющих хронические заболевания. Наиболее грозными осложнениями данного заболевания являются - пневмония, острый респираторный дистресс-синдром, острые дыхательная недостаточность, острые сердечная недостаточность, острые почечная недостаточность, септический шок, кардиомиопатии, и др. При этом средств этиотропного лечения в настоящее время не разработано.

35 Быстрое распространение SARS-CoV-2 и высокий процент смертности создали острую необходимость в разработке эффективных средств профилактики заболеваний, вызываемых данным вирусом. Все исследования в данной области опираются на многолетний опыт по разработке препаратов для профилактики заболеваний, вызываемых другими представителями семейства коронавирусов.

40 Известно решение (патент US7452542B2), в котором для профилактики заболеваний, вызванных коронавирусом, используют живую аттенуированную вакцину. Данная вакцина содержит живой аттенуированный коронавирус, который характеризуется как содержащий геном, кодирующий (i) ExoN, содержащий замену на тирозин ⁶³⁹⁸ MHV-A59 или аналогичной позиции, (ii) полипептид Orf2a, содержащий замену на лейцина ¹⁰⁶ MHV-A59 или аналогичной позиции и фармацевтически приемлемый разбавитель.

45 При этом данное изобретение распространяется на ряд коронавирусов животных и птиц и коронавирус человека OC34.

Известно решение (WO2006136448A2), в котором для получения вакцины против SARS-CoV используют нуклеиновую кислоту, кодирующую аттенуированный вирус SARS-CoV. При этом максимальный титр вируса в клеточной культуре, по крайней

мере в 2 раза ниже, чем максимальный титр вируса SARS-CoV дикого типа в той же культуре клеток.

Известно решение (RU 2 332 457 C2B), в котором для профилактики коронавирусной инфекции, возбудителем которой является SARS-CoV, используют живую бактериальную 5 вакцину, в которой на поверхности бактерии представлены антигены SARS-CoV, зажоренные с помощью синтетазы поли-гамма-глутаминовой кислоты (pgsBCA).

Известно решение (WO2016116398A1), где для получения вакцины против коронавируса MERS-CoV используют нуклеокапсидный белок N MERS-CoV и / или его иммуногенный фрагмент, или молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую N- 10 нуклеокапсидный белок MERS-CoV и / или его иммуногенный фрагмент. Также в изобретении раскрыто использование генетических векторов на основе вируса корьюей оспы, авипоксвируса, аденоовириуса, альфа-вируса, рабдовириуса и герпесвириуса для получения вакцины против коронавируса MERS-CoV

Известно решение (WO2006071250A2), где в качестве вакцины против SARS-CoV 15 предложено использование векторных систем на основепоксвирусов и бакуловирусов, содержащих гены S белка SARS-CoV и его антигенных фрагментов.

Известно решение (CN1276777C), в котором предложена вакцина против тяжелого острого респираторного синдрома на основе рекомбинантного аденоовириуса человека 5 серотипа, содержащего последовательность S белка вируса SARS-CoV.

Филогенетические исследования позволили установить, что вирус SARS-CoV-2 более 20 близок к коронавирусам, поражающим летучих мышей (bat-SL-CoVZC45, bat-SL-CoVZXC21), чем к коронавирусам, циркулирующим в человеческой популяции. Так, например, S белок SARS-CoV-2 гомологичен S белку SARS-CoV не более, чем на 75% (Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus 25 of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7). Таким образом, кандидатные вакцины против заболеваний, вызываемых SARS-CoV не эффективны против COVID-19.

В настоящее время не зарегистрировано ни одного препарата для индукции специфического иммунитета против коронавируса SARS-CoV-2. Известно, что несколько 30 фармацевтических компаний ведут разработку кандидатных вакцин, часть из которых основана на технологии рекомбинантных аденоовириусных векторов.

Фармацевтическая компания SanSino (Тяньцзинь, Китай) совместно с Пекинским институтом биотехнологии (Пекин, Китай) разработала кандидатную вакцину против COVID-19, которая включает вектор на основе аденоовириуса человека 5 серотипа (с 35 удаленными E1 и E3 областями), содержащий оптимизированный ген S белка коронавируса SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (GenBank YP_009724390) с сигнальным пептидным геном активатора тканевого плазминогена. Вакцина представляет собой жидкую форму, содержащую 5×10^{10} вирусных частиц/0,5 мл. Данное решение было выбрано авторами заявляемого изобретения за прототип.

Существенным недостатком данного решения является то, что вакцина может быть 40 не эффективна у некоторых групп населения, за счет наличия предсуществующего иммунитета к аденоовириусу человека 5 серотипа. Так, например, согласно опубликованным данным, однократного введения данной кандидатной вакцины было недостаточно, чтобы вызвать высокий уровень гуморальных иммунных реакций у 45 людей в возрасте 55 лет или старше (Zhu FC, Guan XH, Li YH, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial [published online ahead of print, 2020 Jul 20]. *Lancet*. 2020;S0140-6736(20)31605-6. doi:10.1016/S0140-6736(20)

31605-6.). Тогда как именно люди пенсионного возраста находятся в зоне риска тяжелого течения COVID-19.

Таким образом, в области техники существует потребность в разработке фармацевтического средства, которое является безопасным и способно индуцировать иммунный ответ против вируса SARS-CoV-2 у широких слоев населения.

Осуществление изобретения.

Технической задачей заявленной группы изобретений является создание средств, обеспечивающих эффективную индукцию иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2.

10 Технический результат заключается в создании безопасного и эффективного фармацевтического средства, которое обеспечивает развитие реакций гуморального и клеточного иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2 у различных групп населения, за счет использования двух различных аденоовирусных векторов. Кроме того, технический результат заключается в создании фармацевтического средства, 15 обеспечивающего повышенные уровни иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2.

Указанный технический результат достигается тем, что создано фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 20 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3 (вариант 1).

Также создано фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на 30 основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 35 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3 (вариант 2).

Создано также фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на 40 основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 45 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3 (вариант 3).

При этом каждое фармацевтическое средство находится в жидкой или лиофилизированной форме.

Причем буферный раствор фармацевтического средства для жидкой формы содержит, масс %:

5	трикс	от 0,1831 до 0,3432
	хлорид натрия	от 0,3313 до 0,6212
	сахароза	от 3,7821 до 7,0915
	магния хлорида гексагидрат	от 0,0154 до 0,0289
	ЭДТА	от 0,0029 до 0,0054
10	полисорбат-80	от 0,0378 до 0,0709
	этанол 95%	от 0,0004 до 0,0007
	вода	остальное.

А буферный раствор фармацевтического средства для лиофилизированной формы содержит, масс %:

15	трикс хлорид натрия сахароза магния хлорида гексагидрат ЭДТА полисорбат-80 вода	от 0,0180 до 0,0338 от 0,1044 до 0,1957 от 5,4688 до 10,2539 от 0,0015 до 0,0028 от 0,0003 до 0,0005 от 0,0037 до 0,0070 остальное.
----	---	---

Компонент 1 и компонент 2 находятся в разных упаковках.

Каждое фармацевтическое средство применяют для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, при этом используют компонент 1 и 2 в эффективном количестве последовательно с интервалом не менее 1 недели.

Краткое описание фигур.

На фиг. 1

представлена схема экспрессионной кассеты, где

1 - промотор,

2 - целевой ген,

3- сигнал полиаденилирования.

На фиг. 2

представлены результаты оценки эффективности иммунизации разработанным фармацевтическим средством по оценке доли пролиферирующих CD4+ лимфоцитов, рестимулированных гликопротеином S SARS-CoV-2, на 8 день после иммунизации испытуемых животных.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %

Ось абсцисс - сформированные группы животных:

1. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);

2. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);

3. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);

4. Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);

5. Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);

6. Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);

7. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);

8. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);

9. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);

10. Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);

11. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);

12. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);

13. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
14. Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
15. Ad26- CAG-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
16. Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 5 17. Ad26-EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
18. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
19. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
20. Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2);
- 10 21. simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
22. simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
23. simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
24. simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
25. simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 15 26. simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
27. simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
28. simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
29. simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
30. simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
31. фосфатно-солевой буфер.

● - Данные по одному животному

■ - Среднее геометрическое значение, рассчитанное для каждой группы
На фиг. 3

представлены результаты оценки эффективности иммунизации разработанным
фармацевтическим средством по оценке доли пролиферирующих CD8+ лимфоцитов,
25 рестимулированных гликопротеином S SARS-CoV-2, на 8 день после иммунизации
мышей.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %

Ось абсцисс - сформированные группы животных:

1. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
2. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
3. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
4. Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
5. Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
6. Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 35 7. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
8. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
9. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
10. Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
11. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 40 12. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
13. Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
14. Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
15. Ad26- CAG-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
16. Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 45 17. Ad26-EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
18. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
19. Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
20. Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2);

21. simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
22. simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
23. simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
24. simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 5 25. simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
26. simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
27. simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
28. simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
29. simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 10 30. simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
31. фосфатно-солевой буфер.

● - Обозначены данные по каждому животному

■ - Среднее геометрическое значение, рассчитанное для каждой группы

На Фиг. 4

15 представлена выживаемость сирийских хомячков иммунизированных разработанным фармацевтическим средством и контрольных групп на модели летальной инфекции вируса SARS-CoV-2.

Ось ординат - выживаемость животных, %.

Ось абсцисс - дни после заражения вирусом SARS-CoV-2.

20 ● - Обозначена выживаемость сирийских хомячков, иммунизированных разработанным фармацевтическим средством, сформированные группы:

- 1) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 2) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 3) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 25 4) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 5) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 6) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 7) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 8) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 30 9) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 11) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 12) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 13) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 35 14) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 15) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 16) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 17) Ad26-EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 18) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 19) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 40 21) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 22) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 23) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 24) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 45 25) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 26) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 27) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 28) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 29) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2),

которая во всех группах составила 100%.

◆ - Отрицательный контроль, группа:

10)Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2).

■ - Отрицательный контроль, группа:

5 20)Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2).

✗ - Отрицательный контроль, группа:

30)simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2).

▲ - Отрицательный контроль, группа:

10 32)- фосфатно-солевой буфер.

На фиг. 5

представлены результаты оценки гуморального иммунного ответа к антигену вируса SARS-CoV2 у приматов, иммунизированных разработанным фармацевтическим средством по варианту 1.

15 Ось ординат - реципрокный титр IgG к RBD вируса SARS-CoV-2.

Ось абсцисс - дни.

● - иммунизированных разработанным фармацевтическим средством по варианту 1 (Ad26-CMV-S-SARS-CoV-2; Ad5-CMV-S-SARS-CoV-2).

20 ○ - Плацебо.

На фиг. 6

представлены результаты оценки эффективности иммунизации разработанным фармацевтическим средством по оценке доли пролиферирующих CD4+ лимфоцитов, рестимулированных RBD фрагментом S антигена SARS-CoV-2, на 8 день после

25 иммунизации приматов.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %.

Ось абсцисс - дни.

Черным цветом обозначена группа животных, иммунизированных разработанным фармацевтическим средством по варианту 1 (Ad26-CMV-S-SARS-CoV-2; Ad5-CMV-S-30 SARS-CoV-2).

Серым цветом обозначена группа контрольных (не вакцинированных) животных.

Среднее арифметическое значение представлено в виде пунктирной черты для каждой группы данных. Статистически достоверная разница между значениями вакцинированных и контрольных (невакцинированных) животных обозначена скобкой и символом * ($p<0,05$ по критерию Манна-Уитни).

35 На фиг. 7

представлены результаты оценки эффективности иммунизации разработанным фармацевтическим средством по оценке доли пролиферирующих CD8+ лимфоцитов, рестимулированных RBD фрагментом S антигена SARS-CoV-2, на 8 день после иммунизации приматов.

40 Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %.

Ось абсцисс - дни.

Черным цветом обозначена группа животных, иммунизированных разработанным фармацевтическим средством по варианту 1 (Ad26-CMV-S-SARS-CoV-2; Ad5-CMV-S-45 SARS-CoV-2)

Серым цветом обозначена группа контрольных (невакцинированных) животных.

Среднее арифметическое значение представлено в виде пунктирной черты для каждой группы данных. Статистически достоверная разница между значениями

вакцинированных и контрольных (невакцинированных) животных обозначена скобкой и символом * ($p<0,05$ по критерию Манна-Уитни).

На фиг. 8

представлены результаты оценки эффективности иммунизации добровольцев жидкой

5 формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1 по оценке доли пролиферирующих CD8+ лимфоцитов, рестимулированных S антигеном SARS-CoV-2.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %.

Ось абсцисс - дни.

● - обозначены значения по каждому добровольцу на 0 день.

10 ■ - обозначены значения по каждому добровольцу на 14 день.

▲ - обозначены значения по каждому добровольцу на 28 день.

Медиана значений представлена в виде черной черты для каждой группы данных.

Статистически достоверная разница между значениями 0, 14 и 28 дня обозначена скобкой и символами *, $p<0,05$; **, $p<0,01$; ****, $p<0,001$ по критерию Манна-Уитни.

15 На фиг. 9

представлены результаты оценки эффективности иммунизации добровольцев жидкой формой разработанным фармацевтическим средством по варианту 1 по оценке доли пролиферирующих CD4+ лимфоцитов, рестимулированных S антигеном SARS-CoV-2.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %.

20 Ось абсцисс - дни.

● - обозначены значения по каждому добровольцу на 0 день.

■ - обозначены значения по каждому добровольцу на 14 день.

▲ - обозначены значения по каждому добровольцу на 28 день.

25 Медиана значений представлена в виде черной черты для каждой группы данных.

Статистически достоверная разница между значениями 0, 14 и 28 дня обозначена скобкой и символами *, $p<0,05$; **, $p<0,01$; ****, $p<0,001$ по критерию Манна-Уитни.

На фиг. 10

30 представлены результаты оценки эффективности иммунизации добровольцев лиофилизированной формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1 по оценке доли пролиферирующих CD8+ лимфоцитов, рестимулированных S антигеном SARS-CoV-2.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %.

Ось абсцисс - дни.

35 ● - обозначены значения по каждому добровольцу на 0 день.

■ - обозначены значения по каждому добровольцу на 14 день.

▲ - обозначены значения по каждому добровольцу на 28 день.

Медиана значений представлена в виде черной черты для каждой группы данных.

Статистически достоверная разница между значениями 0, 14 и 28 дня обозначена скобкой и символами *, $p<0,05$; **, $p<0,01$; ****, $p<0,001$ по критерию Манна-Уитни.

40 На фиг. 11

представлены результаты оценки эффективности иммунизации добровольцев лиофилизированной формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1 по оценке доли пролиферирующих CD4+ лимфоцитов, рестимулированных S антигеном SARS-CoV-2.

Ось ординат - количество пролиферирующих клеток, %.

Ось абсцисс - дни.

● - обозначены значения по каждому добровольцу на 0 день.

■ - обозначены значения по каждому добровольцу на 14 день.

▲ обозначены значения по каждому добровольцу на 28 день.

Медиана значений представлена в виде черной черты для каждой группы данных.

Статистически достоверная разница между значениями 0, 14 и 28 дня обозначена скобкой и символами *, p<0,05; **, p<0,01; ****, p<0,001 по критерию Манна-Уитни.

На фиг. 12

Представлен прирост концентрации ИФН γ (в разах) в культуральной среде мононуклеарных клеток периферической крови добровольцев, иммунизированных жидкой формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1, после 10 рестимуляции их S антигеном SARS-CoV-2 до иммунизации (0 день) и через 14 и 28 день исследования.

Ось ординат - увеличение концентрации гамма-интерферона, разы.

Ось абсцисс - дни.

● - обозначены значения по каждому добровольцу на 0 день.

■ - обозначены значения по каждому добровольцу на 14 день.

▲ - обозначены значения по каждому добровольцу на 28 день.

Медиана значений представлена в виде черной черты для каждой группы данных.

Статистически достоверная разница между значениями 0, 14 и 28 дня обозначена скобкой и символами *, p<0,05; ****, p<0,001 по критерию Манна-Уитни.

На фиг. 13

представлен прирост концентрации ИФН γ (в разах) в культуральной среде мононуклеарных клеток периферической крови добровольцев, иммунизированных лиофилизированной формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1, после рестимуляции их S антигеном SARS-CoV-2 до иммунизации (0 день) и через 14 25 и 28 день исследования.

Ось ординат - увеличение концентрации гамма-интерферона, разы.

Ось абсцисс - дни.

● - обозначены значения по каждому добровольцу на 0 день.

■ - обозначены значения по каждому добровольцу на 14 день.

▲ - обозначены значения по каждому добровольцу на 28 день.

Точками обозначены значения по каждому добровольцу участвующему в исследовании. Медиана значений представлена в виде черной черты для каждой группы данных. Статистически достоверная разница между значениями 0, 14 и 28 дня обозначена скобкой и символами *, p<0,05; ****, p<0,001 по критерию Манна-Уитни.

На фиг. 14

представлены результаты оценки гуморального иммунного ответа к антигену вируса SARS-CoV2 у добровольцев, иммунизированных жидкой формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1,

Ось ординат - титр IgG к RBD домену гликопротеина S вируса SARS-CoV-2.

Ось абсцисс - дни.

▲ - данные по каждому добровольцу.

На фиг. 15

представлены результаты оценки гуморального иммунного ответа к антигену вируса SARS-CoV2 у добровольцев, иммунизированных лиофилизированной формой разработанного фармацевтического средства по варианту 1,

Ось ординат - титр IgG к RBD домену гликопротеина S вируса SARS-CoV-2.

Ось абсцисс - дни.

▲ - данные по каждому добровольцу.

Реализация изобретения.

Для создания безопасного и эффективного фармацевтического средства для индукции специфического иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 была выбрана векторная система на основе аденоовирусов. Аденоовирусные векторы обладают целым рядом преимуществ: они не способны размножаться в клетках человека, проникают как в делящиеся, так и неделяющиеся клетки, способны индуцировать клеточный и гуморальный иммунный ответ, обеспечивают высокий уровень экспрессии целевого антигена.

Вместе с тем клиническое применение данных векторов может быть затруднено из-за наличия у части населения предсуществующего иммунного ответа к аденоовирусам, который возникает в результате перенесенного заболевания. Результаты научных исследований показывают, что титры антител к аденоовироному вектору увеличиваются с возрастом, а также отличаются в различных популяциях. Так, например, высокие 10 уровни серопревалентности к аденоовирусу человека 5 серотипа наблюдаются у 40-45% населения в США и до 90% населения стран Африки к югу от Сахары (Nwanegbo E, Vardas E, Gao W, et al. Prevalence of neutralizing antibodies to adenoviral serotypes 5 and 35 in the adult populations of The Gambia, South Africa, and the United States. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2004;11(2):351-357; Dudareva M, Andrews L, Gilbert SC, et al. Prevalence of serum 15 neutralizing antibodies against chimpanzee adenovirus 63 and human adenovirus 5 in Kenyan children, in the context of vaccine vector efficacy. Vaccine. 2009;27(27):3501-3504; Zhang S, Huang W, Zhou X, Zhao Q, Wang Q, Jia B. Seroprevalence of neutralizing antibodies to human adenoviruses type-5 and type-26 and chimpanzee adenovirus type-68 in healthy Chinese adults. J. Med. Virol. 2013;85(6):1077-1084).

Нейтрализующие антитела к вектору значительно снижают специфический иммунный 20 ответ против трансгена и могут отрицательно влиять на эффективность вакцинации.

Авторы изобретения на основании проведенных исследований определили серотипы аденоовирусных векторов, которые настолько отличаются генетически, чтобы при последовательной иммунизации не влиять на генерацию антиген-специфических 25 иммунных ответов против вакцинного антигена. Для дальнейшей работы было выбрано 3 вириуса - аденоовирус человека 26 серотипа, аденоовирус человека 5 серотипа и аденоовирус обезьянь 25 серотипа. Затем были отобраны вирусные клонсы, отличающиеся повышенными ростовыми свойствами и на их основании, с помощью генно-инженерных подходов, были разработаны рекомбинантные аденоовирусные векторы.

Таким образом, использование комбинации нескольких типов генетических векторов 30 позволило создать арсенал фармацевтических средств, что обеспечит преодоление трудностей, связанных с наличием предсуществующего иммунного ответа к некоторым аденоовирусам у людей, в частности к аденоовирусам человека 5-го серотипа.

При этом появляется возможность использования изобретения, по которому вариант 35 фармацевтического средства выбирается после оценки иммунного статуса пациента к серотипам аденоовирусных векторов, входящих в состав средства (аденоовирусу человека 26 серотипа, аденоовирусу человека 5 серотипа, аденоовирусу обезьян 25 серотипа).

С помощью методов генной инженерии в рекомбинантные аденоовирусные векторы 40 вставили экспрессионные кассеты, которые включали ген вакцинного антигена и элементы регуляции экспрессии (промотор, сигнал полиаденилирования). Схема экспрессионной кассеты представлена на фигуре 1.

Для достижения максимально эффективной индукции иммунных реакций авторы 45 разработали различные варианты экспрессионных кассет.

В качестве антигена во всех кассетах был выбран S белок (Spikeprotein) вируса SARS-

CoV-2, который был оптимизирован для экспрессии в клетках млекопитающих. S белок является одним из структурных белков коронавируса. Он экспонирован на поверхности вирусной частицы и отвечает за связывание с рецептором ангиотензин-превращающего фермента II типа (Angiotensin-converting enzyme 2, ACE2). Результаты проведенных исследований показали, что к данному белку формируются вирус-нейтрализующие антитела, благодаря чему, он является перспективным антигеном для создания фармацевтического средства.

Экспрессионная кассета SEQ ID NO:1 состоит из CMV промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования. CMV промотор - это промотор ранних генов цитомегаловируса, который обеспечивает конститутивную экспрессию во множестве типов клеток. Однако сила экспрессии гена-мишени, управляемая промотором CMV, варьируется в зависимости от типов клеток. Кроме того, было показано, что уровень экспрессии трансгена под контролем CMV-промотора уменьшается с увеличением времени культивирования клеток из-за подавления экспрессии генов, которое связано с метилированием ДНК [Wang W., Jia YL., Li YC., Jing CQ., Guo X., Shang XF., Zhao CP., Wang TY. Impact of different promoters, promoter mutation, and an enhancer on recombinant protein expression in CHO cells. // Scientific Reports - 2017. - Vol. 8. - P. 10416].

Экспрессионная кассета SEQ ID NO:2 состоит из CAG промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования. CAG-промотор - синтетический промотор, который включает ранний энхансер промотора CMV, промотор β-актина курицы и химерный инtron (β-актина курицы и β-глобин кролика). Экспериментально показано, что транскрипционная активность промотора CAG выше, чем у промотора CMV.[Yang C.Q., Li X.Y., Li Q., Fu S.L., Li H., Guo Z.K., Lin J.T., Zhao S.T. Evaluation of three different promoters driving gene expression in developing chicken embryo by using in vivo electroporation. // Genet. Mol. Res. - 2014. - Vol. 13. - P. 1270-1277].

Экспрессионная кассета SEQ ID NO:3 состоит из EF1 промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования. Промотор EF1 - промотор человеческого эукариотического фактора элонгации трансляции 1β (EF-1α). Промотор является конститутивно активным в широком диапазоне типов клеток [PMID: 28557288. The EF-1 α promoter maintains high-level transgene expression from episomal vectors in transfected CHO-K1 cells]. Ген EF-1 α кодирует фактор элонгации-1 α , который является одним из наиболее распространенных белков в эукариотических клетках и экспрессируется почти во всех типах клеток млекопитающих. Данный промотор EF-1 α часто активен в клетках, в которых вирусные промоторы не способны экспрессировать контролируемые гены, и в клетках, в которых вирусные промоторы постепенно заглушаются.

Экспрессионная кассета SEQ ID NO:4 состоит из CMV промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования.

Таким образом, в результате проведенной работы было разработано 3 варианта фармацевтического средства.

1. Фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором удалены области E1 и E3, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus 5-го серотипа, в

котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

2. Фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus* 26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *simian adenovirus* 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

3. Фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *simian adenovirus* 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus* 5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

При этом компоненты фармацевтического средства могут находиться в разных упаковках.

Также авторами изобретения были разработаны жидккая и лиофилизированная формы фармацевтического средства.

Кроме того, авторами изобретения были подобраны варианты буферного раствора, которые позволяют хранить разработанную фармацевтическое средство как в замороженном виде при температуре ниже -18°C, так и в виде лиофилизата при температуре от +2°C до +8°C.

Также был разработан способ применения фармацевтического средства для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, включающий использование компонента 1 и 2 в эффективном количестве последовательно с интервалом не менее 1 недели.

Осуществление изобретения подтверждается следующими примерами.

Пример 1.

Получение экспрессионного вектора, содержащего геном рекомбинантного штамма *human adenovirus* 26-го серотипа.

На первом этапе работы был разработан дизайн плазмидной конструкции pAd26-Ends, несущей два участка, гомологичных геному аденоовириуса человека 26 серотипа (два плеча гомологии), и ген устойчивости к ампициллину. Одно плечо гомологии представляет собой начало генома аденоовириуса человека 26-го серотипа (от левого инвертированного концевого повтора до E1-области) и последовательность вирусного генома, включающую pIX белок. Второе плечо гомологии содержит последовательность нуклеотидов после ORF3 E4 области до конца генома. Синтез конструкции pAd26-Ends осуществлялся компанией ЗАО «Евроген» (Москва).

Выделенную из вирионов ДНК аденоовириуса человека 26-го серотипа смешивали с pAd26-Ends. В результате гомологичной рекомбинации между pAd26-Ends и вирусной ДНК была получена плазмида pAd26-dIE1, несущая геном аденоовириуса человека 26-го

серотипа с делетированной E1-областью.

Затем, в полученной плазмиде pAd26-dlE1 с использованием стандартных методов клонирования была заменена последовательность, содержащая открытую рамку считывания 6 (ORF6-Ad26), на аналогичную последовательность из генома аденоовириуса человека 5-го серотипа для того, чтобы аденоовириус человека 26-го серотипа был способен эффективно размножаться в культуре клеток HEK293. В результате была получена плазмода pAd26-dlE1-ORF6-Ad5.

Далее с использованием стандартных генно-инженерных методов в сконструированной плазмиде pAd26-dlE1-ORF6-Ad5 была удалена E3-область генома аденоовириуса (примерно 3321 п.о. между генами pVIII и U-exon) для увеличения пакующей емкости вектора. В результате этого был получен рекомбинантный вектор pAd26-only-null на основе генома аденоовириуса человека 26-го серотипа с открытой рамкой считывания ORF6 аденоовириуса человека 5-го серотипа и с делецией E1 и E3-областей. В качестве материнской последовательности human adenovirus 26-го серотипа была использована последовательность SEQ ID NO:5.

Кроме того, авторами было разработано несколько дизайнов экспрессионной кассеты:

- экспрессионная кассета SEQ ID NO:1 состоит из CMV промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования;
- экспрессионная кассета SEQ ID NO:2 состоит из CAG промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования;
- экспрессионная кассета SEQ ID NO:3 состоит из EF1 промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования.

На основе плазмидной конструкции pAd26-Ends генно-инженерным методом были получены конструкции pArms-26-CMV-S-CoV2, pArms-26-CAG-S-CoV2, pArms-26-EF1-S-CoV2, содержащие экспрессионные кассеты SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:3, соответственно, а также несущие плечи гомологии генома аденоовириуса 26-го серотипа. После этого, конструкции pArms-26-CMV-S-CoV2, pArms-26-CAG-S-CoV2, pArms-26-EF1-S-CoV2 линеаризовали по уникальному сайту гидролиза между плечами гомологии, каждую плазмиду смешивали с рекомбинантным вектором pAd26-only-null. В результате гомологичной рекомбинации были получены плазмиды pAd26-only-CMV-S-CoV2, pAd26-only-CAG-S-CoV2, pAd26-only-EF1-S-CoV2, несущие геном рекомбинантного аденоовириуса человека 26 серотипа с открытой рамкой считывания ORF6 аденоовириуса человека 5-го серотипа и с делецией E1 и E3-областей, с экспрессионной кассетой SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:3, соответственно.

На четвертом этапе, плазмиды pAd26-only-CMV-S-CoV2, pAd26-only-CAG-S-CoV2, pAd26-only-EF1-S-CoV2 гидролизовали специфическими эндонуклеазами рестрикции для удаления векторной части. Полученными препаратами ДНК трансфицировали клетки культуры HEK293.

Таким образом, был получен экспрессионный вектор, содержащий геном рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

Пример 2.

Получение иммунобиологического средства в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ

ID NO:3.

На данном этапе работы экспрессионные векторы, полученные в примере 1, очищали методом анионообменной и эксклюзионной хроматографии. Готовая супензия содержала аденоовирические частицы в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства или в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

Таким образом, были получены следующие иммунобиологические средства на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus 26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5:

10 1. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:1 (Ad26-CMV-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

15 2. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:1 (Ad26-CMV-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

20 3. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 с экспрессионной кассетой, содержащей CAG промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:2 (Ad26-CAG-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

25 4. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 с экспрессионной кассетой, содержащей CAG промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:2 (Ad26-CAG-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

30 5. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 с экспрессионной кассетой, содержащей EF1 промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:3 (Ad26-EF1-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

35 6. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5 с экспрессионной кассетой, содержащей EF1 промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:3 (Ad26-EF1-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

40 Каждое из представленных иммунобиологических средств является компонентом 1 в варианте 1 и в варианте 2 разработанного фармацевтического средства.

Пример 3.

Получение экспрессионного вектора, содержащего геном рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа.

На первом этапе работы был разработан дизайн плазмидной конструкции pSim25-Ends, несущей два участка, гомологичных геному аденоовируса обезьян 25-го серотипа (два плеча гомологии). Одно плечо гомологии представляет собой начало генома аденоовируса обезьян 25-го серотипа (от левого инвертированного концевого повтора до E1-области) и последовательность от конца E1-области до pIVa2 белка. Второе плечо гомологии содержит последовательность конца генома аденоовируса, включая правый инвертированный концевой повтор. Синтез конструкции pSim25-Ends осуществлялся компанией ЗАО «Евроген» (Москва).

Выделенную из вирионов ДНК аденоовируса обезьян 25-го серотипа смешивали с pSim25-Ends. В результате гомологичной рекомбинации между pSim25-Ends и вирусной ДНК была получена плазмида pSim25-dlE1, несущая геном аденоовируса обезьян 25-го серотипа с делецией E1-областью.

Далее с использованием стандартных генно-инженерных методов в сконструированной плазмиде pSim25-dlE1 была удалена E3 область генома аденоовируса (3921 п.о. от начала гена 12,5K до гена 14,7K) для увеличения пакующей емкости вектора. В результате была получена плазмидная конструкция pSim25-null, кодирующая полный геном аденоовируса обезьян 25-го серотипа с делецией E1 и E3-областей. В качестве материнской последовательности simian adenovirus 25-го серотипа была использована последовательность SEQ ID NO:6.

Кроме того, авторы разработали несколько дизайнов экспрессионной кассеты:

- экспрессионная кассета SEQ ID NO:4 состоит из CMV промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования;
- экспрессионная кассета SEQ ID NO:2 состоит из CAG промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования;
- экспрессионная кассета SEQ ID NO:3 состоит из EF1 промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования.

Далее генно-инженерным методом на основе плазмидной конструкции pSim25-Ends были получены конструкции pArms-Sim25-CMV-S-CoV2, pArms-Sim25-CAG-S-CoV2, pArms-Sim25-EF1-S-CoV2, содержащие экспрессионные кассеты SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:3, соответственно, а также несущие плечи гомологии из генома аденоовируса обезьян 25-го серотипа. После этого, конструкции pArms-Sim25-CMV-S-CoV2, pArms-Sim25-CAG-S-CoV2, pArms-Sim25-EF1-S-CoV2 линеаризовали по уникальному сайту гидролиза между плечами гомологии, каждую плазмиду смешивали с рекомбинантным вектором pSim25-null. В результате гомологичной рекомбинации были получены рекомбинантные плазмидные векторы pSim25-CMV-S-CoV2, pSim25-CAG-S-CoV2, pSim25-EF1-S-CoV2, содержащие полный геном аденоовируса обезьян 25-го серотипа с делецией E1 и E3-областей и экспрессионную кассету SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:3, соответственно.

На третьем этапе, плазмиды pSim25-CMV-S-CoV2, pSim25-CAG-S-CoV2, pSim25-EF1-S-CoV2 гидролизовали специфической эндонуклеазой рестрикции для удаления векторной части. Полученными препаратами ДНК трансфицировали клетки культуры HEK293. Полученный материал был использован для накопления препаративных количеств рекомбинантных аденоовирусов.

В результате были получены рекомбинантные аденоовирусы человека 25 серотипа, содержащие ген S белка вируса SARS-CoV-2: simAd25-CMV-S-CoV2 (содержащий экспрессионную кассету SEQ ID NO:4), simAd25-CAG-S-CoV2 (содержащий

экспрессионную кассету SEQ ID NO:2), simAd25-EF1-S-CoV2 (содержащий экспрессионную кассету SEQ ID NO:3).

Таким образом, был получен экспрессионный вектор, содержащий геном рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

Пример 4.

Получение иммунобиологического средства в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

На данном этапе работы экспрессионные векторы, полученные в примере 3, очищали методом анионообменной и эксклюзационной хроматографии. Готовая суспензия содержала аденоовирусные частицы в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства или в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

Таким образом, были получены следующие иммунобиологические средства на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области:

1. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:1 (simAd25-CMV-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

2. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:1 (simAd25-CMV-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

3. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CAG промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:2 (simAd25-CAG-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

4. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CAG промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:2 (simAd25-CAG-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

5. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей EF1 промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:3 (simAd25-EF1-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

6. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного штамма simian adenovirus 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей EF1 промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, SEQ ID NO:3 (simAd25-EF1-S-CoV2) в буферном растворе для

лиофилизированной формы фармацевтического средства.

Каждое из представленных иммунобиологических средств является компонентом 2 в варианте 1 разработанного фармацевтического средства и компонентом 1 в варианте 3 разработанного фармацевтического средства.

⁵ Пример 5.

Получение экспрессионного вектора, содержащего геном рекомбинантного штамма human adenovirus5-го серотипа.

На первом этапе работы был разработан дизайн плазмидной конструкции pAd5-
Ends, несущей два участка, гомологичных геному аденоовириуса человека 5-го серотипа

¹⁰ (два плеча гомологии). Одно плечо гомологии представляет собой начало генома аденоовириуса человека 5-го серотипа (от левого инвертированного концевого повтора до E1-области) и последовательность вирусного генома, включающую pIX белок.

Второе плечо гомологии содержит последовательность нуклеотидов после ORF3 E4-области до конца генома. Синтез конструкции pAd5-Ends осуществлялся компанией
¹⁵ ЗАО «Евроген» (Москва).

Выделенную из вирионов ДНК аденоовириуса человека 5-го серотипа смешивали с pAd5-Ends. В результате гомологичной рекомбинации между pAd5-Ends и вирусной ДНК была получена плазмида pAd5-dlE1, несущая геном аденоовириуса человека 5-го серотипа с делецией E1-областью.

²⁰ Далее с использованием стандартных генно-инженерных методов в сконструированной плазмиде pAd5-dlE1 была удалена E3 область генома аденоовириуса (2685 п.о. от конца гена 12,5K до начала последовательности U-exon) для увеличения пакующей емкости вектора. В результате этого был получен рекомбинантный плазмидный вектор pAd5-too-null на основе генома аденоовириуса человека 5-го серотипа
²⁵ с делецией E1 и E3 областей генома. В качестве материнской последовательности human adenovirus 5-го серотипа была использована последовательность SEQ ID NO:7.

Кроме того, авторы разработали несколько дизайнов экспрессионной кассеты:

- экспрессионная кассета SEQ ID NO:1 состоит из CMV промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования;

³⁰ - экспрессионная кассета SEQ ID NO:2 состоит из CAG промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования;

- экспрессионная кассета SEQ ID NO:3 состоит из EF1 промотора, гена S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнала полиаденилирования.

Далее генно-инженерным методом на основе плазмидной конструкции pAd5-Ends
³⁵ были получены конструкции pArms-Ad5-CMV-S-CoV2, pArms-Ad5-CAG-S-CoV2, pArms-Ad5-EF1-S-CoV2, содержащие экспрессионные кассеты SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:3, соответственно, а также несущие плечи гомологии из генома аденоовириуса 5-го серотипа.

После этого, конструкции pArms-Ad5-CMV-S-CoV2, pArms-Ad5-CAG-S-CoV2, pArms-
⁴⁰ Ad5-EF1-S-CoV2 лианеризовали по уникальному сайту гидролиза между плечами гомологии, каждую плазмиду смешивали с рекомбинантным вектором pAd5-too-null. В результате гомологичной рекомбинации были получены плазмиды pAd5-too-CMV-S-CoV2, pAd5-too-GAC-S-CoV2, pAd5-too-EF1-S-CoV2, несущие геном рекомбинантного аденоовириуса человека 5-го серотипа с делецией E1 и E3 областей и экспрессионные
⁴⁵ кассеты SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:3, соответственно.

На четвертом этапе, плазмиды pAd5-too-CMV-S-CoV2, pAd5-too-GAC-S-CoV2, pAd5-too-EF1-S-CoV2 гидролизовали специфической эндонуклеазой рестрикции для удаления векторной части. Полученным препаратом ДНК трансфицировали клетки культуры

HEK293. Полученный материал был использован для накопления препартивных количеств рекомбинантного аденоовириуса.

В результате были получены рекомбинантные аденоовириусы человека 5-го серотипа, содержащие ген S белка вируса SARS-CoV-2: Ad5-CMV-S-CoV2 (содержащий

- 5 экспрессионную кассету SEQ ID NO:1), Ad5-CAG-S-CoV2 (содержащий экспрессионную кассету SEQ ID NO:2), Ad5-EF1-S-CoV2 (содержащий экспрессионную кассету SEQ ID NO:3).

Таким образом, был получен экспрессионный вектор, содержащий геном рекомбинантного штамма human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1
10 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

Пример 6.

Получение иммунобиологического средства в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus5-го серотипа, в котором
15 делетированы E1 и E3 области со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

На данном этапе работы экспрессионные векторы, полученные в примере 5, очищали методом анионообменной и эксклюзионной хроматографии. Готовая суспензия содержала аденоовириусные частицы в буферном растворе для жидкой формы
20 фармацевтического средства или в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

Таким образом, были получены следующие иммунобиологические средства на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области:

25 1. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиденилирования, SEQ ID NO:1 (Ad5-CMV-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

30 2. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиденилирования, SEQ ID NO:1 (Ad5-CMV-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

35 3. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CAG промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиденилирования, SEQ ID NO:2 (Ad5-CAG-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства.

40 4. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей CAG промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиденилирования, SEQ ID NO:2 (Ad5-CAG-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

45 5. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного human adenovirus5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей EF1 промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиденилирования, SEQ ID NO:3 (Ad5-EF1-S-CoV2) в буферном растворе для жидкой

формы фармацевтического средства.

6. Иммунобиологическое средство на основе генома рекомбинантного *human adenovirus5*-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области с экспрессионной кассетой, содержащей EF1 промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал 5 полиаденилирования, SEQ ID NO:3 (Ad5-EF1-S-CoV2) в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства.

Каждое из представленных иммунобиологических средств является компонентом 1 в варианте 1 и в варианте 2 разработанного фармацевтического средства.

Каждое из представленных иммунобиологических средств является компонентом 2

10 в варианте 1 и в варианте 3 разработанного фармацевтического средства.

Пример 7.

Получение буферного раствора.

Разработанное фармацевтическое средство по данному изобретению состоит из двух компонентов, находящихся в разных флаконах. При этом каждый компонент 15 представляет собой иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденовируса с экспрессионной кассетой в буферном растворе.

Авторами изобретения был подобран состав буферного раствора, обеспечивающий стабильность рекомбинантных аденовирусных частиц. Данный раствор включает:

1. Трис(гидроксиметил)аминометан (Трис), который необходим для поддержания 20 pH раствора.

2. Хлорид натрия, который добавляют для достижения необходимой ионной силы и осмолярности.

3. Сахарозу, которая используется в качестве криопротектора.

4. Магния хлорида гексагидрат, который необходим в качестве источника

25 двухвалентных катионов.

5. ЭДТА, который используется в качестве ингибитора свободно-радикального окисления.

6. Полисорбат-80, который используется в качестве поверхностно-активного вещества.

30 7. Этанол 95%, который применяют в качестве ингибитора свободно-радикального окисления.

8. Воду, которая используется в качестве растворителя.

Авторами изобретения было разработано 2 варианта буферного раствора: для жидкой формы фармацевтического средства и для лиофилизированной формы 35 фармацевтического средства.

Для определения концентрации веществ, входящих в состав буферного раствора для жидкой формы фармацевтического средства, было получено несколько вариантов экспериментальных групп (таблица 1). В каждый из полученных буферных растворов добавляли один из компонентов фармацевтического средства:

40 1. Иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденовируса человека 26-го серотипа с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, $1*10^{11}$ вирусных частиц.

2. Иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденовируса человека 45 5-го серотипа с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, $1*10^{11}$ вирусных частиц.

3. Иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденовируса обезьяны 25-го серотипа с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка

вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, 1×10^{11} вирусных частиц.

Таким образом, была проверена стабильность каждого из серотипов аденоовирусов, входящих в состав фармацевтического средства. Полученные фармацевтические средства хранили при температуре -18°C и -70°C в течение 3 месяцев, затем размораживали и оценивали изменение титрарекомбинантных аденоовирусов.

Таблица 1 - Состав экспериментальных буферных растворов для жидкой формы фармацевтического средства.

Таблица 1.

№ группы	Состав буферного раствора							
	Трис (мг)	Хлорид натрия (мг)	Сахароза (мг)	Магния хлорида гексагидрат (мг)	ЭДТА (мг)	Полисорбат-80 (мг)	Этанол 95% (мг)	Вода
1	0,968	2,19	25	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
2	1,815	2,19	25	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
3	1,21	1,752	25	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
4	1,21	3,285	25	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
5	1,21	2,19	20	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
6	1,21	2,19	37,5	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
7	1,21	2,19	25	0,0816	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
8	1,21	2,19	25	0,153	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл
9	1,21	2,19	25	0,102	0,0152	0,25	0,0025	до 0,5 мл
10	1,21	2,19	25	0,102	0,0285	0,25	0,0025	до 0,5 мл
11	1,21	2,19	25	0,102	0,019	0,2	0,0025	до 0,5 мл
12	1,21	2,19	25	0,102	0,019	0,375	0,0025	до 0,5 мл
13	1,21	2,19	25	0,102	0,019	0,25	0,002	до 0,5 мл
14	1,21	2,19	25	0,102	0,019	0,25	0,00375	до 0,5 мл
15	1,21	2,19	25	0,102	0,019	0,25	0,0025	до 0,5 мл

Результаты проведенного эксперимента показали, что титр рекомбинантных аденоовирусов после их хранения в буферном растворе для жидкой формы фармацевтического средства при температурах -18°C и -70°C в течение 3 месяцев не изменился.

Таким образом, разработанный буферный раствор для жидкой формы фармацевтического средства обеспечивает стабильность всех компонентов разработанного фармацевтического средства в следующем диапазоне действующих веществ (масс %):

Трис: от 0,1831 масс. % до 0,3432 масс. %;

Хлорид натрия: от 0,3313 масс. % до 0,6212 масс. %;

Сахароза: от 3,7821 масс. % до 7,0915 масс. %;

Магния хлорида гексагидрат: от 0,0154 масс. % до 0,0289 масс. %;

ЭДТА: от 0,0029 масс. % до 0,0054 масс. %;

Полисорбат-80: от 0,0378 масс. % до 0,0709 масс. %;

Этанол 95%: от 0,0004 масс. % до 0,0007 масс. %;

Растворитель: остальное.

Для определения концентрации веществ, входящих в состав буферного раствора для лиофилизированной формы фармацевтического средства, было получено несколько вариантов экспериментальных групп (таблица 2). В каждый из полученных буферных растворов добавляли один из компонентов фармацевтического средства:

1. Иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденоовириуса человека 26-го серотипа с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, 1×10^{11} вирусных частиц.

2. Иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденоовируса человека 5-го серотипа с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, 1×10^{11} вирусных частиц.

5 3. Иммунобиологическое средство на основе рекомбинантного аденоовируса обезьяны 25-го серотипа с экспрессионной кассетой, содержащей CMV промотор, ген S белка вируса SARS-CoV-2 и сигнал полиаденилирования, 1×10^{11} вирусных частиц.

10 Таким образом, была проверена стабильность каждого из серотипов аденоовирусов, входящих в состав фармацевтического средства. Полученные фармацевтические средства хранили при температуре +2 и +8°C в течение 3 месяцев, затем размораживали и оценивали изменение титра рекомбинантных аденоовирусов.

Таблица 2 - Состав экспериментальных буферных растворов.

Таблица 2.

№ группы	Состав буферного раствора						
	Трис (мг)	Хлорид на- трия (мг)	Сахароза (мг)	Магния хлорида гексагидрат (мг)	ЭДТА (мг)	Полисорбат-80 (мг)	Вода
1	0,1936	1,403	73,5	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл
2	0,363	1,403	73,5	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл
3	0,242	1,1224	73,5	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл
4	0,242	2,1045	73,5	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл
5	0,242	1,403	58,8	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл
6	0,242	1,403	110,25	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл
7	0,242	1,403	73,5	0,01632	0,0038	0,05	до 1 мл
8	0,242	1,403	73,5	0,0306	0,0038	0,05	до 1 мл
9	0,242	1,403	73,5	0,0204	0,00304	0,05	до 1 мл
10	0,242	1,403	73,5	0,0204	0,0057	0,05	до 1 мл
11	0,242	1,403	73,5	0,0204	0,0038	0,04	до 1 мл
12	0,242	1,403	73,5	0,0204	0,0038	0,075	до 1 мл
13	0,242	1,403	73,5	0,0204	0,0038	0,05	до 1 мл

Результаты проведенного эксперимента показали, что титр рекомбинантных аденоовирусов после их хранения в буферном растворе для лиофилизированной формы фармацевтического средства при температуре +2°C и +8 °C в течение 3 месяцев не изменился.

Таким образом, разработанный буферный раствор для лиофилизированной формы вакцины обеспечивает стабильность всех компонентов разработанного фармацевтического средства в следующем диапазоне действующих веществ:

35 Трис: от 0,0180 масс. % до 0,0338 масс. %;

Хлорид натрия: от 0,1044 масс. % до 0,1957 масс. %;

Сахароза: от 5,4688 масс. % до 10,2539 масс. %;

Магния хлорида гексагидрат: от 0,0015 масс. % до 0,0028 масс. %;

ЭДТА: от 0,0003 масс. % до 0,0005 масс. %;

40 Полисорбат-80: от 0,0037 масс. % до 0,0070 масс. %;

Растворитель: остальное.

Пример 8.

Определение эффективности иммунизации разработанным фармацевтическим средством по оценке гуморального иммунного ответа.

45 Одной из основных характеристик эффективности иммунизации является титр антител. В примере представлены данные, касающиеся изменения титра антител против гликопротеина SARS-CoV-2 через 21 день после введения фармацевтического средства лабораторным животным.

В эксперименте использовались млекопитающие - мыши линии BALB/c, самки 18г. Все животные были разделены на 31 группу по 5 животных, которым внутримышечно вводили компонент 1 фармацевтического средства в дозе 10^8 вирусных частиц/100мкл, а затем с интервалом в 2 недели компонент 2 в дозе 10^8 вирусных частиц/100мкл. Таким образом, были получены следующие группы животных:

- 1) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 2) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 3) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 4) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 5) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 6) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 7) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 8) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 9) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 10) Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
- 11) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 12) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 13) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 14) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 15) Ad26- CAG-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 16) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 17) Ad26-EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 18) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 19) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 20) Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2);
- 21) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 22) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 23) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 24) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 25) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 26) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 27) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 28) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 29) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 30) simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
- 31) фосфатно-солевой буфер.

Через три недели у животных отбирали кровь из хвостовой вены и выделяли сыворотку крови. Титр антител определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) по следующему протоколу:

- 1) Белок (S) адсорбировали на лунках 96-луночного планшета для ИФА в течение 16 часов при температуре +4°C.
- 2) Далее для избавления от неспецифического связывания осуществилась "забивка" планшета 5 % молоком, растворенным в TPBS в объеме 100 мкл на лунку. Инкубировали на шейкере при температуре 37°C на протяжении часа.
- 3) Методом 2-х кратных разведений разводили образцы сыворотки иммунизированных мышей. Всего было приготовлено 12 разведений каждого образца.
- 4) Добавляли по 50 мкл каждого разведенного образца сыворотки в лунки планшета.
- 5) Далее проводили инкубацию в течение 1 часа при 37°C.

6) После инкубации проводилась трехкратная промывка лунок фосфатным буфером.

7) Затем добавляли вторичные антитела против иммуноглобулинов мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена.

8) Далее проводили инкубацию в течение 1 часа при 37°C.

9) После инкубации проводилась трехкратная промывка лунок фосфатным буфером.

10) Затем добавили раствор тетраметилбензидина (TMB), который является субстратом пероксидазы хрена и в результате реакции превращается в окрашенное соединение. Реакцию останавливали через 15 минут добавлением серной кислоты. Далее с помощью спектрофотометра измеряли оптическую плотность раствора (OD) в каждой лунке при длине волны 450 нм.

Титр антител определяли, как последнее разведение, в котором оптическая плотность раствора была достоверно выше, чем в группе отрицательного контроля. Полученные результаты (среднее геометрическое значение) представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Титр антител к белку S в сыворотке крови мышей (среднее геометрическое значение титра антител).

Таблица 3

№	Название группы животных	Титр антител
20	1 Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	33779
	2 Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	29407
	3 Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	33779
25	4 Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	5 Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	6 Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	7 Ad26- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	33779
30	8 Ad26- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	9 Ad26- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	33779
	10 Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2)	0
35	11 Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	12 Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	13 Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S -CoV2 (компонент 2)	33779
40	14 Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	33779
	15 Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S -CoV2 (компонент 2)	33779
	16 Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	33779
45	17 Ad26- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	18 Ad26- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	33779
	19 Ad26- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	33779
	20 Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2)	0
	21 Ad25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	33779

	22	simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	29407
	23	simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	25600
	24	simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	33779
5	25	simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	29407
	26	simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	29407
	27	simAd25- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	33779
10	28	simAd25- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2)	38802
	29	simAd25- EF1 -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2)	33779
	30	simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2)	0
	31	фосфатно-солевой буфер	0

Как видно из представленных данных, все варианты фармацевтического средства индуцируют гуморальный иммунный ответ к гликопротеину SARS-CoV-2.

Пример 9.

Определение эффективности иммунизации разработанным фармацевтическим средством по сравнению с контрольным препаратом, содержащим один серотип рекомбинантного аденоовириуса.

Целью данного эксперимента являлось сравнение титра антител к S белку вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови мышей после их иммунизации различными вариантами разработанного фармацевтического средства, содержащей 2 различных серотипа рекомбинантного аденоовириуса, с титрами антител к S белку вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови мышей после их двукратной иммунизации контрольным препаратом, содержащим один серотип рекомбинантного аденоовириуса.

Для данного эксперимента использовали мышей линии BalB/c, 18 г., 35 шт.

Животные были иммунизированы с интервалом в 2 недели:

- 1) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2), 5×10^6 в.ч.;
- 2) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2), 5×10^6 в.ч.;
- 3) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2), 5×10^6 в.ч.;
- 4) Ad26-CMV-S-CoV2, Ad26-CMV-S-CoV2, 5×10^6 в.ч.;
- 5) Ad5-CMV-S-CoV2, Ad5-CMV-S-CoV2, 5×10^6 в.ч.;
- 6) simAd25-CMV-S-CoV2, simAd25-CMV-S-CoV2, 5×10^6 в.ч.;
- 7) PBS.

Титр антител к S антигену вируса SARS-CoV-2 определяли методом ИФА через 1 месяц после последней иммунизации. Результаты эксперимента представлены в таблице.

Таблица 4 - Титр антител к S антигену вируса SARS-CoV-2 в крови мышей через 40 месяцев после их иммунизации разработанным фармацевтическим средством и контрольными препаратами.

Таблица 4.

Название группы	Титр антител
Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	3104
Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	2702
simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2)	3104
Ad26-CMV-S-CoV2, Ad26-CMV-S-CoV2	588
Ad5-CMV-S-CoV2, Ad5-CMV-S-CoV2	512

simAd25-CMV-S-CoV2, simAd25-CMV-S-CoV2	446
PBS	0

Как видно из представленных данных иммунизация животных фармацевтическим средством приводит к эффекту потенцирования иммунных реакций. Данный эффект выражается в том, что титр антител к S белку вируса SARS-Co-2 в сыворотке крови животных, иммунизированных фармацевтическим средством, содержащим два типа вектора значительно больше, чем сумма титров антител в группах, которым вводили один тип вектора.

Пример 10.

Определение эффективности иммунизации разработанным фармацевтическим средством по оценке доли пролиферирующих лимфоцитов.

Напряженность клеточного иммунитета в отношении коронавируса SARS-CoV2 оценивали по количеству пролиферирующих CD4+ и CD8+ лимфоцитов периферической крови лабораторных мышей в культуре *in vitro* после повторной рестимуляции клеток рекомбинантным RBD фрагментом S белка данного коронавируса. Для определения количества пролиферирующих CD4+ и CD8+ лимфоцитов использовали метод окраски клеток красителем CFSE. Принцип этого метода заключается в том, что флуоресцентный нетоксичный краситель CFSE способен беспрепятственно проникать в клетки. После стимуляции клеток антигеном лимфоциты начинают пролиферировать, при этом краситель, находящийся в родительской клетке, распределяется поровну между дочерними клетками. Концентрация метки, а, следовательно, и интенсивность флуоресценции, снижаются ровно в два раза. Поэтому делящиеся клетки легко отслеживать по уменьшению их флуоресценции.

В эксперименте использовались мыши линии C57BL/6. Все животные были разделены на 31 группу (по 3 животных), которым внутримышечно вводили компонент 1 фармацевтического средства в дозе 10^8 вирусных частиц/100мкл, а затем с интервалом в 2 недели компонент 2 в дозе 10^8 вирусных частиц/100мкл. Таким образом, были получены следующие группы животных:

- 1) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 2) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 3) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 4) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 5) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 6) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 7) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 8) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 9) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 10) Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
- 11) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 12) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 13) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 14) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 15) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 16) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 17) Ad26-EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 18) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 19) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);

- 20) Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2);
- 21) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 22) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 23) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 5 24) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 25) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 26) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 27) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 28) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 10 29) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 30) simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
- 31) фосфатно-солевой буфер.

На 8 день эксперимента животных усыпляли. Из селезенки выделяли лимфоциты методом центрифугирования в градиенте фиколла-урографина. Затем выделенные клетки окрашивали CFSE по методике (B.J. Quahet. al., Monitoringlymphocyterproliferation invitroandinvivowiththeintracellularfluorescentdyecarboxyfluoresceindiacetatesuccinimidylester, NatureProtocols, 2007, № 2(9), 2049-2056) и культивировали в присутствие антигена (гликопротеин S вируса SARS-CoV-2). Далее клетки анализировали методом проточной цитофлуориметрии. Полученные результаты представлены на Фиг. 2, 3. Таким образом, можно заключить, что все варианты разработанного фармацевтического средства индуцируют формирование антиген-специфического иммунного ответа (как CD4+, так и CD8+).

Пример 11.

Исследование протективной активности разработанного фармацевтического средства против COVID-19 на лабораторных животных.

Протективную эффективность разработанного фармацевтического средства против COVID-19 оценивали на модели летальной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, у сирийских хомячков с индуцированным иммунодефицитом.

Животные были разделены на 31 группу по 8 шт/группе и иммунизированы двукратно: компонентом 1 (в дозе 10^8 вирусных частиц/животное) и компонентом 2 разработанного фармацевтического средства (в дозе 10^8 вирусных частиц/животное) с интервалом в 21 день.

Таким образом, были получены следующие группы животных:

- 35 1) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 2) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 3) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 4) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 5) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 40 6) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 7) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 8) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 9) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 10) Ad26- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
- 45 11) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 12) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
- 13) Ad26-CMV-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
- 14) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
- 15) Ad26- CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2)

- 16) Ad26-CAG -S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
 17) Ad26-EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
 18) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
 19) Ad26- EF1-S-CoV2 (компонент 1), simAd25-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
 5 20) Ad26- null (компонент 1), simAd25-null (компонент 2)
 21) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
 22) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
 23) simAd25-CMV-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
 24) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
 10 25) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
 26) simAd25- CAG -S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
 27) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CMV-S-CoV2 (компонент 2);
 28) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-CAG-S-CoV2 (компонент 2);
 29) simAd25- EF1-S-CoV2 (компонент 1), Ad5-EF1-S-CoV2 (компонент 2);
 15 30) simAd25- null (компонент 1), Ad5-null (компонент 2);
 31) фосфатно-солевой буфер.

Введение иммуносупрессантов начинали на 7 сутки после бустирующей иммунизации, заражали животных вирусом SARS-CoV-2 на 14 сутки после бустирующей иммунизации интраназально в дозе 10^6 TCID50 на животное, в объеме 50 мкл.

20 В течение эксперимента масса тела контрольных не вакцинированных животных после заражения стремительно снижалась (на 10 день масса тела животных снизилась в среднем на 32% от исходной). В то же время масса тела животных, иммунизированных всеми вариантами фармацевтического средства в первые дни после заражения незначительно снижалась, а затем возрастила (на 10 день масса тела животных 25 увеличилась в среднем на 11% от исходной).

На фиг. 4 представлены данные выживаемости животных после заражения. По результатам исследования было показано, что иммунизация животных всеми вариантами фармацевтического средства позволяет защитить 100% животных с индуцированным иммунодефицитом от летальной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. В 30 контрольной группе не вакцинированных животных наблюдается 100% летальность.

Таким образом, на модели сирийских хомяков с индуцированным иммунодефицитом было показано, что иммунизация животных разработанным фармацевтическим средством позволяет сформировать протективный иммунный ответ, который защищает 100% животных от летальной инфекции, вызванной SARS-CoV-2.

35 Пример 12.

Исследование токсичности разработанного фармацевтического средства.

Исследование токсичности проводили на половозрелых аутбредных мышах обоего пола. Для эксперимента использовали фармацевтическое средство по варианту 1 (компонент1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2), фармацевтическое 40 средство по варианту 2 (компонент1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: simAd25-CMV-S-CoV2) фармацевтическое средство по варианту 3 (компонент1: simAd25-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2). Каждый из компонентов фармацевтического средства вводили внутримышечно и внутривенно в возрастающих дозах: 10^8 в.ч., 10^9 в.ч., 10^{10} 45 в.ч., 10^{11} в.ч.

На протяжении эксперимента гибели животных не зафиксировано, симптомов интоксикации не выявлено. Влияния вакцины на массу тела и массу органов животных не выявлено. Некропсия, проведенная через 14 дней после введения векторной вакцины,

не показала отклонений в структуре внутренних органов мышей. Наличия местно-раздражающего действия, в рамках проведенного эксперимента, не установлено.

Таким образом, данные исследования свидетельствуют об отсутствии токсичности разработанного фармацевтического средства.

⁵ Пример 13.

Исследование иммуногенности разработанного фармацевтического средства по варианту 1 на приматах.

¹⁰ Задача данного эксперимента заключалась в определении напряженности гуморального и клеточного иммунного ответа у приматов после их иммунизации разработанным фармацевтическим средством.

Развитие гуморального иммунного ответа оценивали по увеличению титра антител к белку S вируса SARS-CoV-2 и титра вируснейтрализующих антител в крови приматов. Развитие клеточного иммунного ответа оценивали по количеству пролиферирующих CD4+ и CD8+ Т лимфоцитов.

¹⁵ Для данного исследования было использовано 17 обезьян макак резусов, самцов, весом 2,0-2,2 кг. Животных вакцинировали разработанным фармацевтическим средством по варианту 1 ((компонент 1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2). В терапевтической дозе для человека 10^{11} вирусных частиц/дозу вводили компонент 1, ²⁰ затем через 21 день в терапевтической дозе для человека 10^{11} вирусных частиц/дозу вводили компонент 2.

²⁵ Пробы крови отбирали у всех животных перед вакцинацией (0 день), а также через 7, 14 и 28 дней после вакцинации. Титры специфических антител к домену RBD белка S вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови приматов после их иммунизации разработанным фармацевтическим средством определяли методом ИФА по следующей методике:

³⁰ - на планшеты иммобилизировали антиген RBD вируса SARS-CoV-2 в концентрации 100 нг/лунка;

- готовили двукратные разведения сыворотки крови приматов в буфере для забивки (разведение 1:50 - 1:51200), инкубировали в лунках планшета (стрипа) с ³⁵ иммобилизованным RBD-антителом;

- после промывки образовавшийся комплекс Аг-Ат выявляли коньюгатом, специфическим к Fc-фрагменту IgG антител обезьяны (Anti-MONKEY IgG (gamma chain) (GOAT) Antibody - 617-101-012, ROCKLAND), меченным пероксидазой хрина;

- после промывки к образовавшемуся комплексу добавляли хромогенный субстрат; ⁴⁰ затем ферментативную реакцию останавливали стоп-реагентом.

Развившуюся окраску (абсорбцию) регистрировали на спектрофотометре Multiskan FC (Thermo) в двухволновом режиме: основной фильтр - 450 нм, референс-фильтр - 620 нм.

⁴⁵ Титр IgG антител к S белку вируса SARS-CoV-2 определяли как разведение сыворотки, в котором значение оптической плотности превосходит значение оптической плотности отрицательного контроля (сыворотка крови того же примата до введения препарата) в том же разведении в два раза. Результаты эксперимента представлены на Фиг.5.

Как видно из полученных данных, у всех животных, иммунизированных разработанным фармацевтическим средством, наблюдается повышение титра антител к вирусу SARS-CoV-2. При этом максимальный титр антител наблюдается через неделю ⁵⁰ после введения компонента 2 (на 28 день эксперимента).

Уровень вируснейтрализующих антител в крови макак резус определяли в реакции нейтрализации по подавлению негативных колоний, образованных вирусом SARS-CoV-2 в односуточном монослое клеток Vero C1008 под агаровым покрытием. Реакцию

нейтрализации ставили в варианте: постоянная доза вируса - разведения сыворотки.

В работе использовали исследуемые иммунные сыворотки, полученные от обезьян перед вакцинацией (0 день), через 7, 14 и 28 дней после вакцинации, положительный контрольный образец (сыворотку крови переболевшего человека, заведомо содержащую специфические антитела к вирусу SARS-CoV-2), отрицательный контрольный образец (фетальную телячью сыворотку (ФТС), заведомо не содержащую специфические антитела к вирусу SARS-CoV-2) и культуру вируса SARS-CoV-2.

В реакции нейтрализации использовали разведение 1:5 сывороток крови. Рабочее разведение вирусодержащей суспензии на основе вируса SARS-CoV-2, («антigen») готовили на растворе Хенкса с 2 % ФТС и антибиотиками (стрептомицина сульфат и бензилпенициллина натриевая соль) по 100 ЕД/мл⁻¹ десятикратным шагом. В приготовленном разведении концентрация вируса SARS-CoV-2 составила 200 БОЕ мл⁻¹.

В эксперименте использовали односуточный монослоистый клеток Vero C1008 в

пластиковых флааконах с площадью рабочей поверхности 25 см² фирма «Cellstar®», отобранных для постановки реакции нейтрализации. Смесь равных объемов сыворотки и культуры вируса SARS-CoV-2 инкубировали в течение 60 минут при температуре от 36,5 до 37,5 °C, затем вносили по 0,5 мл на монослоистый клеток VeroC1008, предварительно удалив ростовую среду. После адсорбции комплекса антиген+антитело на клетках в течение 60 минут при температуре от 36,5 до 37,5 °C инокулят декантировали, затем наносили первичное агаровое покрытие, разработанное для вируса SARS-CoV-2, и проводили дальнейшее инкубирование монослоя при температуре от 36,5 до 37,5 °C в течение 2 суток.

Через 2 суток инфицированный монослоистый клеток с целью окрашивания 0,1 %

раствором нейтрального красного наносили вторичное агаровое покрытие и инкубировали в течение 24 часов при температуре от 36,5 до 37,5°C, затем проводили учет негативных колоний во флааконах. За титр антител исследуемой сыворотки принимали высшее разведение сыворотки крови, в котором выявляли подавление негативных колоний, образованных вирусом SARS-CoV-2, на 50 % и более по сравнению с отрицательным контролем.

Результаты эксперимента показали, что уровень вируснейтрализующих антител более 1:5 на 14 день эксперимента наблюдался у 17,6% животных, тогда как на 28 день эксперимента - у 100% животных.

Таким образом, полученные данные показывают, что введение разработанного

фармацевтического средства приводит к развитию гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 у приматов.

Для оценки клеточного иммунного ответа из крови приматов перед вакцинацией (0 день), через 7, 14 и 28 дней выделяли Мононуклеарные клетки методом центрифугирования в градиенте плотности раствора фиколла.

Принцип метода основан на различии в плавучей плотности форменных элементов крови. Раствор полисахарида фиколла в воде имеет градиент с такой плотностью, которая позволяет при центрифугировании разделить клетки периферической крови на мононуклеарную фракцию (МФ), в которую входят лимфоциты, субпопуляция моноцитов, а также бластные гемопоэтические клетки, и фракцию, содержащую гранулоциты и эритроциты. МФ обладают меньшей, чем фиколл, плотностью, что в результате центрифугирования определяет его расположение над слоем фиколла. Плотность гранулоцитов и эритроцитов больше, чем плотность градиента, они проходят через градиент, опускаясь на дно пробирки (Boyum A. Separation of leukocytes from blood

and bone marrow //Scand.J.Clin.Lab.Investig.- 1968.-Vol.21-Suppl.97.p.1-9). Тромбоциты - наименьшие клетки, остаются при правильно выбранной скорости центрифугирования в сыворотке крови, не доходя до раздела фаз «вода»/«фиколл».

После выделения мононуклеарной фракции клеток из периферической крови обезьян

⁵ проводили окраску клеток флуоресцентным красителем CFSE (Invivogen, США) и помещали в лунки планшета.

После высева мононуклеарных клеток в лунки планшета проводили повторную стимуляцию лимфоцитов в условиях *in vitro* добавлением в культуральную среду RBD фрагментом S белка коронавируса (конечная концентрация белка 1мкг/мл). В качестве ¹⁰ отрицательного контроля использовали интактные клетки, к которым не добавляли антиген. Через 72 часа после добавления антигена проводили измерение % пролиферирующих клеток.

Результаты эксперимента представлены на Фиг. 6,7.

Данные, полученные в ходе эксперимента, показали, что максимальная

¹⁵ напряженность клеточного иммунитета, вызванного иммунизацией обезьян разработанным фармацевтическим средством согласно среднему арифметическому значению процента пролиферирующих CD4+ Т-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов наблюдается на 28 день после иммунизации. Данный факт связан с проведением второй (бустирующей) иммунизацией на 21 день исследования (1,2% против 0,1% в ²⁰ неиммунизированной группе). В этом случае антиген-специфические CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты получают дополнительный стимул пролиферации, увеличивая долю своего присутствия в организме вакцинированного животного.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что иммунизация приматов разработанным фармацевтическим средством, в исследуемой дозе и схеме иммунизации ²⁵ позволяет сформировать выраженный (статистически достоверно отличимый от показателей контрольной не иммунизированной группы животных) гуморальный иммунитет, характеризующийся повышением титра антител к S белку вируса SARS-CoV-2 и повышением титра вируснейтрализующих антител, а также сформировать клеточный иммунитет, представленный как CD4+, так и CD8+ лимфоцитами.

³⁰ Пример 14.

Изучение иммуногенности разработанного фармацевтического средства путем оценки клеточного иммунного ответа к антигену вируса SARS-CoV-2 в крови добровольцев в различные сроки после вакцинации.

В рамках клинических исследований разработанного фармацевтического средства ³⁵ по варианту 1 было проведено исследование напряженности клеточного иммунитета.

В исследовании принимало участие 40 добровольцев, которые были иммунизированы:

1) Компонентом 1, а затем через 21 день компонентом 2 жидкой формы разработанного фармацевтического средства по варианту 1 (компонент 1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2), доза 1×10^{11} вирусных частиц (20 человек).

⁴⁰ 2) Компонентом 1, а затем через 21 день компонентом 2 лиофилизированной формы разработанного фармацевтического средства по варианту 1 (компонент 1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2), доза 1×10^{11} вирусных частиц (20 человек).

На 0 день (до введения препарата), 14 день и 28 день у добровольцев отбирали ⁴⁵ образцы крови, из которых выделяли мононуклеарные клетки методом центрифугирования в градиенте плотности раствора фиколла. Далее выделенные клетки окрашивали флуоресцентным красителем CFSE (Invivogen, США) и высевали на лунки планшета. Затем проводили повторную стимуляцию лимфоцитов в условиях *in vitro* добавлением в культуральную среду S белка коронавируса (конечная концентрация

белка 1мкг/мл). В качестве отрицательного контроля использовали интактные клетки, к которым не добавляли антиген. Через 72 часа после добавления антигена проводили измерение % пролиферирующих клеток, а культуральную среду отбирали для измерения количества гамма-интерферона.

- 5 Для определения % пролиферирующих клеток проводили их окрашивание антителами против маркерных молекул Т лимфоцитов CD3, CD4, CD8 (anti-CD3 Pe-Cy7 (BDBiosciences, клон SK7), anti-CD4 APC (BDBiosciences, клон SK3), anti-CD8 PerCP-Cy5.5 (BDBiosciences, клон SK1)). Пролиферирующие (с меньшим количеством красителя CFSE клеток) CD4+ и CD8+ Т лимфоциты определяли в клеточной смеси с
- 10 использованием проточного цитофлюориметра BD FACS AriaIII (BDBiosciences, США). Результатирующий процент пролиферирующих клеток в каждом образце определяли путем вычитания результата, полученного при анализе интактных клеток их результата, полученного при анализе клеток рестимулированных антигеном S коронавируса. Полученные результаты представлены на Фиг.8,9 (для жидкой формы вакцины), на
- 15 Фиг. 10,11 (для лиофилизированной формы вакцины).

Количественное определение концентрации гамма-интерферона (ИФН γ) в культуральной среде мононуклеарных клеток крови человека через 72 часа после рестимуляции их S белком коронавируса, проводили с помощью набора «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Россия) по инструкции производителя.

- 20 Полученные данные представлены на Фиг.12 (для жидкой формы вакцины), на Фиг. 13 (для лиофилизированной формы вакцины).

Результаты проведенного исследования показали, что рост напряженности клеточного иммунитета, вызванного последовательной иммунизацией добровольцев обеими формами фармацевтического средства по варианту 1, согласно медиане значений 25 пролиферирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, отмечается с увеличением дней после иммунизации. В обеих группах максимальные значения, пролиферирующих как CD4+, так и CD8+ Т-лимфоцитов наблюдаются на 28 день после иммунизации. Между 0 и 28 днем исследования наблюдается максимальная статистически достоверная разница в значениях, пролиферирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов - p<0,001.

- 30 Из результатов, представленных на Фиг.12,13 можно заключить, что рост напряженности клеточного иммунитета, вызванного последовательной иммунизацией добровольцев обеими формами фармацевтического средства по варианту 1, согласно медиане прироста концентрации ИФН γ , отмечается с увеличением дней после иммунизации. Статистически достоверная разница в значениях прироста концентрации 35 ИФН γ до иммунизации (0 день) и через 14 дней после проведенной вакцинации составила p<0,001. Максимальный прирост концентрации ИФН γ наблюдается на 28 день после иммунизации. Между 0 и 28 днем исследования наблюдается максимальная статистически достоверная разница в значениях прироста концентрации ИФН γ - p<0,001.

Таким образом, исходя из приведенных данных можно заключить, что иммунизация 40 разработанным фармацевтическим средством способна вызвать формирование напряженного антиген-специфического клеточного звена противоинфекционного иммунитета, что подтверждается высокой степенью статистической достоверности в измеряемых параметрах до и после иммунизации.

Пример 15.

- 45 Изучение иммуногенности разработанного фармацевтического средства путем оценки титра антител к антигену вируса SARS-CoV-2 в крови добровольцев в различные сроки после вакцинации.

В исследовании принимало участие 40 добровольцев, которые были иммунизированы:

1) Компонентом 1, а затем через 21 день компонентом 2 жидкой формы разработанного фармацевтического средства по варианту 1 (компонент 1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2), доза 1×10^{11} вирусных частиц (20 человек).

5 2) Компонентом 1, а затем через 21 день компонентом 2 лиофилизированной формы разработанного фармацевтического средства по варианту 1 (компонент 1: Ad26-CMV-S-CoV2, компонент 2: Ad5-CMV-S-CoV2), доза 1×10^{11} вирусных частиц (20 человек).

На 14 день, 21 день, 28 день у добровольцев отбирали образцы крови, из которых выделяли сыворотку.

10 Титр антител к домену RBDS белка вируса SARS-CoV-2 определяли методом иммуноферментного анализа с помощью набора «SARS-CoV-2-RBD-ИФА-Гамалеи». Анализ проводили согласно инструкции производителя.

Результаты анализа титра антител к антигену вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови добровольцев после введения жидкой формы препарата представлены на фиг.14.

15 Результаты анализа титра антител к антигену вируса SARS-CoV-2 в сыворотки крови добровольцев после введения лиофилизированной формы препарата представлены на фиг.15.

20 Как видно из представленных данных, иммунизация добровольцев разработанным фармацевтическим средством как в жидкой форме, так и в лиофилизированной форме позволяет сформировать выраженный (статистически достоверно отличимый от показателей контрольной не иммунизированной группы животных) гуморальный иммунитет, характеризующийся повышением титра антител к S белку вируса SARS-CoV-2. При этом рост напряженности гуморального иммунного ответа отмечается с увеличением дней после иммунизации.

25 Таким образом, поставленная техническая задача, а именно, создание средств, обеспечивающих эффективную индукцию иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2, достигнута, что подтверждается приведенными примерами.

Промышленная применимость

30 Все приведенные примеры подтверждают эффективность фармацевтических средств, обеспечивающих эффективную индукцию иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2 и промышленную применимость.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский

<120> Фармацевтическое средство и способ его использования для индукции специфическо-

35 <160> 7

<170> BISSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 4711

<212> DNA

40 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Разработанная экспрессионная кассета, содержащая CMV-промотор, оптимизированну-

<400> 1

atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata 60

acttacggta aatggccccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat 120

aatgacgtat gttcccata gtaacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga 180

gtatTTacgg taaaactgcc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc 240

cccttattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgccctggcat tatgcccagt acatgacctt 300

atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtatttagtc atcgcttatta ccatggtgat 360

	gcgggtttgg cagtacatca atggcggtt atagcggtt gactcacggg gatttccaag	420
	tctccacccc attgacgtca atggaggtt gtttggcac caaatcaac gggactttcc	480
	aaaatgtcgt aacaactccg ccccatgtac gcaaatggc ggtaggcgtg tacggggaa	540
5	ggtctatata agcagagctg gtttagtgaa ccgtcagatc cgctagagat ctggtaccgt	600
	cgacgcggcc gctcgagcct aagttggta ccatgttgtt gttccttgt ttattgccac	660
	tagtctctag tcagtgtgt aacctgacca caagaaccca gctgcctcca gcctacacca	720
	acagcttac cagaggcgtg tactaccccg acaaggtgtt cagatccagc gtgctgcact	780
	ctacccagga cctgttcctg ctttctca gcaacgtgac ctggttccac gccatccacg	840
10	tgtccggcac caatggcacc aagagattcg acaacccgt gctgccctc aacgacgggg	900
	tgtactttgc cagcaccgag aagtccaaaca tcatcagagg ctggatctc ggcaccacac	960
	tggacagcaa gacccagagc ctgctgatcg tgaacaacgc caccaacgtg gtcatcaaag	1020
	tgtgcgagtt ccagttctgc aacgacccct tcctggcgt ctactatcac aagaacaaca	1080
	agagctggat ggaaagcggag ttccgggtgt acagcagcgc caacaactgc accttcgagt	1140
	acgtgtccccca gccttcctg atggacctgg aaggcaagca gggcaacttc aagaacctgc	1200
15	gcgagttcgt gttcaagaac atcgacggct acttcaagat ctacagcaag cacaccccta	1260
	tcaacctcgt gcgggatctg cctcaggcgt tctctgctc ggaacccctg gtggatctgc	1320
	ccatcgccat caacatcacc cggttcaga cactgctggc cctgcacaga agtacactga	1380
	cacctggcga tagcagcagc ggatggacag ctggtgccgc cgcttactat gtgggctacc	1440
	tgcagcctag aacccctcgt ctgaagtaca acgagaacgg caccatcacc gacgcccgtgg	1500
20	attgtgctct ggatccctcg agcgagacaa agtgcacccct gaagtccttc accgtggaaa	1560
	agggcatcta ccagaccagc aacttccggg tgcatgcccac cgaatccatc gtgcgggttcc	1620
	ccaatatcac caatctgtgc cccttcggcg aggtgttcaa tgccaccaga ttgcctctg	1680
	tgtacgcctg gaaccggaag cggatcagca attgcgtggc cgactactcc gtgctgtaca	1740
	actccgccag cttcagcacc ttcaagtgtc acggcgtgtc ccctaccaag ctgaacgacc	1800
25	tgtgcttcac aaacgtgtac gccgacagct tcgtgatccg gggagatgaa gtgcggcaga	1860
	ttgcccctgg acagacaggc aagatcgccg actacaacta caagctgcc gacgacttca	1920
	ccggctgtgt gattgcctgg aacagcaaca acctggactc caaagtccgc ggcaactaca	1980
	attacctgtta cccgctgttc cggaaatgtca atctgaagcc cttcgagcgg gacatctcca	2040
	ccgagatcta tcaggccggc agcaccctt gtaacggcgt ggaaggcttc aactgctact	2100
30	tcccactgca gtcctacggc ttccatccca caaatggcgt gggctatcag ccctacagag	2160
	tgggtgtct gagcttcgaa ctgctgcatg cccctgccac agtgcgtggc cctaagaaaa	2220
	gcaccaatct cgtgaagaac aaatgcgtga acttcaactt caacggcctg accggcaccg	2280
	gcgtgtgtac agagagcaac aagaagttcc tgccattcca gcagttggc cggatattg	2340
	ccgataaccac agacgccgt a cggatcccc agacactgga aatccctggac atcaccctt	2400
35	gcagttcgg cggagtgtct gtgatcacc cttggcacca caccagcaat cagggtggcag	2460
	tgctgtacca ggacgtgaac tgtaccgaag tgccctggc cattcacgcc gatcagctga	2520
	cacctacatg gcgggtgtac tccacccggca gcaatgttt tcagaccaga gccggctgtc	2580
	tgtatggagc cgagcacgtg aacaatagct acgagtcgca catccccatc ggctgtggca	2640
	tctgtgccag ctaccagaca cagacaaaca gccccagacg ggccagatct gtggccagcc	2700
40	agagcatcat tgcctacaca atgtctctgg gcgccgagaa cagcgtggcc tactccaaca	2760
	actctatcgc tatccccacc aacttcacca tcagcgtgac cacagagatc ctgcctgtgt	2820
	ccatgaccaa gaccagcgtg gactgcacca tgtacatctg cggcgattcc accgagtgct	2880
	ccaaacctgct gctgcgtac ggcagcttct gcacccagct gaatagagcc ctgacagggaa	2940
	tcgcccgtgg acaggacaag aacacccaaag aggtgttcgc ccaagtgaag cagatctaca	3000
45	agacccctcc tatcaaggac ttccggcggct tcaatttcag ccagattctg cccgatccta	3060
	gcaagccccag caagcggagc ttcatcgagg acctgctgtt caacaaagtg acactggccg	3120
	acgcccggctt catcaagcag tatggcgatt gtctggcga cattgccgcc agggatctga	3180
	tttgcggccca gaagtttaac ggactgacag tgctgccacc actgctgacc gatgagatga	3240

	tcgcccagta cacatctgcc ctgctggccg gcacaatcac aagcggctgg acatttggag	3300
	ctggcgccgc tctgcagatc cccttgcta tgcagatggc ctaccgggttc aacggcatcg	3360
	gagtgaccca gaatgtgctg tacgagaacc agaagctgat cgccaaccag ttcaacacgcg	3420
5	ccatcgaa gatccaggac agcctgagca gcacagcaag cgccctggga aagctgcagg	3480
	acgtggtcaa ccagaatgcc caggcactga acaccctggt caagcagctg tcctccaact	3540
	tcggcgccat cagctctgtg ctgaacgaca tcctgagcag actggacaag gtggaagccg	3600
	aggtgcagat cgacagactg atcaccggaa ggctgcagtc cctgcagacc tacgttaccc	3660
	agcagctgat gagagccgccc gagattagag cctctgcca tctggccgccc accaagatgt	3720
	ctgagttgtgt gctgggccag agcaagagag tggacttttgcggcaaggc taccacctga	3780
10	tgagctcccc tcagtctgcc cctcacggcg tgggttttgcacgtgaca tacgtgcccgc	3840
	ctcaagagaa gaatttcacc accgctccag ccatacgcca cgacggcaaa gcccactttc	3900
	ctagagaagg cgtgttcgtg tccaacggca cccattggtt cgtgaccagg cggaacttct	3960
	acgagccccca gatcatcacc accgacaaca cttcgtgtc tggcaactgc gacgtcgtga	4020
	tcggcattgt gaacaatacc gtgtacgacc ctctgcagcc cgagctggac agcttcaaag	4080
15	aggaactgga taagtacttt aagaaccaca caagccccga cgtggacctg ggccgacatca	4140
	gcggaatcaa tgccagcgtc gtgaacatcc agaaagagat cgaccggctg aacgagggtgg	4200
	ccaagaatct gaacgagagc ctgatcgacc tgcaagaact ggggaagtac gagcagtaca	4260
	tcaagtgccctggtacatc tggctggct ttatcgccgg actgattgcc atcgtgatgg	4320
	tcacaatcat gctgtgttgc atgaccagct gctgttagctg cctgaaggc ttttgtagct	4380
20	gtggcagctg ctgcaagttc gacgaggacg attctgagcc cgtgctcaaa ggagtcaaat	4440
	tacattacac ataagatatc cgatccaccg gatctagata actgatcata atcagccata	4500
	ccacatttgt agaggttta cttgctttaa aaaacctccc acacctcccc ctgaacctga	4560
	aacataaaaat gaatgcaatt gttgtgtta acttgtttat tgcagcttat aatggttaca	4620
	aataaaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt ttttcactg cattctagtt	4680
25	gtggttgtc ccaaactcatc aatgtatctt a	4711
	<210> 2	
	<211> 5984	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
30	<220>	
	<223> Разработанная экспрессионная кассета, содержащая САГ-промотор, оптимизированную	
	<400> 2	
	gacatttgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc	60
	catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccggcca	120
35	acgaccggccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga	180
	ctttccatttgc acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc	240
	aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggccgcct	300
	ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagttac atctacgtat	360
	tagtcatcgc tattaccatg gtcgaggtga gccccacgtt ctgcttcaact ctccccatct	420
40	ccccccctcc caccccaat tttgtattta tttatttttt aattattttgcagcgatg	480
	ggggcgaaaaa gggggggggcgc ggcgcaggcgg gggcgaaaaa gggcgagggg cggggcgaaaa	540
	cgaggcggag aggtgcggcgc gcagccaatc agagcggcgc gctccgaaag tttcccttta	600
	tggcgaggcgg gggcgccggcgg cggccctata aaaagcgaag cgcgcggcgg gcggggagtcg	660
	ctgcgcgcgtg ctttcgcccc gtgccccgtt ccgcgcggcgc ctgcgcggcgc ccgcggccgc	720
45	tctgactgac cgcgttactc ccacaggtga gccccggcggc gggcccttc cttccggcgt	780
	gtaattagcg ctgggttta tgacggcttgc tttcttttgcgt gaaagccttg	840
	aggggctccg ggagggccct ttgtgcgggg ggagcggcgc ggggggtgcg tgcgtgtgt	900
	tgtgcgtggg gagcgcgcgcg tgccgcgtccg cgctgcggcgg cggctgtgag cgctgcggc	960

	gcggcgccgg gctttgtgcg ctccgcagtg tgcgcgaggg gagcgcggcc gggggcggtg	1020
	ccccgcggtg cggggggggct gcgaggggaa caaaggctgc gtgcgggtg tgtgcgtggg	1080
	gggtgagcag ggggtgtggg cgctcggtc gggctgcaac cccccctgca cccccctccc	1140
5	cgagttgctg agcacggccc ggcttcgggt gcggggctcc gtacggggcg tggcgccggg	1200
	ctcgccgtgc cgggcggggg gtggcggcag gtgggggtgc cgggcggggc gggccgcct	1260
	cgggcgggg agggtcgagg ggaggggcgc ggccggccccc ggagcgcgg cggctgtcga	1320
	ggcgccggcga gccgcagcca ttgccttta tggtaatcgt gcgagaggc gcagggactt	1380
	cctttgtccc aaatctgtgc ggagccgaaa tctgggaggc gccgcgcac cccctctagc	1440
	gggcgcgggg cgaagcggtg cggcgcggc aggaaggaaa tggcgggga gggccttcgt	1500
10	gcgtcgccgc gcccgcgtcc ctttcctccct ctccagcctc ggggctgtcc gcggggggac	1560
	ggctgccttc ggggggacgg ggcaggggcgg gttcggctt ctggcgtgtg accggcggct	1620
	ctagaaagct tggtaccatg tttgtgttcc ttgtgttatt gccactagtc tctagtcagt	1680
	gtgtgaacct gaccacaaga acccagctgc ctccagccta caccaacagc tttaccagag	1740
	gcgtgtacta ccccgacaag gtgttcagat ccagcgtgtc gcactctacc caggacctgt	1800
15	tcctgcctt cttcagcaac gtgacctggt tccacgcctt ccacgtgtcc ggcaccaatg	1860
	gcaccaagag attcgacaac cccgtgctgc cttcaacga cgggggtgtac tttgccagca	1920
	ccgagaagtc caacatcatc agaggctgga tttcggcac cacactggac agcaagaccc	1980
	agagcctgct gatcgtgaac aacgcccacca acgtggtcat caaatgtgc gagttccagt	2040
	tctgcaacga ccccttcctg ggcgtctact atcacaagaa caacaagagc tggatggaaa	2100
20	gcgagttccg ggtgtacagc agcgccaaca actgcacccct cgagtagtgc tcccagcctt	2160
	tcctgatgga cctgaaaggc aagcagggc acttcaagaa cctgcgcgag ttctgtttca	2220
	agaacatcga cggctacttc aagatctaca gcaagcacac ccctatcaac ctgcgtgcggg	2280
	atctgcctca gggcttctct gctctggAAC ccctgggtgga tctgcccattc ggcataaca	2340
	tcacccgggtt tcagacactg ctggccctgc acagaagcta cctgacaccc ggcgatagca	2400
25	gcagcggatg gacagctggt gcccggcgtt actatgtggg ctacctgcag cctagaaccc	2460
	tcctgctgaa gtacaacgag aacggcacca tcaccgacgc cgtggattgt gctctggatc	2520
	ctctgagcga gacaaagtgc accctgaagt cttcaccgt ggaaaaggc atctaccaga	2580
	ccagcaactt cgggggtgcag cccaccgaat ccatcgtgcg gttcccaat atcacaatc	2640
	tgtgcccctt cggcgagggtt ttcaatgcca ccagattcgc ctctgtgtac gcctggacc	2700
30	ggaagcggat cagcaattgc gtggccgact actccgtgtc gtacaactcc gccagcttca	2760
	gcaccccaa gtgtctacggc gtgtccccca ccaagctgaa cgacctgtgc ttcacaaacg	2820
	tgtacgcccga cagttcgtg atccggggag atgaagtgcg gcagattgcc cctggacaga	2880
	caggcaagat cgccgactac aactacaagc tgcccgcacca cttcacccggc tigtgtgattg	2940
	cctggAACAG caacaacctg gactccaaag tcggcgccaa ctacaattac ctgtaccggc	3000
35	tgttccggaa gtccaaatctg aagccctcg agcgggacat ctccaccggag atctatcagg	3060
	ccggcagcac ccctttaac ggcgtggaaag gttcaactg ctacttccca ctgcagtcc	3120
	acggcttca gcccacaaat ggcgtggct atcagcccta cagagtggc gtgctgagct	3180
	tcgaactgtc gcatgcccct gccacagtgt gcggccctaa gaaaagcacc aatctcgta	3240
	agaacaaatg cgtgaacttc aacttcaacg gcctgaccgg caccggcgtg ctgacagaga	3300
40	gcaacaagaa gttcctgcca ttccacgcgt ttggccggg tattgccat accacagacg	3360
	ccgtacgaga tccccagaca ctggaaatcc tggacatcac cccttgcagc ttccggccgg	3420
	tgtctgtat caccctggc accaacacca gcaatcaggt ggcagtgtc taccaggacg	3480
	tgaactgtac cgaagtgcggc gtggccattc acgcccacca gctgacaccc acatggcg	3540
	tgtactccac cggcagcaat gtgtttcaga ccagagccgg ctgtctgatc ggagccgagc	3600
45	acgtgaacaa tagctacgag tgcgacatcc ccatcggcgc tggcatctgt gccagctacc	3660
	agacacagac aaacagcccc agacgggcca gatctgtggc cagccagagc atcattgcct	3720
	acacaatgtc tctggcgcc gagaacagcg tggcctactc caacaactct atcgctatcc	3780
	ccaccaactt caccatcagc gtgaccacag agatcctgcc tigtgtccatg accaagacca	3840

gcgtggactg caccatgtac atctgcggcg attccaccga gtgctccaac ctgctgctgc 3900
 agtacggcag cttctgcacc cagctgaata gagccctgac agggatcgcc gtggAACAGG 3960
 acaagaacac ccaagagggt ttgcggcaag tgaagcagat ctacaagacc cctcctatca 4020
 aggacttcgg cggttcaat ttcaGCCAGA ttctgcggc tccttagcaag cccagcaagc 4080
 5 ggagcttcat cgaggacctg ctgttcaaca aagtgcacact ggccgacGCC ggcttcatca 4140
 agcagtatgg cgattgtctg ggccgacattg ccGCCAGGG tctgatttgc gcccagaagt 4200
 ttaacggact gacagtgtctg ccaccactgc tgaccatGA gatgatcgcc cagtacacat 4260
 ctgcctgtc ggccggcaca atcacaAGCG gctggacatt tggagctggc gccgctctgc 4320
 agatcccTT tgctatgcag atggcctacc ggttcaacgg catcgagtg acccagaatg 4380
 10 tgctgtacga gaaccagaag ctgatcgcca accagttcaa cagcgccatc ggcaagatcc 4440
 aggacagcct gagcagcaca gcaagcgccc tggaaagct gcaggacgtg gtcaaccaga 4500
 atgcccaggc actgaacacc ctggtcaagc agctgtcctc caacttcggc gccatcagct 4560
 ctgtgtgaa cgacatcctg agcagactgg acaagggtgaa agccgaggtg cagatcgaca 4620
 gactgatcac cggaaggctg cagtccctgc agacctacgt tacccagcag ctgatcagag 4680
 15 ccggccgagat tagagcctct gccaatctgg ccGCCACCAA gatgtctgag tgtgtgtcgg 4740
 gcccagagcaa gagagtggac ttttgcggca agggctacca cctgatgagc ttccctcagt 4800
 ctgcccctca cggcgtggc tttctgcacg tgacatacgt gcccgtcaa gagaagaatt 4860
 tcaccaccgc tccagccatc tgccacgacg gcaaAGCCCA ctttcctaga gaaggcgtgt 4920
 tcgtgtccaa cggcacccat tggttcgtga cccagcggaa cttctacgag ccccaGATCA 4980
 20 tcaccaccga caacacccatc gtgtctggca actgcgacgt cgtatcgGC attgtgaaca 5040
 ataccgtgtc cggccctctg cagcccggc tggacagctt caaAGAGGAA ctggataagt 5100
 actttaagaa ccacacaAGC cccgacgtgg acctgggcga catcagcggA atcaatgcCA 5160
 gcgtcgtaa catccagaaa gagatcgacc ggctgaacga ggtggccaag aatctgaacg 5220
 agagcctgtatc cggccatcgtca gaactgggaa agtacgagca gtacatcaag tggccctgg 5280
 25 acatctggct gggcttatac gcccggactga ttgcattcgt gatggtcaca atcatgtgt 5340
 gttgcattcgtac cagctgtgt agctgcctga agggctgtt tagctgtggc agctgctgca 5400
 agttcgacga ggacgattct gagccgtgc tcaaaggagt caaattacat tacacataat 5460
 tcactcctca ggtgcaggct gcctatcaga aggtgggtggc tgggtgtggc aatgcctgg 5520
 ctcacaaaata ccactgagat cttttccct ctgcAAAAA ttatgggac atcatgaagc 5580
 30 cccttgagca tctgacttct ggctaaATAA ggaattttt tttcattcgtca atagtgtgtt 5640
 ggaattttttt gtgtctctca ctcggaaAGGA catatgggag ggcaaATCAT ttAAAACATC 5700
 agaatgagta ttgggttag agttggcaa catatGCCCA tatgctggct gcatgaaca 5760
 aaggTTGGCT ataaAGAGGT catcgtata tgaaACAGCC ccctgtgtc cattccttat 5820
 tccatagaaa agccttgact tgaggtaga tttttata tttttttt tgttattttt 5880
 35 tcttaacat ccctaaATT ttccttacat gttttactag ccagatTTT cctcctctcc 5940
 tgactactcc cagtcatagc tgtcccttctt ctcttatgga gatc 5984
 <210> 3
 <211> 5314
 <212> DNA
 40 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Разработанная экспрессионная кассета, содержащая EF1-промотор, оптимизированную
 <400> 3
 ggtgaggcgc cgggtccccgt cagtggcag agcgcacatc gcccacagtc cccgagaagt 60
 45 tggggggagg ggtcgccaaat tgaaccgggt cctagagaag gtggcgccgg gtaaactggg 120
 aaagtgtatgt cgtgtactgg ctccgcctt ttccggaggg tggggggagaa ccgttatataa 180
 gtgcagttagt cggccgtgaac gtttttttc gcaacgggtt tgccgCCAGA acacaggtaa 240
 gtgcgtgtg tggttcccgcc gggccggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt 300

	gaattacttc cacctggctg cagtagtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaaagt	360
	ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagccccttc gcctcgtgct ttagtgtagg	420
	cctggcctgg ggcgtggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcacccctcgc gcctgtctcg	480
5	ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa attttgatg acctgctgcg acgcttttt	540
	tctggcaaga tagtcttgc aatgcgggcc aagatctgca cactggatt tcggtttttg	600
	gggcccggg cggcgacggg gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc	660
	tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg	720
	tgcctggcct cgccgcggccg tgtatcgccc cgcctggc ggcaaggctg gcccggcgg	780
	caccagttgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgctgcaggg agctcaaaaat	840
10	ggaggacgcg ggcgtcgaaa gagcggggcgg gtgagtcacc cacacaaaagg aaaagggcct	900
	ttccgtcctc agccgtcgct tcatagtgact ccacggagta cggggcgccg tccaggcacc	960
	tcgatttagtt ctgcagcttt tggagttacgt cgtctttagg ttggggggag gggttttatg	1020
	cgtatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggcccagct tggcaacttga	1080
	tgttaattctc ctggaaattt gcccttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaaggcctc	1140
15	agacagtggt tcaaagtttt ttcttcatt ttcaggtgtc gtgaggaatt agcttggtac	1200
	taatacgaact cacaagcttgc taccatgtt tgcgttcctt gtgttattgc cactagtctc	1260
	tagtcagtgt gtgaacctga ccacaagaac ccagctgcct ccagcctaca ccaacagctt	1320
	taccagagggc gtgtactacc ccgacaagggt gttcagatcc agcgtgtgc actctaccca	1380
	ggacctgttc ctgcctttct tcagcaacgt gacctggttc cacggcatcc acgtgtccgg	1440
20	caccaatggc accaagagat tcgacaaccc cgtgctgccc ttcaacgacg ggggtgtactt	1500
	tgccagcacc gagaagtcca acatcatcag aggctggatc ttccggcacca cactggacag	1560
	caagaccaggc agcctgctga tcgtgaacaa cgcaccaac gtggcatca aagtgtgcga	1620
	gttccagttc tgcaacgacc ctttcctggg cgtctactat cacaagaaca acaagagctg	1680
	gatggaaagc gagttccggg tgtacagcag cgcacccatcg agtacgtgtc	1740
25	ccagcccttc ctgatggacc tggaaggcaa gcagggcaac ttcaagaacc tgccgcgagtt	1800
	cgtgttcaag aacatcgacg gctacttcaa gatctacacgc aagcacaccc ctatcaaccc	1860
	cgtgcgggat ctgcctcagg gcttctctgc tctggaaaccc ctgggtggatc tgcccatcg	1920
	catcaacatc acccggtttc agacactgct gcccctgcac agaagctacc tgacacccgg	1980
	cgtatgcagc agcggatgga cagctgggtc cgcgccttac tatgtggct acctgcagcc	2040
30	tagaaccttc ctgctgaagt acaacgagaa cggcaccatc accgacgccc tggattgtgc	2100
	tctggatcct ctgagcgaga caaagtgcac cctgaagtcc ttccaccgtgg aaaagggcat	2160
	ctaccagacc agcaacttcc ggggtgcagcc caccgaatcc atcgtgcggc tccccaaat	2220
	caccaatctg tgcccttcg gcgaggtgtt caatgccacc agattgcct ctgtgtacgc	2280
	ctggaaaccgg aagcggatca gcaattgcgt ggccgactac tccgtgtgt acaactccgc	2340
35	cagcttcagc accttcaagt gctacggcgt gtccttcatt aagctgaacg acctgtgtt	2400
	cacaaacgtg tacgcccaca gcttcgtgat cggggagat gaagtgcggc agattgcccc	2460
	tggacagaca ggcaagatcg cgcactacaa ctacaagctg cccgacgcact tcaccggctg	2520
	tgtgattgcc tggaacagca acaacctgga ctccaaagtc ggcggcaact acaattacct	2580
	gtaccggctg ttccggaaatg ccaatctgaa gcccttcgag cgggacatct ccaccggagat	2640
40	ctatcaggcc ggcagcaccc ttgttaacgg cgtggaaaggc ttcaactgtct acttcccact	2700
	gcagtccctac ggctttcagc ccacaaaatgg cgtggctat cagccctaca gagttgggt	2760
	gctgagcttc gaactgtgtc atgcccctgc cacagtgtgc ggccttaaga aaagcaccaa	2820
	tctcgtgtaa aacaaaatgc tgaacttcaa cttcaacggc ctgaccggca cggcgtgtc	2880
	gacagagagc aacaagaagt tcctgccatt ccagcagttt ggccggata ttgccgatac	2940
45	cacagacgcc gtacgagatc cccagacact gggaaatcctg gacatcaccc ctgtcagctt	3000
	cggcggagtg tctgtgtatca cccctggcac caacaccaggc aatcaggtgg cagtgtgt	3060
	ccaggacgtg aactgttaccg aagtgcccgt ggccattcac gccgatcgc tgacacccatc	3120
	atggcgggtg tactccaccc gcaaatgtt gtttcagacc agagccggct gtctgtatcg	3180

	agccgagcac gtgaacaata gctacgagtgcgacatcccc atcggcgctgcgtatctgtgc	3240
	cagctaccaggcacagacaa acagccccag acgggccaga tctgtggcca gccagagcat	3300
	cattgcctac acaatgtctc tgggcgcga gaacagcgta gcctactcca acaactctat	3360
5	cgctatcccc accaacttca ccatcagcgt gaccacagag atcctgcctgttgtccatgac	3420
	caagaccaggcgtggactgca ccatgtacat ctgcggcgat tccaccgagt gctccaacct	3480
	gctgctgcag tacggcagct tctgcaccca gctgaataga gccctgacag ggatcgccgt	3540
	ggaacaggac aagaacaccc aagaggtgtt cgcccaagtgaagcagatct acaagacccc	3600
	tccttatcaag gacttcggcg gcttcaattt cagccagatt ctgcccgtcctagcaagcc	3660
	cagcaagcgg agcttcatcg aggacctgcttcaacaaa gtgacactgg ccgacgcccgg	3720
10	cttcatcaag cagtatggcg attgtctggcgacatttgcc gccaggatctgatggcgc	3780
	ccagaagttt aacggactga cagtgcgtcc accactgctg accgatgaga tgatcgccca	3840
	gtacacatct gccctgctgg ccggcacaat cacaagcggc tggacatttg gagctggcgc	3900
	cgctctgcag atcccccttgcgtacatcgat ggcctaccgg ttcaacggca tcggagtgac	3960
	ccagaatgtg ctgtacgaga accagaagct gatgcacaa cagttcaaca gcgcctatcg	4020
15	caagatccaggacacgacatcg aagcgccctggaaagctgcaggacgtggt	4080
	caaccagaat gcccaggcac tgaacaccct ggtcaagcag ctgtcctcca acttcggcgc	4140
	catcagctctgtgctgaacg acatccttagcagactggac aaggtggaaag ccgaggtgca	4200
	gatgcacaga ctgatcacccg gaaggctgca gtcctgcag acctacgtta cccagcagct	4260
	gatcagagcc gccgagattt gaggctctgc caatctggcc gccaccaaga tgtctgagtg	4320
20	tgtgctggc cagagcaaga gagtggactt ttgcggcaag ggctaccacc tgatgagctt	4380
	ccctcagtct gcccctcaccgcgtgggtt tctgcacgtg acatacgtgc cgcctcaaga	4440
	gaagaattt accaccgctc cagccatctgc acgcacggc aaagccact ttcctagaga	4500
	aggcgtgttc gtgtccaacg gcacccattt gttcgtgacc cagcggact tctacgagcc	4560
	ccagatcatc accaccgaca acacccctgt gtctggcaac tgcgacgtcg tgatcgccat	4620
25	tgtgaacaat accgtgtac accctctgca gcccggactgcacagctca aagaggaact	4680
	ggataagtac tttaagaacc acacaagccc cgacgtggac ctggcgaca tcagcggaat	4740
	caatgccagc gtcgtgaaca tccagaaaga gatgcacccgg ctgaacgagg tggcaagaa	4800
	tctgaacgag agcctgtatcg acctgcaaga actggggaaag tacgagcagt acatcaagt	4860
	gccctggtagtac atctggctgg gctttatcgc cggactgatt gccatcgtga tggtcacaat	4920
30	catgctgtgt tgcgtacca gctgctgttag ctgcctgaag ggctgttgta gctgtggcag	4980
	ctgctgcaag ttgcacgagg acgattctga gcccgtgctc aaaggagtca aattacatta	5040
	cacataagat ctagagtcgg ggcggccggc cgctcgctga tcagcctcga ctgtgccttc	5100
	tagttgccag ccatctgttgcgttttgcctcccccgtgccttcgtaccc tggaaagggtgc	5160
	cactccact gtccttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg	5220
35	tcattctatt ctgggggggttgggtggca ggacagcaag ggggaggatt ggaaagacaa	5280
	tagcaggcat gctggggatc cgagtgtcga taag	5314
	<210> 4	
	<211> 4678	
	<212> DNA	
40	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> Разработанная экспрессионная кассета, содержащая CMV-промотор, оптимизированну	
	<400> 4	
	atagtaatca attacggggcattagttca tagccatat atggagttcc gcgttacata	60
45	acttacggta aatggcccgctggctgacc gcccaacgac ccccccctat tgacgtcaat	120
	aatgacgtat gttcccatat taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga	180
	gtatccatgg taaactgccc acttggcagt acatcaagt tatcatatgc caagtacgcc	240
	ccctattgac gtcaatggcc cgcctggcat tatcccagt acatgacctt	300

	atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatggtgat	360
	gcgggtttgg cagtacatca atgggcgtgg atagcggtt gactcacggg gatttccaag	420
	tctccacccc attgacgtca atgggaggtt gtttggcac caaatcaac gggacttcc	480
5	aaaatgtcgt aacaactccg cccccattgac gcaaataggc ggtaggcgtg tacggtgaa	540
	ggtctatata agcagagctg gtttagtgaa ccgtcagatc cgcttagagat ctggtaccat	600
	gtttgtgttc ctgtgttat tgccactagt ctctagtcag tgtgtgaacc tgaccacaag	660
	aacccagctg cctccagcc acaccaacag cttaaccaga ggcgtgtact accccgacaa	720
	ggtgttcaga tccagcgtgc tgcactctac ccaggacctg ttctgcctt tcttcagcaa	780
	cgtgacctgg ttccacgcca tccacgtgtc cggcaccaat ggcaccaaga gattcgacaa	840
10	ccccgtgctg cccttcaacg acgggggtgta ctttgcacgc accgagaagt ccaacatcat	900
	cagaggctgg atcttcggca ccacactgga cagcaagaccc cagagcctgc tgatcgtgaa	960
	caacgccacc aacgtggtca tcaaagtgtg cgagttccag ttctgcaacg acccccttcct	1020
	gggcgtctac tatcacaaga acaacaagag ctggatggaa agcagatcc ggggtgtacag	1080
	cagcgccaaac aactgcacct tcgagtagt gttccagcc ttcttgatgg acctggaaagg	1140
15	caagcagggc aacttcaaga acctgcgcga gttcgtgttc aagaacatcg acggctactt	1200
	caagatctac agcaagcaca ccccttatcaa cctcgtgcgg gatctgcctc agggcttctc	1260
	tgctctggaa cccctgggtt atctgcccattt cggcatcaac atcaccgggt ttcaagacact	1320
	gctggccctg cacagaagct acctgacacc tggcgatagc agcagcggat ggacagctgg	1380
	tgccgcccgt tactatgtgg gctacctgca gcctagaacc ttctgctga agtacaacga	1440
20	gaacggcacc atcaccgacg ccgtggattt tgctctggat cctctgagcg agacaaagtg	1500
	caccctgaag tccttcaccg tggaaaaggg catctaccag accagcaact tccgggtgca	1560
	gcccaccgaa tccatcgtgc gttcccccattt tatcacaat ctgtgcccct tcggcgaggt	1620
	gttcaatgcc accagattcg cctctgtgtt cgcctggAAC cgaaagcggat tcagcaattt	1680
	cgtggccgac tactccgtgc tgtacaactc cgccagcttc agcaccttca agtgcctacgg	1740
25	cgtgtcccctt accaagctga acgacctgtg cttcacaaac gtgtacgccc acagcttcgt	1800
	gatccggggaa gatgaagtgc ggcagattgc ccctggacac acaggcaaga tcgcccacta	1860
	caactacaag ctgcccacg acttcaccgg ctgtgtgatt gcctggaaaca gcaacaacct	1920
	ggactccaaa gtcggcggca actacaattt cctgtaccgg ctgttccggaa agtcaatct	1980
	gaagcccttc gagcgggaca tctccaccga gatctatcag gccggcagca cccctttaaa	2040
30	cggcgtggaa ggcttcaact gctacttccc actgcagttcc tacggcttcc agcccacaaa	2100
	tggcgtgggc tatcagccctt acagagttgtt ggtgctgagc ttcaactgc tgcatgcccc	2160
	tgccacagtgtg tgcggcccta agaaaagcac caatctcgta aagaacaaat gcgtgaactt	2220
	caacttcaac ggcctgaccg gcaccggcgt gctgacagag agcaacaaga agttcctgcc	2280
	attccagcag tttggccggg atattgcccattt taccacagac gccgtacgag atccccagac	2340
35	actggaaatc ctggacatca ccccttgcag cttcggcggaa gtgtctgtta tcacccctgg	2400
	caccaacacc agcaatcagg tggcagtgtt gtaccaggac gtgaactgtt ccgaagtgcc	2460
	cgtggccatt cacggccatc agctgacacc tacatggcgg gtgtacttcca ccggcagcaa	2520
	tgtgtttcag accagagccg gctgtctgtt cggagccggat cacgtgaaca atagctacga	2580
	gtgcgacatc cccatcggcg ctggcatctg tgccagctac cagacacaga caaacagccc	2640
40	cagacggggcc agatctgtgg ccagccagag catcattgcc tacacaatgt ctctggcgc	2700
	cgagaacacgc gtggcctact ccaacaactc tatcgctatc cccaccaact tcaccatcag	2760
	cgtgaccaca gagatcctgc ctgtgtccat gaccaagacc agcgtggact gcaccatgtt	2820
	catctgcggc gattccaccg agtgccttca cctgctgtt cagtgacggca gcttctgcac	2880
	ccagctgaat agagccctga caggatcgc cgtggaaacag gacaagaaca cccaaagaggt	2940
45	gttcggcccaa gtgaaggcaga tctacaagac ccctcctatc aaggacttcg gcggcttcaa	3000
	tttcagccag attctgcccc atccttagcaa gcccagcaag cggagttca tcgaggaccc	3060
	gctgttcaac aaagtgcacac tggccgacgc cggcttcatc aagcagtatg gcgattgtct	3120
	gggcgcacatt gccggccagggtt atctgatttgc cggccagaag tttaacggac tgacagtgct	3180

	gccaccactg	ctgaccgatg	agatgatcgc	ccagtacaca	tctgccctgc	tggccggcac	3240
	aatcacaaggc	ggctggacat	ttggagctgg	cggcgctctg	cagatcccct	ttgctatgca	3300
	gatggcctac	cgggtcaacg	gcatcggagt	gaccagaat	gtgctgtacg	agaaccagaa	3360
5	gctgatcgcc	aaccagttca	acagcgccat	cggcaagatc	caggacagcc	tgagcagcac	3420
	agcaagcgcc	ctgggaaagc	tgcaggacgt	ggtcaaccag	aatgcccagg	cactgaacac	3480
	cctggtcaag	cagctgtcct	ccaacttcgg	cggccatcagc	tctgtgctga	acgacatcct	3540
	gagcagactg	gacaagggtgg	aagccgaggt	gcagatcgac	agactgatca	ccggaaggct	3600
	gcagtcctg	cagacctacg	ttaccagca	gctgatcaga	gccgcccaga	tttagagcctc	3660
10	tgccaatctg	gccgcccacca	agatgtctga	gtgtgtgctg	ggccagagca	agagagtgga	3720
	cttttgcggc	aagggctacc	acctgatgag	cttccctcag	tctgcccctc	acggcgttgt	3780
	gtttctgcac	gtgacatacg	tgcccgtca	agagaagaat	ttcaccaccg	ctccagccat	3840
	ctgccacgac	ggcaaagccc	actttcctag	agaaggcgtg	ttcgtgtcca	acggcaccca	3900
	ttgggtcgtg	acccagcggg	acttctacga	gccccagatc	atcaccaccg	acaacacctt	3960
15	cgtgtctggc	aactgcgacg	tcgtgatcgg	cattgtgaac	aataccgtgt	acgaccctct	4020
	gcagcccgag	ctggacagct	tcaaagagga	actggataag	tactttaaga	accacacaag	4080
	ccccgcacgtg	gacctggcg	acatcagcgg	aatcaatgcc	agcgtcgtga	acatccagaa	4140
	agagatcgac	cggctgaacg	aggtggccaa	aatctgaac	gagagcctga	tcgacactgca	4200
	agaactgggg	aagtacgagc	agtacatcaa	gtggccctgg	tacatctggc	tgggctttat	4260
	cggccgactg	attgccatcg	tgatggtcac	aatcatgctg	tgttgcata	ccagctgctg	4320
20	tagctgcctg	aagggctgtt	gtagctgtgg	cagctgctgc	aagttcgacg	aggacgattc	4380
	tgagcccggt	ctcaaaggag	tcaaattaca	ttacacataa	gatatcgccg	ccgctcgagt	4440
	ctagataact	gatcataatc	agccatacca	catttgtaga	ggttttactt	gctttaaaaaa	4500
	acctcccaca	cctcccccctg	aacctgaaac	ataaaaatgaa	tgcaattgtt	gttgtttaact	4560
	tgtttattgc	agcttataat	ggttacaaat	aaagcaatag	catcacaaat	ttcacaaata	4620
25	aagcattttt	ttcactgcat	tctagttgtg	gtttgtccaa	actcatcaat	gtatctta	4678
	<210>	5					
	<211>	33765					
	<212>	DNA					
	<213>	Recombinant human adenovirus serotype 26					
30	<220>						
	<223>	Материнская последовательность рекомбинантного аденоовириуса человека 26 серотип					
	<400>	5					
	catcatcaat	aatatacccc	acaaagtaaa	caaaagttaa	tatgcaaatg	agctttgaa	60
	ttttaacggt	tttggggcgg	agccaacgct	gattggacga	gaaacggtga	tgcaaatgac	120
35	gtcacgacgc	acggctaacg	gtcgccgcgg	aggcgtggcc	tagcccgaa	gcaagtgcgc	180
	gggctgatga	cgtataaaaa	agcggacttt	agaccggaa	acggccgatt	ttcccgccgc	240
	cacgccccga	tatgaggtaa	ttctgggcgg	atgcaagtga	aattaggtca	ttttggcgcg	300
	aaaactgaat	gaggaagtga	aaagcgaaaa	ataccggtcc	ctcccaggggc	ggaatattta	360
	ccgaggggccg	agagactttg	accgattacg	tgggggttc	gattgcgtg	ttttttcgc	420
40	gaatttccgc	gtccgtgtca	aagtccggtg	tttatgtcac	agatcagctg	gtttcctta	480
	agatacattg	atgagtttg	acaaaccaca	actagaatgc	agtaaaaaaa	atgctttatt	540
	tgtgaaattt	gtgatgctat	tgctttattt	gtaaccatta	taagctgcaa	taaacaagtt	600
	aacaacaaca	attgcattca	ttttatgttt	caggttcagg	gggagggtgt	ggaggttttt	660
	taaagcaagt	aaaacctcta	caaatgtggt	atggctgatt	atgatcagtt	atctagatcc	720
45	ggtggatcg	atatctttagt	tgtaatgtaa	tttgactcct	ttgagcacgg	gctcagaatc	780
	gtcctcgctg	aacttgcagc	agctgccaca	gctacaacag	cccttcaggc	agctacagca	840
	gctggtcatg	caacacagca	tgattgtgac	catcacatg	gcaatcagtc	cggcgataaa	900
	gcccagccag	atgtaccagg	gccacttgat	gtactgctg	tacttccca	gttctgcag	960

	gtcgatcagg ctctcggtca gattcttggc cacctcggtc agccggtcga tctctttctg	1020
	gatgttcacg acgctggcat tgattccgct gatgtcgccc aggtccacgt cggggcttgt	1080
	gtggttctta aagtacttat ccagttcctc tttgaagctg tccagctcg gctgcagagg	1140
5	gtcgtacacg gtattgttca caatgccat cacgacgtcg cagttgccag acacgaaggt	1200
	gttgtcggtg gtatgtatct ggggctcgta gaagttccgc tgggtcacga accaatgggt	1260
	gccgttggac acgaacacgc cttctcttagg aaagtgggct ttgccgtcg ggcagatggc	1320
	tggagcggtg gtgaaattct tctcttgagc gggcacgtat gtcacgtgca gaaacaccac	1380
	gccgtgaggg gcagactgag ggaagctcat caggtggtag ccctgccc aaaagtccac	1440
10	tctcttgctc tggcccagca cacactcaga catcttggtg gcggccagat tggcagaggc	1500
	tctaattctcg gcggctctga tcagctgctg ggtaacgtag gtctgcaggg actgcagcc	1560
	tccggtgatc agtctgtcg tctgcacctc ggcttccacc ttgtccagtc tgctcaggat	1620
	gtcggtcagc acagagctga tggcgccgaa gttggaggac agctgcttga ccagggtgtt	1680
	cagtgctgg gcattctggt tgaccacgtc ctgcagctt cccaggcgc ttgctgtgct	1740
	gctcaggctg tcctggatct tgccgatggc gctgttgaac tgggtggcga tcagttctg	1800
15	gttctcgta agcacattct gggtcactcc gatgccgtt aaccggtagg ccatctgcat	1860
	agcaaagggg atctgcagag cggcgccagc tccaaatgtc cagccgctt tgattgtgcc	1920
	ggccagcagg gcagatgtgt actggcgat catctcatcg gtcagcagtg gtggcagcac	1980
	tgtcagtccg ttaaaacttct gggcgcaa at cagatccctg gccgcaatgt cgcccagaca	2040
	atcgccatac tgcttgatga agccggcgatc ggccagtgatc actttgttga acagcaggatc	2100
20	ctcgatgaag ctccgcttgc tgggcttgct aggatcgggc agaatctggc tgaaattgaa	2160
	gccgccaag tccttgatag gaggggtctt gtatgtctgc ttcaacttggg cgaacacctc	2220
	ttgggtgttc ttgtcctgtt ccacggcgat ccctgtcagg gctctattca gctgggtgca	2280
	gaagctgccc tactgcagca gcagggttga gcactcggtg gaatcgccgc agatgtacat	2340
	ggtgcagtcc acgctggatct tggatcatggc cacaggcagg atctctgtgg tcacgctgat	2400
25	ggtgaagttg gtggggatag cgatagatgtt gttggagtagt gccacgctgt tctcgccgccc	2460
	cagagacatt gtgttaggcaa tggatgtctg gctggccaca gatctggccc gtctgggct	2520
	gtttgtctgt gtctggtagc tggcacagat gccagcgccg atggggatgt cgcaactcgat	2580
	gctattgttc acgtgtctgg ctccgatcag acagccgct ctggtctgaa acacattgtct	2640
	gccgggtggag tacacccgccc atgttaggtgt cagctgatcg gcgtaatgg ccacggcac	2700
30	ttcgggtacag ttcacgtcct ggtacagcac tgccacctga ttgctgggt tggtgccagg	2760
	ggtgatcaca gacactccgc cgaagctgca aggggtgtat tccaggattt ccagtgtctg	2820
	gggatctcgat acggcgctcg tggatcgatc aatatcccg ccaaactgct ggaatggcag	2880
	gaacttcttg ttgtctctg tcagcacgccc ggtgccggc aggccgttga agttgaagtt	2940
	cacgcatttg ttcttcacga gattgggtgt tttcttaggg ccgcacactg tggcagggc	3000
35	atgcagcagt tcgaagctca gcaccaccac tctgttagggc tgatagcccc cgccatttgt	3060
	gggctgaaat ccgttaggact gcagttggaa gtatgttgc aagccttcca cgccgttaca	3120
	aggggtgtcg cccggctgtat agatctcggt ggagatgtcc cgctcgaaagg gcttcagatt	3180
	ggacttccgg aacagccggt acaggtaatt gtatgtcccg ccgactttgg agtccaggtt	3240
	gttgctgttc caggcaatca cacagccggt gaagtcgtcg ggcagctgt agttgtatgc	3300
40	ggcgatcttgc cctgtctgtc caggggcaat ctgcccact tcatctcccc ggatcaca	3360
	gctgtcggcg tacacgtttg tgaagcacag gtcgttgcagc ttggtagggg acacgccc	3420
	gcacttgaag gtgctgaagc tggcgaggtt gtacagcacg gagtagtgcgg ccacgcatt	3480
	gctgatccgc ttccgggttcc aggctacac agaggcgaat ctggtggcat tgaacacctc	3540
	gccgaagggg cacagattgg tgatattggg gaaccgcacg atggattcgg tgggctgcac	3600
45	ccggaagttg ctggtctggt agatgccctt ttccacgggt aaggacttca gggtgcactt	3660
	tgtctcgctc agaggatcca gagcacaatc cacggcgatc gtatgtgtc cggtctcgat	3720
	gtacttcagc aggaaggttc taggctgcag gtatcccaca tagtaagcgg cggcaccagc	3780
	tgtccatccg ctgtctgtat cgccaggatc caggttagctt ctgtgcaggg ccagcagtgt	3840

	ctgaaaccgg gtgatgttga tgccgatggg cagatccacc aggggttcca gagcagagaa	3900
	gccctgaggc agatcccgc a cgagggtat aggggtgtgc ttgctgtaga tcttgaagta	3960
	gccgtcgatg ttcttgaaca cgaactcgca caggttctt aagttgcctt gcttcgccttc	4020
	caggtccatc aggaaaggct gggacacgta ctcgaaggta cagttgttgg cgctgctgta	4080
5	caccggAAC tcgcttcca tccagctttt gttgttctt tgatagttaga cgcccaggaa	4140
	ggggtcgttg cagaactgga actcgacac tttgtatgacc acgttgggtgg cgttgttcac	4200
	gatcagcagg ctctgggtct tgctgtccag tgtggtgcgg aagatccagc ctctgtatgat	4260
	gttggacttc tcgggtctgg caaatgtacac cccgtcggtg aagggcagca cgggggttgc	4320
	gaatctctt gttccattgg tgccggacac gtggatggcg tggaccagg tcacgttgc	4380
10	gaagaaaggc aggaacaggc cctgggtaga gtgcagcacg ctggatctga acaccttgc	4440
	ggggtagtac acgcctctgg taaagctgtt ggttaggtc ggaggcagct ggggttcttgc	4500
	ggtcaggttc acacactgac tagagactag tggcaataac acaaggaaca caaacatgg	4560
	accaagctta ggctcgagcg gccgcgtcga cggtaccaga tctctagcgg atctgacgg	4620
	tcactaaacc agctctgctt atatagacct cccaccgtac acgccttaccg cccatttgc	4680
15	tcaatggggc ggagttgttta cgacatTTT gaaagtcccgtt gatTTTtg tgccaaaaca	4740
	aactccatt gacgtcaatg ggggtggagac ttggaaatcc ccgtgagtca aaccgctatc	4800
	cacgcccatt gatgtactgc caaaaccgc a tcaccatggt aatagcgatg actaatacgt	4860
	agatgtactg ccaagtagga aagtcccata aggtcatgtt ctgggcataa tgccaggcgg	4920
	gccatttacc gtcatttgcg tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgt	4980
20	ctgccaagtg ggcagtttac cgtaaataact ccaccattt acgtcaatgg aaagtcccta	5040
	ttggcggtac tatgggaaca tacgtcatta ttgacgtcaa tgggggggg tcgttggcgg	5100
	gtcagccagg cgggcccattt accgttaagtt atgttaacgcg gaactccata tatgggctat	5160
	gaactaatga cccccgttaatt gattactatt aacagtgtt aaacgtatac ctataaaggc	5220
	gggtgtctta cgagggtctt ttgttcttgc tgcaagacatc atgaacggga ctggcggg	5280
25	cttcgaagggg gggcttttta gcccattttt gacaaccgcg ctggccggat gggccggagt	5340
	tcgtcagaat gtgatgggat cgacgggtgg tggggcggca gtgttccag caaattccctc	5400
	gaccatgacc tacgcgaccg tggggactc gtgcgtcgac agcaccgcg cagccgcggc	5460
	agccgcagcc gccatgacag cgacgagact ggcctcgac tacatgccc gcagcggtag	5520
	tagccctct gtgcccagtt ccatcatcgc cgaggagaaa ctgctggccc tgctggcga	5580
30	gctggaaagcc ctgagccgccc agctggccgc cctgaccagg caggtgtccg agctccgcga	5640
	acagcagcag cagaaaata aatgattcaa taaacacaga ttctgtattca aacagcaaag	5700
	catctttatt atttatttt tcgcgcgcgg tagggccctgg tccacctctc ccgtatatt	5760
	agagtgcggt ggatttttc caggaccgg tagaggtggg attggatgtt gaggtacatg	5820
	ggcatgagcc cgtcccggtt gtggaggttag caccactgca tggcctcgat ctctggg	5880
35	gtgttgtaga tgcgttgcgtc atagcagggg cgctggcgt ggtgttgcgt gatgtccctt	5940
	aggaggagac tgcgttgcac gggggcccc ttgggtttagg tgggttgcgg acgggttgc	6000
	tggggggat gcatgcgggg ggagatgtatg tgcgttgcgtt cctggatctt gaggttggcg	6060
	atgttgcac ccagatcccc ccgggggggtt atgttgcgtt ggaccaccag aacgggttag	6120
	cccggtcact tggggactt gtcatttgcac ttggaaaggaa atgcgttggaa gaatttggag	6180
40	acgccttgcgtt gcccgcggc gttttccatg cactcatcca tgcgttgcgtt aatggggcc	6240
	tgggctgcgg ctggcggaaa gacgtttctg ggggtcgatgatcgttattt atgctccctt	6300
	gtgagatcat cataagacat ttatgtatgat ttggggccgg ggggttgcgg tggggggacg	6360
	atgggtccctt cggggccccgg ggcgttgcgtt ccctcgatcgtt tctgtatctt ccaggctt	6420
	atctcgagg gggggatcat gtcatttgcgtt ggggttgcgtt aaaaaacggt ttccgggg	6480
45	gggggtgtatga gctgcgttgcgtt gggcgttgcgtt ctcaacagct gggacttgcgtt gca	6540
	ggggccgttgcgtt tgaccccgat gacgggttgc aggtgttgcgtt tcaaggatgcgttgcgtt	6600
	tcgtcccgat gggggggggc cacctcgatgcgtt agcttgcgtt tgcgttggag gtttcccg	6660
	acgagatcgcccgagggccgtt gtcatttgcgtt ggggttgcgtt aaaaaacggt ttccgggg	6720

	ttttcaggg gcttgagccc gtcggccatg ggcatacttgg cgagggtctg cgagaggagc	6780
	tccaggcggt cccagagctc ggtgacgtgc tctacggcat ctcgatccag cagacttcct	6840
	cgtttcgaaaa gttgggacga ctgcgactgt agggcacgag acgatggcg tccagcgcgg	6900
	ccagcgtcat gtccttccag ggtctcaggg tccgcgttag ggtggtctcc gtcacggta	6960
5	aggggtgtggc cgccggctgg gcgcttgcaa gggtgcgctt gagactcatc ctgctggtgc	7020
	tgaaacgggc acggtcttcg ccctgcgcgt cggcgagata gcagttgacc atgagctcgt	7080
	agttgagggc ctcggcggcg tggcccttgg cgcggagctt gcccttggaa gagcgccccgc	7140
	aggcgggaca gaggagggat tgcaaggcgt agagcttggg cgcgagaaag acggactcgg	7200
	gggcgaaggc gtccgctccg cagtggcgc agacggtctc gcactcgact agccaggtga	7260
10	gctcgggctg ctcggggtca aaaaccagtt ttccccctt cttttgatg cgcttcttac	7320
	ctcgcgtctc catgagtctg tgtccgcgt cggtgacaaa caggctgtct gtgtccccgt	7380
	agacggactt gatgggcctg tcctgcaggg gcgtcccgcg gtcctcctcg tagagaaact	7440
	cagaccactc tgagacgaag gcgcgcgtcc acgccaagac aaaggaggcc acgtgcgagg	7500
	ggttagcggc gttgtccacc aggggttcca cttttccac ggtatgcagg cacatgtccc	7560
15	cctcctccgc atccaagaag gtgattggct ttaggtgta ggccacgtga cctggggttc	7620
	ccgacggggg ggtataaaaag ggggcgggtc tgtgctcgct ctcactcttccgcgtcgc	7680
	tgtccacgag cgccagctgt tggggtaggt attccctctc aagagcgggc atgacctcgg	7740
	cactcagggtt gtcagttct agaaacgagg aggattttagt gtgggcctgc cctgccgcga	7800
	tgcttttag gagactttca tccatctggt cagaaaagac tatttttta ttgtcaagct	7860
20	tggtggcga ggagccatag agggcggtt agagaagctt ggcgatggat ctcatggtct	7920
	gattttgtc acggtcggcg cgctccttgg ccgcgtatgtt gagctggaca tattcgcgcg	7980
	cgacacactt ccattcgggg aagacggtgg tgcgctcgatc gggcacgatc ctgacgcgc	8040
	agccgcgggtt atgcagggtt accaggttcca cgctgggtgg cacccgcgcg cgcagggtt	8100
	cgttggtcca gcagagtctg ccgccttgc gcgagcagaa cggggcagc acatcaagca	8160
25	gatgctcgatc aggggggttcc gcatcgatgg tgaagatgcc cggacagagt tccttgtcaa	8220
	aataatcgat tttttaggat gcatcgttcca aggccatctg ccactcgccg gcggccagcg	8280
	ctcgctcgta ggggttgagg ggcggacccc aaggcatggg atgcgtgagg gcggaggcg	8340
	acatggccca gatgtcatag acatagatgg gtcggagag gatgccatg taggtggat	8400
	agcagcgc cccgcggatg cttgcgcga cgtagtcata caactcgatc gagggggcca	8460
30	agaaggcggg gccgagattt gtgcgctggg gtcgctggc gcggaaagacg atctggcgaa	8520
	agatggcggt cgagttggag gagatgggtt gcccgttggaa gatgttaaag tggggcgttgg	8580
	gcaggcggac cgagtcgcgg atgaagtgcg cgttaggatgc ttgcagcttgc ggcacgagct	8640
	cggcggttgc gaggacgtcc atggcgcagt agtccagcgt ttgcggatg atgtcataaac	8700
	tcgcctctcc tttttctcc cacagctgc gttttagggc gtattcctcg tcattccttcc	8760
35	agtactcccg gagcggaaat ctcgatcgatc cgcacggta agagccagc atgttagaaat	8820
	ggttcacggc cttgttaggat cagcagccct tctccacggg gagggcgtaa gtcggcg	8880
	ccttgcggag cgaggtgtgc gtcaggccaa aggtgtccct gaccatgact ttcaagaact	8940
	ggtacttgaa gtcccgatgc tcgcagccgc cgtgccttca gagtcgaaa tcgggtgcgt	9000
	tcttcgagag ggggttaggc agagcggaaat tgacgttattt gaagagaatc ttgcctgccc	9060
40	gcggcatgaa attgcgggtt atgcggaaag gcccgggac ggaggctcg ttgtttagtgc	9120
	cctggcggc gaggacgatc tcgtcaaaatc cgtttagtgc ttgcggacg atgttagat	9180
	ccatgaatcg cggcggccct ttgtatgtgc gcaatcttgg gagtcctcg taggtgaggt	9240
	cctcggggca ttgcaggccg tgctgcgtca ggcggccactc ctggagatgt ggggtggctt	9300
	gcatgaagga agcccagagc tcgcggccca tgagggtctg gagtcgtcg cgaaagaggc	9360
45	ggaactgtcg gcccacggcc atctttctg gggtgacgca gtagaagggtt aggggggtccc	9420
	gctcccagcg atcccagcg aaacgcacgg cgagatcgatc agcgaggccg accagctctg	9480
	ggtccccggaa gaatttcatg accagcatga aggggacgag ctgcgtccg aaggacccca	9540
	tccaggtgtt ggtttctaca tcgttaggtt gaaagagccg ctccgtgcga ggatgagagc	9600

	cgattggaa gaactggatt tcctgccacc agttggacga gtggctgtg atgtgatgaa	9660
	agtagaaaatc ccgcggcga accgagca actcgacgcg ctgcacgggc tgcacccat ctcacggata cacagcgcgt cccttgagga	9720
5	ggaacttcag gagtggcggc cctggctggt gttttcatg ttgcctgcg tgggactcac cctggggctc ctcgaggacg gagaggctga cgagccgcg cggagccag gtccagatct cggcgcggcg gggcggaga gcgaagacga gggcgcgcag ttggagctg tccatggtgt cgccggagatc caggtccggg ggcagggttc tgaggttgac ctcgtagagg cgggtgaggg cgtgctttag atgcagatgg tacttgattt ctacgggtga gttgggtgtc gtgtccacgc attgcatgag cccgtagctg cgccgggcca cgaccgtgcc gcgggtgcgt tttagaagcg	9780
10	gtgtcgccga cgcgctccc gcccgcggc cggttccggc cccgcggca gggcggcag aggacgtcg gcgtggcgct cggcagggtc cccgtgctgc gccctgagag cgctggcgtg cgcgacgacg cggcgggttga catcctggat ctgcgcctc tgcgtgaaga ccacgggccc cgtgactttg aacctgaaag acagttcaac agaatcaatc tctgcgtcat tgacggcggc ctgacgcagg atctttgca cgtcgcccga gttgtcctgg taggcgatct cggacatgaa	9840
15	ctgttcgatc tcctccctc ggagatcgcc gcggccgcg cgctccacgg tggcggcgag gtcattggag atgcgaccca tgagctgcga gaaggcgccc aggccgtct cggtccagac gcggctgttag accacgtccc cgtcggcgct gcgcgcgcg atgaccacct gcgcgaggtt gagctccacg tgccgcgcaa agacggcgta gttgcgcagg cgctggaaga ggtagttgag ggtggtggcg atgtgctcgg tgacgaagaa gtacatgatc cagcggcgca gggcatctc	10020
20	gctgatgtcg ccgatggctt ccagccttc catggcctcg tagaagtcca cggcgaagtt gaaaaactgg gcgttgcggg ccgagaccgt gagctcgct tccaggagcc ggatgagttc ggcgatggtg gcgcgcacct cgcgctcgaa atccccgggg gcctccctc cttccctctc ttccatgacg acctcttctt ctattcttc ctctggggc ggtggtggtg gcgggggccc acgacgacgg cgacgcaccg ggagacggc gacgaagcgc tcgatcatct ccccgccgcg	10080
25	gcgcacgcatg gtttcggtga cggcgcgacc ccgtcgca ggacgcagcg tgaagacgcc gccggcatac tccccgtaat gggcgggtc cccattgggc agcgataggg cgctgacgat gcatcttatac aattgcggtg tagggacgt gagcgcgtcg agatcgaccg gatcgagaa tcttcgagg aaagcgtcta gccaatcgca gtcgcaaggt aagctcaaac acgtacgc acctgcggacg ctgttagaat tgcggttgct gatgatgtaa ttgaagtagg cgtttttag	10140
30	gcggcggatg gtggcgagga ggaccaggc cttgggtcca gcttgctgga tgcggagccg ctcggccatg ccccaggcc ggcctgaca cggcgtcagg ttctttagt agtcatgcat gagcctctca atgtcatcac tggctgaggc ggagtcttcc atgcgggtga cccgcacgcc cctgagcggc tgcacgcgcg ccaggcggc gacgacgcgc tcggcgagga tggcctgttg cacgcgggtg agggtgcct ggaagtcgtc catgtcgacg aagcgggtat agggcccggt	10500
35	gttgatggtg taggtgcagt tggccatgag cgaccaggc acggctcgca ggcctggctg cacgacctcg gagtacctga gcccgcgagaa ggcgcgcgag tcgaagacgt agtcgttgca ggtgcgcacg agtactggt atccgactag gaagtgcggc ggcggctggc ggtagagcgg ccagcgtgg gtggccggcg cgcgggggc caggtcctcg agcatgaggc ggtggtagcc gtagaggtag cgggacatcc aggtgatgcc ggcggcggtg gtggaggcgc gcgggaactc	10560
40	gcggacgcgg ttccagatgt tgcgcagcgg cagggaaatag tccatggtcg gcacggctcg gccggtgaga cgccgcgcgt cattgacgct ctagaggcaa aaacgaaagc ggttgagcgg gctttccctc ctaggcctgg cggAACGCAA acgggttagg ccgcgtgtgt accccgggttc gagtccctc gaatcaggct ggagccgcga ctaacgtggt attggcactc ccgtctcgac ccgagccga tagccgcag gatacggcgg agagccctt ttgcggccg aggggggtcg	11220
45	ctagacttga aagcgaccga aaaccctgcc gggtagtggc tcgcgcggcgt agtctggaga agcatcgcca gggttgagtc gcggcagaac cgggttcgag gacggccgcg gcgagcggga ctgggtcacc cgcggatataa agaacccac agccagccga cttctccagt tacggagcg agcccccctt ttctttttg ccagatgcat cccgtcctgc gccaaatgcg tcccaccccc	11280

	ccggcgacca ccgcgaccgc ggccgttagca ggcccggcg ctagccagcc accacagaca	12540
	gagatggact tggaaagaggg cgaagggctg gcaagactgg gggcccgctc cccggagcga	12600
	catcccccgcg tgcagctgca gaaggacgtg cgcccggcgt acgtgcctac gcagaacctg	12660
	ttcagggacc gcagcgggaa ggagccccgag gagatgcgctg actgcccgtt tcggccggc	12720
5	agggagctgc gcgaggcccgg cggaccggccag cgcgtgctgc gcgcgacgaggata ttgcgagccg	12780
	aacgagcaga cggggatcg ccccgcacgc ggcgcacgtgg cggcagccaa cctgggtgacg	12840
	gcctacgagc agacggtgaa gcaggagcgc aacttccaa agagttcaa caaccacgtg	12900
	cgcacccctgta tgcgcgcgca ggaggtggcc ctgggcctga tgccacgtgt ggacctggcg	12960
	gaggccatcg tgcagaaccc ggacagcaag cctctgacgg cgcagctgtt cctgggtggtg	13020
10	cagcacagca gggacaacga ggcgttcagg gaggcgctgc tgaacatgcgc cgagccccgag	13080
	ggtcgctggc tgctggagct gattaacatc ttgcagagca tcgttagtgcgaa ggagcgccagc	13140
	ctgagcctgg ccgagaaggt ggcggcgatc aactactcggt tgctgagccct gggcaagttt	13200
	tacgcgcgca agatttacaa gacgcgtac gtgcccata gcaaggaggta gaagatagac	13260
	agctttaca tgcgcatggc gctcaaggtg ctgacgctga gcgcgacacct gggcggtac	13320
15	cgcaacgacc gcatccacaaa ggccgtgagc acgagccggc ggcgcgagct aagcgaccgc	13380
	gagctgatgc tgagtctgca ccggcgctg gttagggggcg ccgcggcgcc cgaggagtcc	13440
	tacttcgaca tgggtgcgga cctgcattgg cagccagcc ggcgcgcctt ggaggccgccc	13500
	tacggttcag aggacttggc tgaggaagag gaagaggagg aggatgcacc cgctgcgggg	13560
	tactgacgcc tccgtatgt gttttagat gtcccagcaa gcccccggacc ccgccataag	13620
20	ggcggcgctg caaagccagc cgtccggctc acgtcgac gactggggggcc cgcgatgca	13680
	acgcacatcg gcccgcacgc cccgcaccc ccgggtcctt agacaacagc cgccaggccaa	13740
	cagactctcg gccattctgg aggccgtggt cccctctcgg accaacccta cgacgagaa	13800
	ggtgctggcg atcgtgaacg cgctggcgga gaacaaggccc atccgtcccg acgaggccgg	13860
	gctgggtgtac aacgcctgc tggagcgcgtt gggccgtac aacagcacga acgtgcagtc	13920
25	caacctggat cggctggta cggacgtgcg cgaggccgtg gcgcgacgcg agcggttcaa	13980
	gaacgagggc ctgggtcgcc tggtggcgct gaacgccttc ctggcaacgc agccggcgaa	14040
	cgtgccgcgc gggcaggacg attacaccaa ctttatcagc gcgcgtcgcc tgatgggtac	14100
	cgagggtcccc cagagcggagg tgtaccagtc tggcccgac tacttttcc agacgagccg	14160
	gcagggcttg cagacgggtga acctgagcca ggcttcaag aatctgcgcg ggctgtgggg	14220
30	cgtgcaggcg cccgtggcgg accggtaaac ggtgagcgc ttgctgacgc ccaactcg	14280
	gctgctgctg ctgctgtatcg cgcccttcac cgacagccggc agcgtgaacc gcaactcgta	14340
	cctggccat ctgctgacgc tgtaccgcga gcccataaggc caggcgcagg tggacgagca	14400
	gaccttccag gagatcacta gcgtgagccg cgcgcgggg cagaacgaca cgcacagtct	14460
	gaggcccacc ctgaacttt tgctgaccaa tagacagcag aagatcccgg cgcagtacgc	14520
35	actgtcgcc gaggagaaaa ggattctgag atatgtgcgcg cagacgcgtg ggctgttccct	14580
	gatgcaggag ggtgccaccc ccagcgccgc gctggacatgc accgcgcgc acatggAAC	14640
	tagcatgtac gccgcacacc ggcggatccat caataagctg atggactact tgcaccgc	14700
	ggcggccatg aacacggact actttaccaa cgcacccatcg aacccgcact ggctcccgcc	14760
	gccgggggttc tacacggcg agtacgacat gcccgcaccc aacgacgggt tcctgtgg	14820
40	cgacgtggac agcgcgtgt ttcgcgcac cttcaaaag cgccaggagg cgccgcgg	14880
	cgaggcgcgc gtgggggagga gccccttc tagcttaggg agtttgcata gcttgcgg	14940
	ctcggtgaac agcggcgagg tgagccgc ggcgttgcgt ggcgaggacg agtacgtaa	15000
	cgactcgctg ctgcagccgc cgccggccaa gaacgcctcg gccaataacgc ggatagagag	15060
	tctgggtggac aaactgaacc gctggaaagac ctacgctcg gaccataggg acgcgc	15120
45	gccgcggcga cagcgcacgc accggcagcg gggccgtggc tggtggacgcg aggactcg	15180
	cgacgatagc agcgttgtgg actttggcg gacggcggtgg gtcaacccgt tcgcgc	15240
	gcagccaaa ctggggcgac ggtatgttttg aatgaaataa aactcaccaa ggccatagcg	15300
	tgcgttcttct tcctgttag agatgaggcg cgcggcggt tcctccctc tcctccctc	15360

	gtacgagac gtgatggcgc aggcgaccct ggaggttccg tttgtgcctc cgccgtatat	15420
	ggctcctacg gagggcagaa acagcattcg ttactcggag ctggctccgc agtacgacac	15480
	cactcgcgtg tacttggtg acaacaagtc ggcggacatc gcttccctga actaccaaaa	15540
	cgaccacaga aacttcctga ccacggtggt gcagaacaac gatttcaccc ccgccgaggc	15600
5	cagcacycgac acgataaatt ttgacgagcg gtcgcygtgg ggcggtgatc tgaagaccat	15660
	tctgcacact aacatgccc atgtgaacga gtacatgttc accagcaagt ttaaggcgcg	15720
	ggtgatggtg tcttaggaagc atccagaggg gtagtggaa acagattga gtcaggataa	15780
	gcttgaatat gagtggttt agtttaccct gcccgggaaa aactttccg agaccatgac	15840
10	catagacactg atgaacaacg ccatcttggaa aaactacttg caagtgggac ggcagaatgg	15900
	cgtgctggag agcgatatacg gagtcaagtt tgacagcaga aatttcaagc tggggctggg	15960
	cccggtgacc aagctggta tgccagggtt ctacacctac gaggccttcc acccgacgt	16020
	ggtgctgctg cccggctgac ggggtggactt caccgagagc cgcctgagca acctcctggg	16080
	cattcgcaag aagcaacctt tccaagaggg ctccagaatc atgtatgagg atctagaagg	16140
	tggcaacatc cccgcctcc ttgatgtgcc caagtacttg gaaagcaaga agaaagttga	16200
15	agacgaaaact aaaaatgcacg ctgcggccac agccgatatac accactagggt gtgatacatt	16260
	tgcaactcca gcgcaagaga cagcagctga taagaaggta gaagtcttgc ccattgaaaa	16320
	gtagatgagat ggtagaagtt acaacactgtat ccagggggacc cacgacacgc tgtaccgcag	16380
	tttgcacactg tcctataccct acggggaccc cgagaagggg gtagcagtcgt ggacgctgct	16440
	caccaccccg gacgtaatctc gcggcgccgaa gcaagtctac tggtcactgc cgacatccat	16500
20	gcaagaccccc gtcacccctt cctccaccca gcaagtctc aactaccccg tggtcggcgc	16560
	cgagctcatg cccttcccg ccaagagctt ttacaacgc ctcgcgtct actcccgact	16620
	catccgcagc tacacccccc tcacccacgt tttcaaccgc ttccccgaca accagatcc	16680
	ctggccccc cccgcgcccc ccatcaccac cgtcagtgaa aacgtgcctg ctctcacaga	16740
	tcacggacg ctaccgctgc gcagcgttat ccgcggagtc cagcgtgtgaa ccgtcactga	16800
25	cgcccggtcgcc cgccacccgtc cctacgtcta caaggccctg ggcatacg tcgccccg	16860
	gcttccagt cgcacccctt aaaaatgtt ctattctcat ctcgcccagc aataacaccg	16920
	gctgggtct tactagacc accacccatgt acggaggagc caagaagcgc tcccagcagc	16980
	accccgcccg cgtccgcggc cacttccgcg ctccctgggg cgcttacaag cgccggcgga	17040
	cttccaccgc cgtpcgcacc accgtcgacg acgtcatcgca ctgggtggc gccgacgcgc	17100
30	gcaactacac tcccccccccc tccaccgtgg acgcggctcat cgacagcgtg gtggccgac	17160
	cgccgcacta tgccagacgc aagagccggc ggcgacggat cgccaggcgc caccggagca	17220
	cgcccgccat gcgccgcccc cgggtctgc tgcgcgcgc cagacgcacg gcccgcgggg	17280
	ccatgatgcg agccgcgcgc cgccgtcctt ctcaccaccccccgagc aggactcgca	17340
	gacgagccgc cgccgcccgc gctgcggcca tctctagcat gaccagaccc aggccggaa	17400
35	acgtgtactg ggtgcgcgac tccgtcacgg ggtgcgcgt gcccgtgcgc acccgccctc	17460
	ctcgccctg atctaattgt tttgtccctc cccgcaagcg acgtatgtcaa agcgcaaaa	17520
	caaggaggag atgctccagg tcgtccccc ggagatgttac ggaccacccc aggccggacca	17580
	gaaaccccgc aaaaatcaagc gggtaaaaaa aaaggatgag gtagcagtgagg gggcagtaga	17640
	gtttgtgcgc gagttcgctc cgcggcgccg ctgttttttttgg aaggccgac ggggtcgac	17700
40	cgtgttgcgg cccggcacgg cggttgtgtt cacgcctcggc gagcggtct cggtcaggag	17760
	caagcgtagc tatgacgagg ttgtccgcgc cggcggatcc ctcgcaccagg cggcggagcg	17820
	ggccggcgag ttgcgcctacg ggaagccggc gcgcaagag gagctgtatct cgctgcccct	17880
	ggacgaaagc aaccggcacgc cgagccctgaa gcccgtgacc ctgcaggcagg tgctgcccc	17940
	ggcggtgtcg ctggccgagcc gcgccgtcaa gcgccggggc gagagcatgt acccgaccat	18000
45	gcagatcatg gtgcccaga gcccggcgcgt ggaggacgtg ctggacaccg tgaaaatggaa	18060
	tgtggagccc gaggtcaagg tgcccccata caaggatgt ggcggccggcc tggcgctgca	18120
	aaccgtggac attcagatcc ccaccgacat gtagtgcac aaaaacccct cgaccagcat	18180
	cgaggcggcacc accgaccctt ggctccctgac ccgtcaccgc ctccaccgtt accgtctcca	18240

	cgccacggct accgagcctc ccaggaggcg aagatggggc gcccgcagcc ggctgatgcc	18300
	caactacgtt ttgcattcctt ccatcatccc gacgcccggc taccgccccca cccggata	18360
	cgccagccgc cggcccccag ccagccaaacg ccgcccgc accgcccaccc gccgcgtct	18420
	ggcccccggc cgcgtgcccgc gcgtgaccac gccccgggccc cgctcgctcg ttctgcccac	18480
5	cgtgcgtac cacccccagca tcctttaatt cgtgtgctgt gatactgtt cagagagatg	18540
	gctctcactt gccgcctgcg catccccgtc ccgaatttacc gaggaagatc cgcgcgcagg	18600
	agaggcatgg caggcagcg cctgaaccgc cggccggggc gggccatgcg caggcgccctg	18660
	agtggggct ttctgcccgc gtcatcccc ataatgcgg cggccatttg cacgatccc	18720
	ggcatagctt ccgttgcgt gcaggcgctg cagcgccgtt gatgtgcgaa taaagcctct	18780
10	ttagactctg acacacctgg tcctgtatat ttttagaatg gaagacatca attttgcgtc	18840
	cctggctccg cggcacggca cgccgcgtt catgggcacc tggAACGAGA tcggcaccag	18900
	ccagctgaac gggggcgcct tcaattggag cagtgtctgg agcgggctta aaaatttcgg	18960
	ctcgacgctc cggacctatg ggaacaaggc ctggaaatagt agcacggggc agttgttaag	19020
	ggaaaagctc aaagaccaaa acttccagca gaagggtggg gacgggctgg cctcggcat	19080
15	taacggggtg gtggacatcg cgaaccaggc cgtgcagcgc gagataaaca gccgccttgg	19140
	cccgccgccc cccacgggtgg tggagatggc agatgcact cttccgcgc ccaaaggcga	19200
	aaagcggccg cggcccgacg cggaggagac gatcctgcag gtggacgagc cgcgcgtgt	19260
	cgaggaggcc gtcaggccg gcatgcac cacgcgcata atcgccccc tggccacggg	19320
	tgtaatgaaa cccgcccccc ttgacctgac tccaccaccc gccggccgtc caccgaaggc	19380
20	aactccggtt gtgcaggccc ccccggtggc gaccggcggt cgccgcgtcc cccggcccg	19440
	ccaggccca gactggcaga gcacgctgca cagtatcgctt ggcctggag tgaaaaagtct	19500
	gaagcgccgc cgatgttattt gagagagagg aaagaggaca ctaaaggagg agcttaactt	19560
	gtatgtgcct taccgcaga gaacgcgca agatggccac cccctcgatg atgcgcagtg	19620
	gggcgtacat gcacatcgcc gggcaggacg ctcggagta ctcggccgc ggtctgggtc	19680
25	agtttgcggc cggccaccgc acgtacttca gcctggccaa caagtttagg aacccacgg	19740
	tggcccgac ccacgatgtt accacggacc ggtcccagcg tctgacgctg cgcttcgtgc	19800
	ccgtggatcg cgaggacacc acgtactcgta caaaggcgcg cttcactctg gccgtggcgc	19860
	acaacccgggt gctagacatg gccagcactt accttgcacat cccggcgctc ctggaccgc	19920
	gtcccagctt caaacccctac tcgggcacgg ctcacaacag ctcggctccc aagggtgccc	19980
30	ccaatcccgat tcagtgggaa aaaaaagaaaa agcaaggaac tactggagga gtgcagcaag	20040
	aaaaagatgt cacaacaaaa ttgggtgtgg ctggccacccg cgaaattaat ataacaaacc	20100
	agggtctgtt acttaggaact gacggaaaccg ctgagaatgg caaaaaagac atttatgcag	20160
	acaagacttt ccagccagaa cctcaagttt gagaagaaaa ctggcaggaa aatgaaggcct	20220
	tctatggagg aagggtcttt aaaaaggaca ctaaaatgaa accatgcttat ggatctttg	20280
35	ctagacctac taatgagaaa ggaggtcagg caaagttca accagttat gaaggagaac	20340
	aacctaaaga tctggatata gatggcctt accttgcacgt ccctggcggg agtcctccag	20400
	caggtgttag tggggaaatggatacacaacgcg atataatttt gtacactgaa aatgtttaatc	20460
	ttgaaacacc agacactcat gtggtttaca agccaggaac ttcagataac agttcagaaaa	20520
	tcaatcttgt tcagcagtcc atgcacaaca gacccaaacta cattggcttt agggacaact	20580
40	ttgttaggtct catgtattac aacagcaccg gaaatatggg tggcgtggct ggtcaggctt	20640
	ctcagttgaa cgctgtggc gacttgcaag acagaaacac cgagtttatct taccagctat	20700
	tgcttagattc tctgggtgac agaaccagat acttttagcat gtggactct gcgggtggaca	20760
	gttacgatcc agatgtcagg atcattgaaa atcacgggtt ggaagatgaa cttccaaact	20820
	attgtctccc attgaatggc actggaaacca attccacttca tcaaggtgta aagattacaa	20880
45	atggtaatga tgggtgctgaa gaaagtgagt gggagaaaga cgatgcattt tctagacaaa	20940
	accacatctg caagggcaat gtctacgcca tggagatcaa cctgcaggcc aacctgtgga	21000
	agagtttct gtactcgaac gtggccctgtt acctggccga ctcctacaag tacacggcg	21060
	ccaacgtcaa gtcggccggc aacaccaaca ctcacgatcaat catgcacggc cgcgtggtag	21120

ccccatccct ggtggacgcc tacatcaaca tcggcgccc ctggtcgtt gaccccatgg 21180
acaacgtcaa ccccttcaac caccacccga atgcgggcct gcgcgtaccgc tccatgctgc 21240
tgggcaacgg ccgcgtacgt cccttccaca tccaagtgcc ccaaaaagttc tttgccatca 21300
agaacctgct cctgctcccg ggctcctaca cctacgagtg gaactccgc aaggacgtca 21360
5 acatgatcct gcagagttcc ctcggcaacg acctgcgcgt cgacggcgcc tccgtccgct 21420
tcgacagcgt caacctatac gccactttct tccccatggc gcacaacacc gcttcaaccc 21480
tggaaagccat gctgcgcaac gacaccaacg accagtcctt caacgactac ctctcgccg 21540
ccaacatgct ctacccatc cggccaagg ccaccaacgt gccatctcc atccatcg 21600
gcaactggc cgccttccgc ggctggagtt tcacccggct caagaccaag gaaactcctt 21660
10 ccctcggtc gggtttcgac ccctactttg tctactcggg ctccatcccc tacctcgacg 21720
ggaccttcta cctcaaccac accttcaaga aggtctccat catgttcgac tcctcggtca 21780
gctggcccg caacgaccgg ctgctcacgc cgaacgagtt cgagatcaag cgacgcgtcg 21840
acggggaggg ctacaacgtg gccaatgca acatgaccaa ggactggttc ctcgtccaga 21900
tgctctccc ctacaacatc ggctaccagg gttccacgt gcccggggc tacaaggacc 21960
15 gcatgtactc ttcttccgc aacttccagc ccatgagcag gcaggtggc gatgagatca 22020
actacaagga ctacaaggcc gtcaccctgc cttccagca caataactcg ggcttcaccg 22080
gctacctcgc acccaccatg cgccaggggc agccctaccc cgccaacttc ccctacccgc 22140
tcatcggtca gacagccgtg ccctccgtca cccagaaaaa gttcctctgc gacagggtca 22200
tgtggcgcatt cccattctcc agcaacttca tgtccatggg cgccctcacc gacctggc 22260
20 agaacatgct ctacgccaac tcggcccacg cgctcgacat gaccttcgag gtggacccca 22320
tggatgagcc cacccctcctc tatcttctct tcgaagttt cgacgtggc agagtacacc 22380
agccgcaccg cggcgtcattc gaggccgtct acctgcgcac gcccttctcc gccggcaacg 22440
ccaccaccta agcatgagcg gctccagcga acgagagctc gcggccatcg tgccgcac 22500
gggctgcggg ccctactttt tgggcaccca cgacaagcgc ttccgggtt ttctcgccgg 22560
25 cgacaagctg gcctgcgcca tcgtcaacac ggccggccgc gagacccggag gcgtgcactg 22620
gctcgccctc ggctggAAC ccgcgtcgcc cacctgctac atgttcgacc ctttgggtt 22680
ctcggaccgc cggctcaagc agatttacag cttcgagtac gaggccatgc tgccgcac 22740
cgccctggcc tcctcgcccc accgctgtct cagcctcgag cagtcactc agaccgtgca 22800
ggggcccgac tccgcccct gcggactctt ctgttgcatt ttcttgcatt cttcgtgca 22860
30 ctggcccgac cgacccatgg acggaaaccc caccatgaac ttgctgacgg gggtgccccaa 22920
cggcattgcta caatcgccac aggtgctgcc caccctcagg cgcaaccagg aggaactcta 22980
ccgcttcctc gcgcccaact ccccttactt tcgctccac cgcggccca tcgaacacgc 23040
caccgctttt gacaaaatga aacaactgcg tgtatctcaa taaacagcac ttttatttt 23100
catgcactgg agtatatgca agttattta aagtcgaagg gtttcgtcg ctcgtcg 23160
35 tgcggccgcg tggggagggg cacgttgcgg tactggtact tgggctgcca ctgttgcact 23220
gggatcacca gtttgggcac tggggtctcg gggaggtct cgctccacat gcggccggctc 23280
atctgcaggcg cggccagcat gtccggggcg gagatcttgc aatcgcaattt gggggccgggt 23340
ctctgcgcgc gcgagttgcg gtacacgggg ttgcagact ggaacaccat cagactgggg 23400
tacttcacac tagccagcac gctcttgcg ctgttgcatt ctttgcatt atcctcgccg 23460
40 ttgctcaggc cgaacggggt catcttgcac agctggcgcc ccaggaaggg cagctctga 23520
ggcttgcgtt tacactcgca gtgcacgggc atcagcatca tccccgcgc ggcgtgcata 23580
ttcgggtaga gggcatttgc aaaggccgcg atctgcttgc aagcttgcg ggcattggcc 23640
ccctcgctga aaaacaggcc gcagcttgc cgcgtgaact gtttattttt acacccggca 23700
tcctgcacgc agcagcgcgc gtcattgcg gtcagttgc ccacgcgtccg tccccagcgg 23760
45 ttctgggtca ctttagcctt gctggctgc tcctcaacg cgcgctgccc gtttcgtctg 23820
gtcacatcca tctccaccac gtggcccttgc tggatcatca tcgtcccgat cagacacttgc 23880
agctggcattt ccacctcggt gcagccgtga tcccacaggcg cgaacccgggt gcaactccag 23940
ttcttgcgttgcg caatcccgat gttggctgaag atgttacccctt gcaacatcgcc gcccattatg 24000

	gtgctaaatg ctttctgggt ggtgaaggc agttgcattcc cgccggccctc ctgcgttcattc	24060
	caggtctggc acatcttctg gaagatctcg gtctgctcgg gcatgagctt gtaagcatcg	24120
	cgccaggccgc tgtcgacgcg gtagcgttcc atcagcacgt tcatggtatac catgcccttc	24180
	tcccaggacg agaccagagg cagactcaga gggttgcgta cgttcaggac accgggggtc	24240
5	gcgggctcgatc cgcacgcgtt tccgtccttgc cttccttcata atagaaccgg cggctggctg	24300
	aatcccactc ccacgatcac ggcatcttcc tggggcatct cttcgtcggg gtctacccttgc	24360
	gtcacatgcgttggc ttttgcgtttcc ttggggag ggctgtccac ggggagcactgc	24420
	tcctcctcgga aagaccggca gcccccccgc tgataacttgc ggcgcttggt gggcagaggg	24480
	ggtgtggccggaggggctcc ttcctgttcc ggcggatagc gcgcgcaccc gtggcccccgg	24540
10	ggcgaggatgg cctctcgccatgaaccgg cgacgcgttc gactgtcgcc ggccatttg	24600
	tcctaggggatgg agatggagga gcagccgcgt aagcaggagc aggaggagga cttaaccacc	24660
	cacgagcaac ccaaaaatcga gcaggacactg ggcttcgaag agccggctcg tctagaaccc	24720
	ccacaggatg aacaggagca cgagcaagac gcaggccagg aggagaccga cgctggctc	24780
	gagcatggct acctgggagg agaggaggat gtgctgtgc aacacctgca gcgccagtc	24840
15	ctcatcctcc gggacgccct ggccgaccgg agcgaaaccc ccctcagcg tgcaggagctg	24900
	tgctggccct acgagctcaa cctcttcgtcc cgccgcgtac cccccaaccc cgacggccaac	24960
	ggcacctcgatggcccaaccc gcgttcacatc ttcttatcccc ttggggcggt ccccgaaagcc	25020
	ctcgccacccatcc acatcatcttttcaagaac caaaagatcc ccgtctcctg ccgcgcacac	25080
	cgaccggatcgccgatcgatccttgc gggcccgccg cgccatacc tgatatcgct	25140
20	tcccttggaaatgggtccaa gatcttcgaa gggctcggtc gggacgagac ggcgcggcg	25200
	aacgctctga aagaaacaggc agagggagggatggc ggtcacacta ggcggccgtt agagttggaa	25260
	ggcgacaaccc ccaggctggc cgtgcacatc tggatcgcggcatcttc gatcatgcc	25320
	ccccccgtca acctcccggcccaaggatcgc tggatcgcggcatca tggatcgcggcatcttc	25380
	cacatcgagg ccctcgatga aagtccggatgg cagcgccccg aggacgccccg gcccgtggc	25440
25	agcgacggatgg tgcgtccgcg ctggctcgccggg acccacgacc ccaggctttt ggaacagcg	25500
	cgcaagctca tgctggccgt ggtcttggc accctcgacg tggaaatgcat ggcggccgttc	25560
	ttcagcgacc ccgagaccct ggcgaaggc gaggagaccc tgcactacac ttccagacac	25620
	ggtttcgtca ggcaggccctg caagatctcc aacgtggac tggaccaaccc tggcttcgtc	25680
	ctggggatcc tgcacggaaaa ccgcctgggg cagaccgtgc tccactctac cctgaaggc	25740
30	gaggcgccgc gggactatgt ccgcgactgc gtcttcttat ttctttgcacatggcaa	25800
	gcagccatgg gctgtggca acagttgtc gaggacgata acctgaagga gtcggacaag	25860
	cttcttgcta gaaatcttaa aaagctgtgg acgggcttcg acgagcgcac cgtcgccctcg	25920
	gacctggcccg agatcgtgtt ccccgagcgc ctgaggcgatcg ctgtgaaagg cgggctgccc	25980
	gacttcatga gccaaggcat gttgcacccatc taccgcactt tcattctgc ggcacatgg	26040
35	atgctggcccg ccacctgcaatgcgttccgcactttgc tccgcgttag ctaccgcgag	26100
	tgtccccccgc cgcgttggatggacccatgcgtac ctcttgcac gggccaaacta catgccttac	26160
	cactcgacgc tgcgtccggac gtagcggccg gaggggcttcg tcgagtgcgc tgcggctgc	26220
	aacctgtgtt ccccgacccgc ctcccttggca tgcacccccc agctactaagg cgacgccccag	26280
	gtcatcgatcgatccttgagatcgac gcaaggatcgccg caggagtcca ccgcctcgatcg gaaactc	26340
40	ccgggggtgt ggacttccgc gtacctgcgc aaatttgtac ccgaggacta ccacgcac	26400
	gagataaaatgt tcttcgaggg ccaatgcgtt ccgcagcactgc cggatctc ggcctgcgttgc	26460
	atcaccgcggc gcgcacatcc cgcacattgc acgcacatcc aaaaatcccg ccaagatgtt	26520
	cttctgaaaaa agggtagagg ggtctaccttgc gaccccccaga cgggcaactg gtcacacccgc	26580
	ggtctccccc agcatgcgatgg cgaaggatggca ggacgcgatcg tggaggaggatgg aagaaggatgg	26640
45	atgggacagac caggcaggagg aggacgaatg ggaggaggagg acagaggagg aagaatttggatgg	26700
	agaggtggaa gaggaggcagg caacagagca gccccgttcc gacccatccg cggccggcagc	26760
	ccccggccgttcc acggataccaa cctccgcacgc tccggccaaag cctcctcgatcg gatggggatcg	26820
	agtgaagggt gacggatcgatcgac acgagcggca gggcttcccgatcgatcg tcatgggggg cccacaaacgg	26880

cgcgatcata gcctgcttgc aagactgcgg gggaaacatc gcttcgccc gccgctacct 26940
 gctttcac cgcggggtaa acatcccccg caacgttgc cattactacc gtcacccca 27000
 cagctaagaa aaaggcaagta aaaggagtcg ccggaggagg aggaggccgt aggtacgcgg 27060
 cgaacgagcc ctgaccacc agggagctga ggaaccggat cttcccaact ctttatgcca 27120
 5 ttttcagca gagtcgaggt cagcagcaag agctcaaagt aaaaaaccgg tctctcgct 27180
 cgctcacccg cagttgcctt taccacaaa acgaagatca gctgcagcgc actctcgaag 27240
 acgcccggc tctgttccac aagtactgcg cgctcactt taaagactaa ggccgcgc 27300
 cccggaaaaa aggccggaat tacccatcg ccaccatgag caaggagatt cccaccctt 27360
 acatgtggag ctatcagccc caaatggcc tggccgcggg cgcccccag gactactcca 27420
 10 cccgcatgaa ctggctcagt gcccgcctt cgatgatctc acgggtcaac ggggtccgca 27480
 gtcatcgaaa ccagatattt ttggagcagg cggcgtcac ctccacgc 27540
 tcaacccgcg taattggccc tccaccctgg tgtatcagga aatccccggg ccgactaccg 27600
 tactacttcc gcgtgacgca ctggcgaag tccgcatac taaactcaggt gtccagctgg 27660
 ccggcggcgc ttcccggtgc ccgcctccgca cacaatcggt tataaaaacc ctggtgatcc 27720
 15 gaggcagagg cacacagctc aacgcacgagt tggtgagc ttcgatcggt ctgcgaccgg 27780
 acggagtgtt ccaactagcc ggagccggg gatcctccctt cactcccaac caggcctacc 27840
 tgaccttgca gagcagctt tcggagcctc gctccggagg catcggaaacc ctccagttt 27900
 tggaggagtt tgtgccctcg gtctacttca accccttctc gggatcgcca ggcctctacc 27960
 cggacgagtt cataccgaac ttgcacgcag tgagagaagc ggtggacggc tacgactgaa 28020
 20 tgtcccatgg tgactcggct gagctgc tttggaggca tctggaccac tgccggcc 28080
 tgcgctgctt cgcccgaggag agctgcggac tcatctactt ttagtttccc gaggagcacc 28140
 ccaacggccc tgcacacggg gtgcggatca ccgtagaggg caccaccgag tctcacccgtt 28200
 tcaggttctt cacccagcaa cccttcgtt tcgagcggg accaccataca 28260
 ccgtctactt catctgttca accccgaagt tgcatgagaa ttttttgtt actctttgtt 28320
 25 gtgagtttaa taaaagctaa actcttgaa tactctggac cttgtcgctg tcaactcaac 28380
 gagaccgtct acctcaccaa ccagactgag gtaaaaactca cctgcagacc acacaagacc 28440
 tatatcatct gtttcttgc gaacacctca tttgcagtct ccaacactca ctgcaacgac 28500
 ggtgttgaac ttcccaacaa ctttccagt ggactgagtt acgatacaca tagagctaag 28560
 ctcgtcttca acaatccttt ttagaggaa accttaccagt gccagagcgg accttgtact 28620
 30 cacacccatgg atttggtaa cgtcaccacc acgcaccaaa gctcagaac taacccctt 28680
 tctgatacta acaaacctcg tttcgaggt gagctaaggc ttcccccctt ttaggggggg 28740
 gttagccat acgaagtggt cgggtatttgg attttagggg tggtcctggg tgggtgcata 28800
 gcgggtcttag tcgagatggg cggccaggcc tccgagcgc gcacccctgtca actgcgcg 28860
 cgtcagcaggc aggagcgtgc cgccaaaggag ctccgtatcgcc catcaacat ccaccaggc 28920
 35 aagaaggcata tcttctgc ttttcggat gtcacaaacat gcaaggatca cctacgagct cgtgtccggc 28980
 ggcaagcagc atgcgcctcg cttatgagctg cccagcaga agcagaagtt cacctgcac 29040
 gtggggctca accccatagt catcacccatcc cagtcgggagc agaccagcgg ctgcacccatcc 29100
 tgctcctgcg aaagccccaa gtgcacatcac tccctgc tca agaccctttt cgactccgc 29160
 gaccccttcc ccatgaaactt atgttgatta aaagccccaa aaccaatcag cccctttccc 29220
 40 ctaatcattc aataaaagatc acttacttgc aatctgaaatg tatgtctc tggtagttgt 29280
 tcagcagcac ctcggatccc tcctcccgac tctggactt cagtccccgg cggccggcga 29340
 atcccttcca cacccatggaa gggatgtcaaa atccctggt cacaatatttc attgtttcc 29400
 ctctcagatg gcaaaaggacc tccgggtggg agatgacttc aacccctgtt accccctatgg 29460
 ctacgcgcgg aatcagaata tcccttccact cactccccc tttgtcttccct ccgtatggatt 29520
 45 caaaaacttc cccctgggg tcctgtact taaactggct gatccatca ccatcaacaa 29580
 tggggatgtc tcacttaagg tgggagggggg acttgcgtta gagcaacaga ctggtaacct 29640
 aagcgtaaac cctgatgcac cttgcataact tgcaagtgtt aagctacacgc ttgctctggc 29700
 tcctccattc gaggtcagag atggaaagtc tgctttaag gcaggtaatg gattaaaatg 29760

	actagataat tccattactg gattgactgg attattgaat acacttgtgg tattaactgg	29820
	aaggggaaata ggaacggagg aattaaaaaa tgacgatggt gtaacaaaca aaggagtcgg	29880
	cttgcgtgta agacttggag atgacggcgg gctgacattt gataaaaagg gtgatttagt	29940
5	agcctggaat aaaaaagatg acaggcgac cctgtggaca acccctgaca catctccaaa	30000
	ttgcaaaatg agtacagaaa aggattctaa acttacgtt acacttacaa agtgtggaaag	30060
	tcaggtctg ggaaatgtat ctttacttgc agttacaggt gaatatcatc aaatgactgc	30120
	tactacaaag aaggatgtaa aaatatcttt actatttgat gagaatggaa ttcttattacc	30180
	atcttgcgtcc cttagcaaag attattggaa ttacagaagt gatgattcta ttgtatctca	30240
10	aaaatataat aatgcagttc cattcatgcc aaacctgaca gcttatccaa aaccaagcgc	30300
	tcaaaatgca aaaaactatt caagaactaa aatcataagt aatgtctact taggtgctct	30360
	tacctacaa cctgttaatta tcactattgc atttaatcag gaaaactgaaa atggatgtgc	30420
	ttattctata acatttacct tcacttggca aaaagactat tctgcccac agtttgatgt	30480
	tacatcttt accttctcat atcttaccca agagaacaaa gacaaagact aataaaatgt	30540
	tttgaactga atttatgaat ctttattttt ttttacacca gcacgggtag tcagttccc	30600
15	accaccagcc catttcacag tgtaaacaat tctctcagca cgggtggcct taaacaggc	30660
	acagaaccct agtattcaac ctgccacctc cctcccaaca cacagagtac acagtcctt	30720
	ctccccggct ggccttaaaa agcatcatat catggtaac agacatattc ttaggtgtta	30780
	tattccacac ggtttcctgt cgagccaaac gctcatcagt gatattaata aactccccgg	30840
	gcagctcact taagttcatg tcgctgtcca gctgctgagc cacaggctgc tgtccaactt	30900
20	gcgggttgcctt aacggggcggc gaaggagaag tccacgccta catggggta gagtcataat	30960
	cgtgcacatcag gatagggcgg tggtgctgca gcagcgcgcg aataaaactgc tgccgccc	31020
	gctccgtcct gcaggaatac aacatggcag tggtctcctc agcgtatgatt cgacccccc	31080
	gcagcataag ggccttgcctt ctccggcac acgagcgcac cctgatctca cttaaatcag	31140
	cacagtaact gcagcacagc accacaatat tggtaaaaat cccacagtgc aaggcgctgt	31200
25	atccaaagct catggggggg accacagaac ccacgtggcc atcataaccac aagcgcaggt	31260
	agattaagtgcgcgaccctc ataaacacgc tggacataaa cattacctt tttggcatgt	31320
	tgttaattcac cacctccgg taccatataa acctctgatt aaacatggcg ccatccacca	31380
	ccatccaaa ccagctggcc aaaacctgcc cgccggctat acactgcagg gaaccgggac	31440
	tggacaatgc acagtggaga gcccaggact cgtaaccatg gatcatcatg ctcgtcatga	31500
30	tatcaatgtt ggcacaacac aggcacacacgt gcatacactt cctcaggatt acaagctcct	31560
	cccgcgtag aaccatatcc cagggAACAA cccattccctg aatcagcgtaaatccacac	31620
	tgcagggaaag acctcgcacg taactcacgt tgcattgtt caaggtgtta cattcggca	31680
	gcagcggatg atcctccagt atggtagcgc gggttctgt ctcaaaagga ggtagacgat	31740
	ccctactgtt cggagtgcgc cgagacaacc gagatcgtgt tggtcgtagt gtcacatccaa	31800
35	atggAACGCC ggacgttagtc atatttcctg aaggagctcg actgttcctc ggtggacatt	31860
	gaaatggatt ctcttgcgtt ctttgcgtt cttctgccag cagaaaagtgg ctcggaaaca	31920
	gcagataacctt ttccttcgtc tgccttcgg ctgctgacgc tcagtcattcc aactgaagta	31980
	cagccattcc cgcaggatctt ccagcagctc ctgtgcattt gatgaaacaa aagtccgc	32040
	gatgcggatt ccccttaaaa catcagccag gacattgttag gccatccaa tccagttat	32100
40	gcatcctgat ctatcatgaa gaggagggtgg gggagaact ggaagaacca ttttattcc	32160
	aaggcgcttc gaaggacgat aaagtgcacg tcacgcaggat gacagcgttc cccggcgt	32220
	tgctgggtgaa aacagacagc caggtcaaaa cccactctt tttcaagggtg ctcgactgt	32280
	gcttcgagca gtggctctac gcgtacatcc agcataagaa tcacattaaa ggctggac	32340
	ccatcgattt catcaatcat caggttacac tcattcacca tccccaggta attctcattt	32400
45	ttccagcctt ggattatttc tacaaattgt tggtgtaagt ccactccgca catgtggaaa	32460
	agttcccaca gcgcggcctc cactttcata atcaggcaga ccttcattt agaaacagat	32520
	cctgctgctc caccacactgc agcgtgttca aaacaacaag attcaatgag gttctgc	32580
	ctggccctcag ctcacgtctc agcgtcagct gcaaaaagtc actcaagtcc tcagccacta	32640

	cagctgacaa ttca gagcca gggcta agcg tggactggc aagcgtgagt gaggta caccacc	32700
	caaaaactgc atgctggaat aagctcttt tgcgtcaccg gtgatgcctt ccaatagggt	32760
	agtataaag cgaggttagtt ttctttaat catttgagta atagaaaagt cctctaaata	32820
5	agtcactagg accccaggaa ccacaatgtg gtagctgaca gcgtgtcgct caagcatggt	32880
	tagtagagat gagagtctga aaaacagaaa gcatgcacta aaccagagtt gccagtctca	32940
	ctgaaggaaa aatca ctcc tccagcagca aagtgcac tgggtggccc tctcggacat	33000
	acaaaaatcg atccgtgtgg ttaaagagca gcacagttt ctcctgtctt ctcccagcaa	33060
	agatcacatc ggactgggtt agtatgc ccc tggaatggta gtcattcaag gccataaatac	33120
	tgccttggta gccatttagga atcagcacgc tcactctcaa gtgaaccaaa accacccat	33180
10	gcggaggaat gtggaaagat tctggc aaaaggata tctattgcta gtcccttc	33240
	ggacgggagc aatccctcca gggctatcta taaaagcata cagagattca gccatagctc	33300
	agcccgctta ccagtagaca gagagcacag cagtagaca gccaacagca gcgactgact	33360
	accactgac ccagctccct atttaaaggc accttacact gacgtaatga ccaaagggtct	33420
	aaaaaccccc ccaaaaaaaaaac acacacgccc tgggtgttt tcgcgaaaac acttccgcgt	33480
15	tctcacttcc tcgtatcgat ttctgtactc aacttccccc ttcccacgtt acgtcacttc	33540
	tgccttaca tgtaactcg ccgttagggcg ccatttgc cacgtccaaa atggcttcca	33600
	tgtccggcca cgccctcccg ggcaccgtt gccgtgcgtc gtgacgtcat ttgcattacc	33660
	gtttctcgtc caatcagcgt tggctccgccc ccaaaaccgt taaaattcaa aagctcattt	33720
	gcatattaac ttttgtttac tttgtgggtt atattattga tgatg	33765
20	<210> 6	
	<211> 34808	
	<212> DNA	
	<213> Recombinant simian adenovirus serotype 25	
	<220>	
25	<223> Материнская последовательность рекомбинантного аденоовириуса обезьяны 25 серотип	
	<400> 6	
	catcatcaat aatacattt attttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt	60
	ttgtgacgtg ggcggggcg tggAACGGG gcgggtgacg tagtagtgcgt gcgaaagtgt	120
	gatgttgc aa gtgtggcgga acacatgtaa ggcacggatg tggcaaaagt gacgttttg	180
30	gtgtgc cccg gtgtacacag gaagtgcacaa ttttgcgcg gttttaggcg gatgttgcgt	240
	taaatttggg cgttaaccggag taagattgg ccattttgc gggaaaactg aataagagga	300
	agtgaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tacatggccc gaaaggagcg	360
	atgtaatgt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgg gttccgcgtt	420
	acataactta cggtaatgg cccgcctggc tgaccgcac acgaccccg cccattgacg	480
35	tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttcattt acgtcaatgg	540
	gtggagtatt tacggtaaac tgcctacttgc gcaatcatac aagtgtatca tatgcctaa	600
	acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggccgcct ggcattatgc ccagtacatg	660
	accttatggg actttctac ttggcagttac atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg	720
	gtgatgcgtt ttggcagta catcaatggg cgtggatagc ggttgactc acggggattt	780
40	ccaagtctcc accccatttga cgtcaatggg agtttgcattt ggcacaaaaa tcaacggac	840
	tttccaaaat gtcgtacaaa ctccgcctt ttgacgcaaa tggccgttag gcgtgtacgg	900
	tggaggtct atataagcag agctggtttta gtgaaccgtc agatccgcta gagatctgg	960
	accgtcgacg cggccgctcg agcctaagct tggtaccatg tttgtttcc ttgtgttatt	1020
	gccactagtc tctagtcgt gtgtgaaacct gaccacaaga acccagctgc ctccagccta	1080
45	caccaacacgc ttaccaggag gcgtgtacta cccgcacaag gtgttcagat ccagcgtgct	1140
	gcactctacc caggacctgt tcctgcctt cttcagcaac gtgacctggt tccacgcct	1200
	ccacgtgtcc ggcaccaatg gcaccaagag attcgacaac cccgtgcgtc cttcaacga	1260
	cgggggtgtac ttggcagca cggagaagtc caacatcatac agaggctgga tcttcggcac	1320

	cacactggac agcaagaccc agagcctgct gatcgtgaac aacgccacca acgtggcat	1380
	caaagtgtgc gagttccagt tctgcaacga ccccttcctg ggcgtctact atcacaagaa	1440
	caacaagagc tggatggaaa gcgagttccg ggtgtacagc agcgccaaca actgcacctt	1500
5	cgagtacgtg tcccagcctt tcctgatgga cctggaaaggc aagcagggca acttcaagaa	1560
	cctgcgcgag ttctgttca agaacatcga cggctacttc aagatctaca gcaaggcacac	1620
	cccttatcaac ctctgtgcggg atctgcctca gggcttctct gctctggAAC ccctgggtgga	1680
	tctgcccatac ggcataaca tcaccgggtt tcagacactg ctggccctgc acagaagcta	1740
	cctgacacct ggcgatagca gcagcggatg gacagcttgtt gcccggctt actatgtggg	1800
	ctacctgcag cctagaacct tcctgctgaa gtacaacgag aacggcacca tcaccgacgc	1860
10	cgtggattgt gctctggatc ctctgagcga gacaaagtgc accctgaagt cttcaccgt	1920
	ggaaaaggc atctaccaga ccagcaactt ccgggtgcag cccaccgaat ccatacgacg	1980
	gttccccat atcacaatc tgtgcccctt cggcgagggtg ttcaatgcca ccagattcgc	2040
	ctctgtgtac gcctggAAC ggaagcggat cagcaattgc gtggccact actccgtgct	2100
	gtacaactcc gccagcttca gcacattcaa gtgctacggc gtgtccccta ccaagctgaa	2160
15	cgacctgtgc ttccacaaacg tgtacgcccga cagcttcgtg atccggggag atgaagtgcg	2220
	gcagattgcc ctggacaga caggcaagat cgccgactac aactacaagc tgcccgcacga	2280
	cttcaccggc tgtgtgattt cctggAACAG caacaacctg gactccaaag tcggcgca	2340
	ctacaattac ctgtaccggc tggccatctg aagcccttcg agcgggacat	2400
	ctccaccggag atctatcagg ccggcagcac cccttgtaac ggcgtggaaag gcttcaactg	2460
20	ctacttccca ctgcagtcct acggcttca gcccacaaat ggcgtggct atcagcccta	2520
	cagagtggtg gtgctgagct tcgaactgct gcatgcccct gccacagtgt gcggccctaa	2580
	gaaaagcacc aatctcgtga agaacaatg cgtgaacttc aacttcaacg gcctgaccgg	2640
	caccggcgtg ctgacagaga gcaacaagaa gttccctgca ttccagcagt ttggccggaa	2700
	tattgcccgtt accacagacg ccgtacgaga tccccagaca ctggaaatcc tggacatcac	2760
25	cccttgcagc ttccggggag tgtctgtgat cacccctggc accaacadca gcaatcaggt	2820
	ggcagtgctg taccaggacy tgaactgtac cgaagtgcgg gtggccattc acgcccgtca	2880
	gctgacacct acatggcggtt tgtactccac cggcagcaat gtgtttcaga ccagagccgg	2940
	ctgtctgatc ggagccgagc acgtgaacaa tagctacgag tgcacatcc ccatcgccgc	3000
	tggcatctgt gccagctacc agacacagac aaacagcccc agacggccca gatctgtggc	3060
30	cagccagacg atcattgcct acacaatgtc tctggcgccc gagaacagcg tggcctactc	3120
	caacaactct atcgctatcc ccaccaactt caccatcagc gtgaccacag agatcctgccc	3180
	tgtgtccatg accaagacca gcgtggactg caccatgtac atctgcggcg attccaccga	3240
	gtgctccaac ctgtgtctgc agtacggcag cttctgcacc cagctgaata gagccctgac	3300
	agggatcgcc gtggAACAG acaagaacac ccaagagggtg ttccggcaag tgaagcagat	3360
35	ctacaagacc ccccttatca aggacttcgg cggcttcaat ttccagccaga ttctgcccga	3420
	tccttagcaag cccagcaagc ggagcttcat cgaggacctg ctgttcaaca aagtgacact	3480
	ggccgacgccc ggcttcatca agcagttatgg cgattgtctg ggcgcacattt cccggcaggaa	3540
	tctgatttgc gcccagaagt ttaacggact gacagtgtctg ccaccactgc tgaccgatga	3600
	gatgatcgcc cagtacacat ctggccctgct ggccggcaca atcacaagcg gctggacatt	3660
40	tggagctggc gcccgtctgc agatcccattt tgctatgcag atggcctacc ggttcaacgg	3720
	catcgaggatg acccagaatg tgctgtacga gaaccagaag ctgatgcacca accagttcaa	3780
	cagcgccatc ggcaagatcc aggacagcct gagcagcaca gcaagcgccc tggaaagct	3840
	gcaggacgtg gtcaaccaga atgcccaggc actgaacacc ctggtcaagc agctgtccctc	3900
	caacttcggc gccatcagct ctgtgtgaa cgacatcctg agcagactgg acaagggtgaa	3960
45	agccgagggtg cagatcgaca gactgatcac cggaggctg cagttccctgc agacctacgt	4020
	tacccagcag ctgtatcagag ccggccagat tagagcctct gccaatctgg ccggccaccaa	4080
	gatgtctgag tgtgtgtctgg gccagagcaa gagagtggac ttttgcggca agggctacca	4140
	cctgtatgac ttccctcagt ctggccctca cggcgtggtg ttttgcacgc tgacatacgt	4200

	gcccgtcaa gagaagaatt tcaccaccgc tccagccatc tgccacgacg gcaaagccca	4260
	ctttcctaga gaaggcgtgt tcgtgtccaa cggcacccat tggtcgtga cccagcggaa	4320
	cttctacgag ccccagatca tcaccaccga caacacccatc gtgtctggca actgcgcacgt	4380
5	cgtgatcgac attgtgaaca ataccgtgtc cgaccctctg cagcccgagc tggacagctt	4440
	caaagaggaa ctggataagt actttaagaa ccacacaagc cccgacgtgg acctggcgaa	4500
	catcagcggaa atcaatgccaa gcgtcgtgaa catccagaaa gagatcgacc ggctgaacga	4560
	ggtgtggccaag aatctgaacg agagcctgat cgacctgcaa gaactggggaa agtacgagca	4620
	gtacatcaag tggccctggt acatctggct gggctttatc gccggactga ttgccatcg	4680
	gatggtcaca atcatgctgt gttgcatgac cagctgctgt agctgcctga agggctgttg	4740
10	tagctgtggc agctgctgca agttcgcacgaa ggacgattct gagcccgatc tcaaaggagt	4800
	caaattacat tacacataag atatccgatc caccggatct agataactga tcataatcag	4860
	ccataccaca ttttagagg ttttacttgc tttaaaaaac ctccccacacc tccccctgaa	4920
	cctgaaacat aaaatgaatg caattgtgt ttttacttgc ttttattgcag cttataatgg	4980
	ttacaaataaa agcaatagca tcacaaatcc cacaataaa gcattttt cactgcattc	5040
15	tagttgtggt ttgtccaaac tcataatgt atcttaacgc ggatctggc gtgggttaagg	5100
	gtggaaaaga atatataagg tgggggtctt atgtatgtt gtatctgtt tgcagcagcc	5160
	gccggcccca ttagccacaa ctcgtttatc ggaagcattt tgagctcata tttgacaacg	5220
	cgcacatggccc catggggccgg ggtgcgtcag aatgtgtatgg gctccagcat ttagggcgc	5280
	cccgctctgc cccgaaactc tactacccatc acctacgaga ccgtgtctgg aacggccgttg	5340
20	gagactgcac ccccgccgc cgcttcagcc gctgcagccca ccggccgcgg gattgtgact	5400
	gactttgcctt tcctgagccc gcttgcaagc agtgcagctt cccgttcatc cgccgcgcgt	5460
	gacaagttga cggctctttt ggcacaattt gattcttgc cccgggaact taatgtcg	5520
	tctcagcagc ttttggatct ggcgcagcag gtttctgccc tgaaggcttc ctccccctccc	5580
	aatgcgggtt aaaacataaaa taaaaaccca gactctgttt ggatttggat caagcaagt	5640
25	tcttgctgtc ttatatttgcgc ggcggtagg cccgggacca ggcgtctcg	5700
	tcgttgggg tcctgtgtat tttttccagg acgtggtaaa ggtgactctg gatgttcaga	5760
	tacatgggcataa taagccgtc tctgggggtgg aggtgcacc actgcagac ttcatgctgc	5820
	gggggtgggtgt ttttggatct ccagtcgttag caggagcgtt gggcgtgggtg cttaaaaatg	5880
	tcttcagta gcaagctgtat tgccaggggc aggcccttgg ttttggatctt tacaaagcgg	5940
30	ttaagctggg atgggtgcac acgtggggat atgagatgca tcttggactg tttttttagg	6000
	ttggctatgt tcccagccat atccctccgg ggattcatgt ttttggactg ttttggactg	6060
	gtgtatccgg tgcacttggg aaatttgcata ttttggactg ttttggactg ttttggactg	6120
	ttggagacgc ccttgcgtacc tccaaatgtt tccatgcatt cgtccataat gatggcaatg	6180
	ggcccacggg cggcggcctg ggcgaagata ttttggatctt cactaacgtc atagttgtgt	6240
35	tccaggatga gatcgtcata ggccatctt acaaagcgcg ggcggagggt gccagactgc	6300
	ggtataatgg ttccatccgg cccagggcgtt tagttaccct cacagatttgc ttttggactg	6360
	gctttggatctt cttttgggg gatcatgtct acctgcgggg cgttgcggaa aacgggtttcc	6420
	ggggtaggggg agatcgttgc ggaagaaagc aggttgcgtt gcaagctgcgtt cttaccgcag	6480
	ccgggtggcc cgtaaatcac acctattacc ggctgcactt ggttttttttgcgttgcag	6540
40	ctggccgtcat ccctgagcag gggggccact tcgttgcgtt ttttggactg ttttggactg	6600
	tccctgacca aatccgccc aaggcgctcg ccgcgcgcgcg atagcgttgc ttttggactg	6660
	gcaaaatgg ttttggactg ttttggactg ttttggactg ttttggactg ttttggactg	6720
	agcagttcca ggcggtccca cagtcgttgc acctgcgttgc cggcatctcg atccagcata	6780
	tctcctcgat tcgttgcgtt gggcggctt ctttttttttgcgttgcgtt cttaccgcag	6840
45	gacggggccag ggtcatgtct ttccacgggc gcagggttgcgtt ctttttttttgcgttgcgtt	6900
	cggtaaggg gtttttttttgcgttgcgtt ctttttttttgcgttgcgtt cttaccgcag	6960
	tgttgcgttgcgtt ctttttttttgcgttgcgtt cttaccgcag	7020
	tgttgcgttgcgtt ctttttttttgcgttgcgtt cttaccgcag	7080

	cgccgcacga ggggcagtgc agactttga gggcgttagag cttgggchg agaaataccg	7140
	attccgggga gtaggcattcc gcgcgcagg ccccgcagac ggtctcgcat tccacgagcc	7200
	aggtagctc tggccgttcg gggtaaaaaa ccaggttcc cccatgctt ttgatgcgtt	7260
5	tcttacctct ggttccatg agccgggtgc cacgctcggt gacgaaaagg ctgtccgtgt	7320
	ccccgtatac agacttgaga ggcctgtcct cgagcgggtgt tccgcgtcc tcctcgata	7380
	gaaactcggc ccactcttag acaaaggctc gcgtccaggc cagcacgaag gaggctaagt	7440
	gggaggggta gcggtcgttgc tccactaggg ggtccactcg ctccagggtg tgaagacaca	7500
	tgtcgccctc ttccggcatca aggaaggta ttgggttgc ggttaggcc acgtgaccgg	7560
	gtgttcctga aggggggcta taaaaggggg tggggcgcg ttcgtcctca ctctttccg	7620
10	catcgctgtc tgcgaggggcc agctgttggg gtgagtaatc cctctgaaaa gcgggcatga	7680
	cttctgcgtc aagattgtca gtttccaaaa acgaggagga tttgatattc acctggcccg	7740
	cggtgatgcc tttgagggtg gccgcattca tctggtcaga aaagacaatc ttttgttgt	7800
	caagcttggt ggcaaacgc acgttagaggg cgtagacag caacttggcg atggagcgca	7860
	gggtttgggt ttgtcgca tcggcgct cttggccgc gatgttagc tgcacgtatt	7920
15	cgcgcgcaac gcaccgcatt tcgggaaaga cgggtgtgcg ctcgtcgcc accaggtgca	7980
	cgcgcacaacc gcgggtgtgc agggtgacaa ggtcaacgct ggtggctacc tctccgcgt	8040
	ggcgctcggtt ggtccagca aggccgcgc cttgcgcga gcagaatggc ggtagggggt	8100
	ctagctgcgt ctcgtccggg gggctgcgt ccacgtaaa gacccgggc agcaggcg	8160
	cgtcgaagta gtctatcttgc catcatttgc agtctagcgc ctgctgccc gcgcggcg	8220
20	caagcgccgc ctcgtatggg ttgagtgccc gacccatgg catgggtgg gtgagcgccg	8280
	aggcgtacat gcccacaatg tcgtaaaacgt agaggggctc tctgagttt ccaagatatg	8340
	tagggtagca tcttccaccg cggatgttgc cgcgcacgta atcgtatagt tcgtgcgagg	8400
	gagcgaggag gtcgggaccg aggttgcac gggcggtcg ctctgctcg aagactatct	8460
	gcctgaagat ggcattgtgag ttggatgata tgggtggacg ctggaaagacg ttgaagctgg	8520
25	cgtctgttag acctaccgc tcacgcacga aggaggcgta ggagtgcgcg agcttgttga	8580
	ccagctcgcc ggtgacactgc acgtctaggc cgcaatgtc cagggttcc ttgatgtgt	8640
	catacttac ctgtccctt ttttccaca gtcgcgggtt gaggacaaac tcttcgcgtt	8700
	ctttccagta ctcttggatc ggaaaccgtt cggcctccga acgtaagag cctagcatgt	8760
	agaacttggtt gacggcctgg taggcgcagc atcccttttacggtagc gcgtatgcct	8820
30	gcgcggccctt ccggagcgag gtgtgggtga gcgcacaaagggt gtcctgacc atgactttga	8880
	ggtactggta ttgtaaatc gtgtcgatgc atccgccttgc ctcccagagc aaaaagtccg	8940
	tgcgtttttt ggaacgcggc tttggcaggg cgaaggtgac atcgttgaag agtatcttc	9000
	ccgcgcgagg cataaaagttt cgtgtatgc ggaagggtcc cggcacctcg gaacgggtgt	9060
	taattacctg ggcggcgagc acgatctgtt caaagccgtt gatgttgtgg cccacaatgt	9120
35	aaagttccaa gaagcgccgg atgccttgc tggaaaggaa ttttttaagt tcctcgtagg	9180
	tgagcttttc aggggagctg agccctgtct cttttttttt ccagtctgcgca agatgagggt	9240
	tggaaagcgac gaatgagctc cacaggtcac gggccattag cattgcagg tggtcgcgaa	9300
	aggccttaaa ctggcgaccc atggccattt tttctgggtt gatgcgttag aaggtaagcg	9360
	ggtcttggttc ccagcggtcc catccaagggt tcggcgctag gtctcgccgc gcagtcacta	9420
40	gaggctcatc tccgcgcac ttcatgacca gcatgaaggg cacgagctgc ttcccaaagg	9480
	cccccatcca agtatacgat tctacatcgat aggtgacaaa gagacgcgtcg gtgcgaggat	9540
	gcgcggccat cgggaagaac tggatctccc gccaccaatt ggaggagtgg ctattgtatgt	9600
	ggtgaaagta gaagtcctcg cgacggcccg aacactcgat cttgcgttgc taaaacgtg	9660
	cgcagtaatc gcagcggtgc acggctgtat cttgcgttgc gagggttgc tgacgaccgc	9720
45	gcacaaggaa gcagagtgaa aatttgcac cctcgccctgg cgggttggc tgggttgttt	9780
	ctacttcggc tgcttgcctt tgaccgtctg gctgctcgag gggagttacg gtggatcgga	9840
	ccaccacgcc ggcgcgagcc aaagtccaga tgtccgcgcg cggcggtcg agcttgcgt	9900
	caacatcgatc cagatggggat ctgtccatgg tctggagatc cgcggcgatc aggtcaggcg	9960

	ggagctcctg caggttacc tcgcata	gac gggc taga tccagg	tat	10020	
	acctaattc caggggctgg ttgg	tgccgatggc ttgcaagagg	ccgc	10080	
	gcggcgac tacggtaccg	cgcggcgggc ggtggccgc	gggggtgtcc ttggat	10140	
5	catctaaaag cggtgacg	ggcgagcccc cggaggtagg	ggggctccg gacccggc	10200	
	gagagggggc aggggcacgt	cggcgccg	cgcggcagg agctgg	10260	
	gttgctggcg aacgcgacga	cgcggcggtt gatctc	tatctggcg	10320	
	gacgacgggc ccggtgagct	tgaac	tcgat gagaatcaa	10380	
	gttgacggcg gcctggcgca	aaatctc	cacgtctc	10440	
10	ctcgccatg aactgctcgat	tctcttc	ctggagatct cgcgtcc	10500	
	ggtggcggcg aggtcg	tgg	aaatgcggc catgag	10560	
	ctcg	tccag acgcggctgt	agaccacgc	10620	
	ctgcgcgaga ttgagctcca	cgtgccggc	gaagacggcg tagttcg	10680	
	gaggttagtt agggtgtgg	cggtgtt	cccacgaag aagtacataa	10740	
	caacgtggat tcg	ttgat	cccccaaggc ctcaaggc	10800	
15	cacggcgaag ttgaaaaact	gggagttgc	cgcgcacacg gttaactc	10860	
	acggatg	gac tcggcgacag	tgtcg	gcac	10920
	ttcttctca atctc	ccttca	ccataagggc ctccc	10980	
	gggagggggg acacggcggc	gac	gacggc	11040	
	catctccccg	cggcgacggc	gcac	gggtc	11100
20	cagttggaag acgcgc	cccc	cccg	gttac	11160
	cagggatacg	gcgc	taac	tgc	11220
	ggac	ctgc	gatcg	ttgtt	11280
	gtcacagtcg	caagg	ttaggt	gtactc	11340
	gtttctggcg	gagg	gtgt	gatgt	11400
25	ggtcgacaga agcaccatgt	ccttgg	gtcc	ttgc	11460
	gccccaggct	tcgtt	tgc	gcac	11520
	taccggcact	tcttct	cttc	cttgc	11580
	ggcggcggag	t	tttgc	ctcc	11640
	cctcatcg	ctgg	ac	ggc	11700
30	cacctgcgtg agggt	gttgc	acat	gttcc	11760
	gtt	atgtgc	taat	gttgc	11820
	cgagagctcg	gtgt	acttgc	gacgc	11880
	agtccgcacc	agg	tactggt	atccc	11940
	ccagcgtagg	gtgg	ccgggg	tttgc	12000
35	gtagatgtac ctgg	acat	agg	gtgc	12060
	gcggacgcgg	ttcc	aggatgt	tgc	12120
	gccggcagg	cg	cgca	ttgc	12180
	gggcactt	ccgt	gggtct	ttgg	12240
	ttc	gata	tcg	caagg	12300
40	ccaggtgtgc gacgt	cac	gggg	ggc	12360
	ggctgtcg	ctag	tttt	ggct	12420
	agcga	taa	gtgg	tccttca	12480
	cgcgggaccc	ccgg	ttcg	tttgc	12540
	cccgtcatgc	aag	accc	ttcc	12600
45	ctttccccag atgc	at	cccg	ggcc	12660
	gcaag	cgac	atc	ccccc	12720
	gacatcc	tttg	acgc	gggg	12780
	gcactac	tgacttgg	gggg	gggg	12840
			cgtgtcg	ac	

	gcggcaccca agggtgcagc tgaagcgtga tacgcgtgag gcgtacgtgc cgccgcagaa	12900
	cctgtttcgc gaccgcgagg gagaggagcc cgaggagatg cggatcgaa agttccacgc	12960
	agggcgcgag ctgcggcatg gcctgaatcg cgagcgggtt ctgcgcgagg aggacttga	13020
	gcccgacgcg cgaaccggga ttagtcccgc ggcgcacac gtggcggccg ccgaccttgtt	13080
5	aaccgcatac gacgacgg tgaaccagga gattaacttt caaaaaagct ttaacaacca	13140
	cgtgcgtacg cttgtggcgc gcgaggaggt ggctata tagga ctgatgcatt tggggactt	13200
	tgttaagcgcg ctggagcaaa acccaaatacg caagccgctc atggcgcagc tgcccttat	13260
	agtgcagcac acgaggacat cagggatgcg ctgctaaaca tagtagagcc	13320
	cgagggccgc tggctgctcg atttgataaa catcctgcag agcatagtgg tgcaggagcg	13380
10	cagcttgagc ctggctgaca aggtggccgc catcaactat tccatgctta gcctggca	13440
	gttttacgcc cgcaagatataccataccctt acatgttccc atagacaagg aggtaaagat	13500
	cgaggggttc tacatgcgc tggcgctgaa ggtgcttacc ttgagcgcacg acctggcgt	13560
	ttatcgcaac gagcgcatcc acaaggccgt gacgcgtgacg cggcggccgc agctcagcga	13620
	ccgcgcagctg atgcacagcc tgcaaaggc cctggctggc acggcagcg gcgatagaga	13680
15	ggccgcagtcc tactttgacg cgggcgctga cctgcgctgg gccccaaagcc gacgcgcctt	13740
	ggaggcagct gggggccggac ctgggctggc ggtggcaccc ggcgcgcgt gcaacgtcgg	13800
	cgccgtggag gaatatgacg aggacgatga gtacgagcca gaggacggcg agtactaagc	13860
	ggtgatgtt ctgatcagat gatgcaagac gcaacggacc cggcgggtgcg ggcggcgt	13920
	cagagccagc cgtccggccct taactccacg gacgactggc gccaggtcat ggaccgcac	13980
20	atgtcgctga ctgcgcgcaa tcctgacgcg ttccggcagc agccgcaggc caaccggctc	14040
	tccgcaattc tggaaagcggt ggtccggcgc cgccaaacc ccacgcacga gaaggtgctg	14100
	gcatcgtaa acgcgcgtggc cgaaaacagg gccatccggc ccgacgaggc cggcctggc	14160
	tacgacgcgc tgcttcagcg cgtggctcg tacaacagcg gcaacgtgca gaccaacctg	14220
	gaccggctgg tggggatgt ggcgcaggcc gtggcgcagc gtgagcgcgc gcagcagcag	14280
25	ggcaacctgg gctccatggt tgcactaaac gccttcctga gtacacagcc gcaccaacgtg	14340
	ccgcggggac aggaggacta caccaacttt gtgagcgcac tgcggcta at ggtgactgag	14400
	acaccgcaaa gtgaggtgta ccagtctggg ccagactatt tttccagac cagtagacaa	14460
	ggcctgcaga cctgttaaacct gagccaggct ttcaaaaact tgcaggggct gtgggggggtg	14520
	cgggctccca caggcgaccg cgccgaccgtg tctagcttgc tgacgccc aa ctcgcgcctg	14580
30	ttgctgctgc taatagcgc cttcacggac agtggcagcg tgcacttcggc cacataccta	14640
	ggtcacttgc tgacactgtt cccgcaggcc ataggctcagg cgcatgtgga cgacgatact	14700
	ttccaggaga ttacaagtgt cagccgcgc ctggggcagg aggacacggg cggcctggag	14760
	gcaaccctaa actacctgtt gaccaaccgg cggcagaaga tccctcggt gcacagttt	14820
	aacagcgagg aggagcgcac tttgcgttac gtgcagcaga gctgtgaccc taacctgatg	14880
35	cgcgcacggg taacgcccacg cgtggcgctg gacatgaccg cgccacat ggaaccgggc	14940
	atgtatgcct caaaccggcc gtttatcaac cgcctaattt actacttgc tgcgcggcc	15000
	gccgtgaacc ccgagtattt caccaatgcc atcttgaacc cgcactggct accggccccct	15060
	ggtttctaca cccggggatt cgagggtccc gagggtaacg atggattctt ctgggacgac	15120
	atagacgaca gctgttttcc cccgcacccg cagaccctgc tagatgtca acagcgcgag	15180
40	caggcagagg cggcgctgcg aaaggaaagc ttccgcaggc caagcagctt gtccgatcta	15240
	ggcgctgcgg ccccgccgtc agatgttagt agccatttc caagcttgcgat agggtctctt	15300
	accagcactc gcaccacccg cccgcgcctg ctgggcgagg aggactaccc aaacaactcg	15360
	ctgctgcgc cgcacgcga aaaaaacctg cctccggcat ttcccaacaa cggatagag	15420
	agccttagtgg acaagatgag tagatggaa acgtacgcgc aggacacag ggacgtgcca	15480
45	ggcccgccgc cggccaccc tcgtcaaagg cacgaccgtc agcggggctt ggtgtggag	15540
	gacgatgact cggcagacga cagcagcgtc ctggatttttgg gagggagtgg caacccgtt	15600
	gcgcacccatc cccggggatg tttaaaaaaa aaaaaaaagca tgcataaaaaaa	15660
	taaaaaactc accaaggcca tggcaccgag cgttggttt cttgtattcc ctttagatgt	15720

	cggcgcgcgg cgatgttatga ggaagggtcct cctccctcct acgagagtgt ggtgagcgcg	15780
	gcgccagtgg cggcggcgct gggttctccc ttcatgtgctc ccctggaccc gccgttggta	15840
	cctccgcgtt acctgcggcc taccgggggg agaaacagca tccgttactc tgagttggca	15900
	cccctattcg acaccacccg tgtgtacctg gtggacaaca agtcaacgga tgtggcatcc	15960
5	ctgaactacc agaacgacca cagcaacttt ctgaccacgg tcattcaaaa caatgactac	16020
	agccccgggg aggcaagcac acagaccatc aatcttgacg accggtcgca ctggggcgcc	16080
	gacctgaaaa ccatcctgca taccaacatg ccaaattgtga acgagttcat gtttaccaat	16140
	aagtttaagg cgcgggtgat ggtgtcgccg ttgcctacta aggacaatca ggtggagctg	16200
	aaatacgagt gggtggagtt cacgctgccc gagggcaact actccgagac catgaccata	16260
10	gaccttatga acaacgcgat cgtggagcac tacttgaaag tgggcagaca gaacgggggt	16320
	ctggaaagcg acatcggggt aaagtttgac acccgcaact tcagactggg gtttgcaccc	16380
	gtcactggtc ttgtcatgcc tgggttatata acaaacgaag cttccatcc agacatcatt	16440
	ttgctgccag gatgcggggt ggacttcacc cacagccgccc tgagcaactt gttggcattc	16500
	cgcaagcgcc aacccttcca ggagggcttt aggatcacct acgatgatct ggagggttgt	16560
15	aacattcccg cactgttgga tgtggacgcc taccaggcga gcttggaaaga tgacaccgaa	16620
	cagggcgggg gtggcgcagg cggcagcaac agcagtggca gcggcgcggaa agagaactcc	16680
	aacgcggcag cccggcaat gcagccggtg gaggacatga acgatcatgc cattcgcggc	16740
	gacaccccttgc ccacacggggc tgaggagaag cgcgctgagg ccgaaggcagc ggccgaagct	16800
	gccgcccccg ctgcgcaacc cgaggctcgag aagcctcaga agaaaccggt gatcaaacc	16860
20	ctgacagagg acagcaagaa acgcagttac aacctaataa gcaatgacag caccccttacc	16920
	cagtaccgca gctgggtaccc tgcatacacaac tacggcgacc ctcagaccgg aatccgctca	16980
	tggaccctgc tttgcactcc tgacgtaacc tgccgtcggt agcaggtcta ctggtcgttg	17040
	ccagacatga tgcaagaccc cgtgacccctc cgctccacgc gccagatcag caactttccg	17100
	gtgggtggcgcc ccgagctgtttt gcccgtgcac tccaagagct tctacaacga ccaggccgtc	17160
25	tactcccaac tcatccgcac gtttacctct ctgacccacg tggtaatcg ctttcccgag	17220
	aaccagattt tggcgcgcaccc gccagccccc accatcacca ccgtcagtga aaacgttccct	17280
	gctctcacag atcacgggac gctaccgctg cgcaacagca tcggaggagt ccagcgagtg	17340
	accattactg acgcccagacg ccgcacccctc ccctacgtt acaaggccct gggcatagtc	17400
	tcgcccgcgc tcctatcgag ccgcactttt tgagcaagca tggccatccct tatatcgccc	17460
30	agcaataaca caggctgggg cctgcgccttc ccaagcaaga tggggccgg ggccaagaag	17520
	cgctccgacc aacaccctgt ggcgcgtgcg gggcactacc gcgcgcctc gggcgcgcac	17580
	aaacgcggcc gcactgggcg caccaccgtc gatgacgcca tcgacgcgggt ggtggaggag	17640
	gcgcgcaact acacgcccac gccgcacca gtgtccacag tggacgcggc cattcagacc	17700
	gtgggtgcgcg gagccggcg ctatgtaaaa atgaagagac ggcggaggcg cgtacacgt	17760
35	cgccaccgc gccgaccggg cactgcccac caacgcgcgg cgccgcctc gcttaaccgc	17820
	gcacgtcgca cccggccacg ggcggccatg cggccgcctc gaaggctggc cgccggatt	17880
	gtcactgtgc ccccccaggc caggcgcacg gcggccgcgg cagcagccgc ggccatttagt	17940
	gctatgactc agggtcgcag gggcaacgtg tattgggtgc ggcactcggt tagcggcctg	18000
	cgcgtgcggc tgccgcacccg ccccccgcgc aactagattt caagaaaaaa ctacttagac	18060
40	tcgtactgtt gtatgttatcc agcggcggcg gcgcgcacag aagctatgtc caagcgaaa	18120
	atcaaagaag agatgctcca ggtcatcgcc cggagatct atggccccc gaagaaggaa	18180
	gagcaggatt acaaggcccg aaagctaaag cgggtcaaaa agaaaaagaa agatgatgt	18240
	gatgaacttgc acgacgagggt ggaactgctg cacgctaccg cggccaggcg acgggtacag	18300
	tggaaagggtc gacgcgtaaa acgtgttttgc gacccggca ccaccgtagt ctttacgccc	18360
45	ggtgagcgct ccacccgcac ctacaagcgcg gtgttatgtg aggtgtacgg cgacgaggac	18420
	ctgcttgagc aggccaaacga gcgcctcggt ggtttgcct acggaaagcg gcataaggac	18480
	atgctggcggt tgccgcgttgc cgaggcaac ccaacaccta gcctaaagcc cgtaacactg	18540
	cagcagggtgc tgccgcgttgc accgcgttgc gaaagaaaacgc gcggcctaaa gcgcgagtc	18600

	ggtgacttgg cacccaccgt gcagctgatg gtacccaagc gccagcgact ggaagatgtc	18660
	ttggaaaaaa tgaccgtgga acctgggctg gagcccagg tccgcgtgcg gccaatcaag	18720
	caggtggcgc cgggactggg cgtcagacc gtggacgttc agataccac taccagtagc	18780
	accagtattg ccaccgccac agagggcatg gagacacaaa cgtccccgt tgcctcagcg	18840
5	gtggcggatg cgcgggtgca ggccgtcgct gcggccgcgt ccaagacctc tacggaggtg	18900
	caaacggacc cgtggatgtt tcgcgttca gccccccggc gcccgcgcg ttgcaggaag	18960
	tacggcgcgc ccagcgcgc actgcccga tatgcctac atccttccat tgcgcctacc	19020
	cccggtatc gtggctacac ctaccggccc agaagacgag caactacccg acgcccgaacc	19080
	accactggaa cccgcccggc ccgtcgccgt cgccagccc tgctggcccc gatttccgtg	19140
10	cgcagggtgg ctcgcgaagg aggcaggacc ctgggtctgc caacagcgcg ctaccacccc	19200
	agcatcgtt aaaagccgtt ctttgtggtt cttgcagata tggccctcac ctgcccgcctc	19260
	cgtttcccg tgccgggatt ccgaggaaga atgcaccgta ggaggggcat ggccggccac	19320
	ggcctgacgg gccgcacgac tcgtgcgcac caccggccgc ggcgcgcgtc gcaccgtcgc	19380
	atgcgcggcg gtatcctgcc cctccttatt ccactgatcg ccgcggcgat tggcgcgtg	19440
15	cccggaatttgc catccgtggc cttgcaggcg cagagacact gattaaaaac aagttgcgtg	19500
	tggaaaaatc aaaataaaaaa gtctggactc tcacgctcgc ttggcctgt aactatttg	19560
	tagaatggaa gacatcaact ttgcgtctct ggccccgcga cacggctcgc gcccgttcat	19620
	gggaaactgg caagatatcg gcaccagcaa tatgagcggt ggcgccttca gctggggctc	19680
	gctgtggagc ggcattaaaaa atttcggttc caccgttaag aactatggca gcaaggcctg	19740
20	gaacagcagc acaggccaga tgctgaggga taagttaaaaa gagaaaaatt tccaacaaaaa	19800
	ggtgttagat ggcctggcct ctggcattag cgggggtggt gacctggcca accaggcagt	19860
	gcaaaaataag attaacagta agcttgcattcc cgcgcctccc gtagaggagc ctccaccggc	19920
	cgtggagaca gtgtctccag aggggcgtgg cgaaaagcgt ccgcgcggcc acagggaaaga	19980
	aactctggtg acgcaaatacg acgacgcctcc ctcgtacgag gaggcactaa agcaaggcct	20040
25	gcccaccacc cgtcccatcg cgcccatggc taccggagtg ctggccagc acacacccgt	20100
	aacgctggac ctgcctccccc ccgcccacac ccagcagaaaa cctgtctgc caggcccgac	20160
	cgcgcgtt gtaaccgcgtc ctggccgcgc gtccctgcgc cgccgcgcac gcggtccgc	20220
	atcggtgcgg cccgtagcca gtggcaactg gcaaaagcaca ctgaacagca tcgtgggtct	20280
	gggggtgcaa tccctgaagc gccgacgatg cttctgatag ctaacgtgtc gtatgtgt	20340
30	catgtatgcg tccatgtcg cgcgcaggaga gctgctgagc cgccgcgcgc cgccttcca	20400
	agatggctac cccttcgatg atgcccgt ggtcttacat gcacatctcg ggccaggacg	20460
	cctcggagta cctgagcccc gggctggtgc agtttgcggc cgccaccgag acgtacttca	20520
	gcctgaataa caagttaga aacccacgg tggccctac gcacgacgtg accacagacc	20580
	ggtcccagcg tttgacgctg cggttcatcc ctgtggaccg tgaggatact gcgtactcgt	20640
35	acaaggcgcg gttcacccta gctgtgggtg ataaccgtgt gctggacatg gcttccacgt	20700
	actttgacat ccgcggcgtg ctggacaggg gcccacttt taagccctac tctggcactg	20760
	cctacaacgc cctggctccc aagggtgccc caaatcctg cgaatggat gaagctgcta	20820
	ctgctcttga aataaaccta gaagaagagg acgtaccaaa cgaagacgaa gtagacgagc	20880
	aagctgagca gcaaaaaact cacgtatttgc ggcaggcgcc ttattctggt ataaatatta	20940
40	caaaggaggg tattcaaata ggtgtcgaag gtcaaaccacc taaatatgc gataaaacat	21000
	ttcaacctga acctcaaata ggagaatctc agtggtacga aacagaaatt aatcatgcag	21060
	ctgggagagt cctaaaaaaact accacccaa taaaaccatg ttacggttca tatgcacaaac	21120
	ccacaaatga aaatggaggg caaggcattc ttgtaaagca acaaaaatgga aagctagaaa	21180
	gtcaagtggaa aatgcatttt ttctcaacta ctgaggcagc cgccaggcaat ggtgataact	21240
45	tgactcctaa agtggattt tacagtgaag atgttagat agaaacccca gacactcata	21300
	tttcttacat gcccactatt aaggaaggta actcacgaga actaatgggc caacaatcta	21360
	tgcccaacag gcctaattac attgctttta gggacaattt tattggtcta atgtattaca	21420
	acagcacggg taatatgggt gttctggcgg gccaagcatc gcagttgaat gctgtttag	21480

	atttcaaga cagaaacaca gagcttcatt accagcttt gcttgattcc attgggtata	21540
	gaaccaggta ctttctatg tggaatcagg ctgttgacag ctatgatcca gatgttagaa	21600
	ttattgaaaa tcatgaaact gaagatgaac ttccaaatta ctgcttcca ctgggaggtg	21660
5	tgattaatac agagactctt accaaggtaa aacctaaaac aggtcaggaa aatggatggg	21720
	aaaaagatgc tacagaattt tcagataaaa atgaaataag agttggaaat aattttgccca	21780
	tggaaatcaa tctaaatgcc aacctgtgga gaaatttcct gtactccaac atagcgctgt	21840
	atttgcccga caagctaaag tacagtccctt ccaacgtaaa aatttctgat aacccaaaca	21900
	cctacgacta catgaacaag cgagtggtgg ctccccggct agtggactgc tacattaacc	21960
10	ttggagcacg ctggccctt gactatatgg acaacgtcaa cccatttaac caccaccgca	22020
	atgctggcct gcgcctaccgc tcaatgttgc tggcaatgg tcgctatgtg cccttccaca	22080
	tccagggtgcc tcagaagttc tttgccatta aaaacctcct tctcctgccc ggctcatacaca	22140
	cctacgagtg gaacttcagg aaggatgtta acatggttct gcagagctcc ctaggaaatg	22200
	acctaagggt tgacggagcc agcattaagt ttgatagcat ttgcctttac gccacctct	22260
	tccccatggc ccacaacacc gcctccacgc ttgaggccat gcttagaaac gacaccaacg	22320
15	accagtcctt taacgactat ctctccgccc ccaacatgct ctaccctata cccgccaacg	22380
	ctaccaacgt gcccataatcc atccccccc gcaactgggc ggcttccgc ggctgggcct	22440
	tcacgcgcct taagactaag gaaacccat cactgggctc gggctacgac ccttattaca	22500
	cctactctgg ctctatacc tacctagatg gaaccttta cctcaaccac acctttaaga	22560
	aggtggccat taccttgcac tcttctgtca gctggcctgg caatgaccgc ctgcttaccc	22620
20	ccaaacgagtt tggaaatthaag cgctcagttt acggggaggg ttacaacggtt gcccagtgta	22680
	acatgaccaa agactggttc ctggtacaaa tgctagctaa ctataacatt ggctaccagg	22740
	gcttctatat cccagagagc tacaaggacc gcatgtactc cttctttaga aacttccagc	22800
	ccatgagccg tcaggtgggt gatgatacta aatacaagga ctaccaacag gtgggcattcc	22860
	tacaccaaca caacaactct ggatttggc gctaccttgc cccaccatg cgcaaggac	22920
25	aggcctaccc tgctaacttc ccctatccgc ttataggcaa gaccgcagtt gacagcatta	22980
	cccaaaaaaa gtttcttgc gatgcaccc tttggcgcattt cccattctcc agtaacttta	23040
	tgtccatggg cgcaactcaca gacctgggccc aaaaccttctt ctacgccaac tccgcccacg	23100
	cgctagacat gacttttagt gtggatccca tggacgagcc cacccttctt tatgttttgt	23160
	ttgaagtctt tgacgtggc cgtgtgcacc agccgcaccg cggcgtcatc gaaaccgtgt	23220
30	acctgcgcac gcccattctcg gccggcaacg ccacaacata aagaagcaag caacatcaac	23280
	aacagctgcc gccatgggct ccagtggc ggaactgaaa gcccattgtca aagatcttgg	23340
	ttgtgggcca tattttttgg gcacctatga caagcgctt ccaggcttgc tttctccaca	23400
	caagctcgcc tgcgcctatag tcaatacggc cggtcgcgag actggggcg tacactggat	23460
	ggccttgc tggaaacccgc actcaaaaaac atgctaccc tttgagccct ttggctttc	23520
35	tgaccagcga ctcaaggcagg tttaccagtt tgagtacgag tcactcctgc gccgtagcgc	23580
	cattgcttct tccccccgacc gctgtataac gctggaaaag tccacccaaa gcgtacagg	23640
	gcccaactcg gccgcctgtg gactattctg ctgcattgtt ctccacgcct ttgccaactg	23700
	gccccaaact cccatggatc acaacccac catgaacctt attaccgggg taccacaactc	23760
	catgctcaac agtccccagg tacagccac cctgcgtcgc aaccaggaac agctctacag	23820
40	cttcctggag cgccactcgc cctacttccg cagccacagt ggcgcaggata ggagcgcac	23880
	ttcttttgt cacttggaaa acatgtaaaa ataatgtact agagacactt tcaataaagg	23940
	caaatgcttt tatttgcata ctctcgggtt attatttacc cccacccttgc cctgtctgc	24000
	cgtttaaaaa tcaaagggtt tctggcgcgc atcgctatgc gcccactggca gggacacg	24060
	gcatgactgg tgtttagtgc tccacttaaa ctcaggcaca accatccgcg gcagctcggt	24120
45	gaagtttca ctccacaggc tgcgacccat caccaacgcg ttttagcaggc gggcgcgc	24180
	tatcttgaag tcgcagttgg ggcctccgccc ctgcgcgcg gagttgcgtt acacagggtt	24240
	gcagcactgg aacactatca ggcgcgggtg gtgcacgcg gcccacgc tcttgcgga	24300
	gatcagatcc ggcgtccaggc cctccgcgtt gctcaggcgc aacggagtca actttgttag	24360

	ctgccttccc aaaaagggcg cgtgcccagg ctggagttg cactgcacc gtagtggcat	24420
	caaaaggtga ccgtgcccgg tctggcggt aggatacagc gcctgcataa aagccttgat	24480
	ctgcttaaaa gccaccttag ccttgcgcc ttcagagaag aacatgccgc aagacttgcc	24540
5	ggaaaactga ttggccggac aggccgcgtc gtgcacgcag caccttgcgt cggtgttgg	24600
	gatctgcacc acatttcggc cccaccgggtt cttcacgatc ttggccttgc tagactgctc	24660
	cttcagcgcg cgctgcccgt tttcgctcgat cacatccatt tcaatcacgt gctccttatt	24720
	tatcataatg ctccgtgt aacacttaag ctgccttcg atctcagcgc agcgggtcag	24780
	ccacaacgcg cagccccgtgg gctcgatg cttgttaggtc acctctgcaa acgactgcag	24840
	gtacgcctgc aggaatcgcc ccatcatcgta cacaaggc ttgttgctgg tgaaggtcag	24900
10	ctgcaacccg cggtgctcct cgttcagcca ggtcttgcac acggccgcac gagcttccac	24960
	ttggtcaggc agtagtttga agttcgccct tagatcgta tccacgttgt acttgtccat	25020
	cagcgcgcgc gcagcctcca tgcccttc ccacgcagac acgatcgca cactcagcgg	25080
	gttcatcacc gtaatttcac ttccgcctc gctgggctct tccttccctt cttgcgtccg	25140
	cataccacgc gccactgggt cgtcttcatt cagccgcgc actgtgcgt tacctcctt	25200
15	gccatgcttgc attagcaccg gtggggttgc gaaacccacc attttagcgc ccacatctc	25260
	tctttcttcc tcgtgtccca cgattacctc tggatggc gggcgctcgg gcttgggaga	25320
	aggcgcttc tttttcttct tggcgcaat ggccaaatcc gccgcccagg tcgatggccg	25380
	cgggctgggt gtgcgcggca ccagcgcgtc ttgtatggag tcttcctcg cctcggactc	25440
	gatacgcgc ctcatccgct tttttgggg cggccgggaa ggcggcggcg acggggacgg	25500
20	ggacgacacgc tcctccatgg ttgggggacg tcgcgcgc acgcgtccgc gctcgggggt	25560
	ggtttcgcgc tgctcctt cccgactggc catttccttc tcctataggc agaaaaaagat	25620
	catggagtca gtcgagaaga aggacagcct aaccgcaccc tctgagttcg ccaccaccgc	25680
	ctccaccgcg gccgccaacg cgcctaccac ctccccgtc gaggcaccgc cgcttgcgagga	25740
	ggaggaagtg attatcgagc aggacccagg tttttaagc gaagacgacg aggaccgctc	25800
25	agtaccaaca gaggataaaa agcaagacca ggacaacgc gaggcaaacg aggaacaagt	25860
	cggcgaaaaa gacgaaaggc atggcgacta cctagatgtg ggagacgacg tgctgttga	25920
	gcatctgcag cgccagtgcg ccattatctg cgacgcgtt caagagcgc gcatgtgcc	25980
	cctcgccata gggatgtca gccttgccta cgaacgcac ctattctc acgcgttgcacc	26040
	ccccaaacgc caagaaaacg gcacatgcga gccaaccgc gcctcaact tctaccctgt	26100
30	atttgcgtg ccagaggtgc ttgcaccta tcacatctt ttccaaaact gcaagatacc	26160
	cctatcctgc cgtgccaacc gcagccgagc ggacaagcag ctggccttgc ggcaggcgc	26220
	tgtcataacct gatatcgcc cgtcaacga atgccaatc atctttgagg gtcttggacg	26280
	cgacgagaag cgccgcggca acgctctgca acaggaaaac agcggaaatg aaagtca	26340
	tggagtgttgc ttggactcg agggtgacaa cgcgcgccta gccgtactaa aacgcagcat	26400
35	cgaggtcacc cacttgcct accccgact taacctaccc cccaaggta tgagcacagt	26460
	catgagttag ctgatcgatc ggcgtgcgc gcccctggag agggatgca atttgcaaga	26520
	acaaaacagag gaggcctac cgcgcgttgg cgcgcgcac ctagcgcgt ggcttcaa	26580
	gcgcgcgcct gccgacttgg aggagcgcacg caaactaatg atggccgcag tgctcgat	26640
	cgtggagctt gaggatgcac agcggttctt tgctgacccg gagatgcac gcaagctaga	26700
40	ggaaacattt cactacaccc ttgcacaggc ctacgtacgc caggcctgc agatctccaa	26760
	cgtggagctc tgcaacctgg tctcctaccc tggattttgc cacggaaacc gccttggca	26820
	aaacgtgctt cattccacgc tcaaggcga ggcgcgcgc gactacgtcc ggcactgcgt	26880
	ttacttattt ctatgtaca cctggcagac ggccatggc gtttggcagc agtgcgttga	26940
	ggagtgcac acgtcaaggac tgcagaaact gctaaagca aacttgaagg acctatggac	27000
45	ggccttcaac gagcgctccg tggccgcgc cctggcggac atcatttcc cgcacgcct	27060
	gcttaaaacc ctgcaacagg gtctgccaga cttcaccagt caaagcatgt tgcagaactt	27120
	taggaacttt atccttagac gtcagaaat cttgcccgc acctgctgtg cacttcctag	27180
	cgactttgtg cccattaagt accgcgaatg ccctccgcgc ctggggcc actgctaccc	27240

	tctgcagcta gccaactacc ttgcctacca ctctgacata atggaagacg tgagcggta	27300
	cggtctactg gagtgtcaact gtcgctgcaa cctatgcacc ccgcaccgct ccctggttg	27360
	caattcgcag ctgcttaacg aaagtcaa atatcggtacc tttgagctgc agggccctc	27420
	gcctgacgaa aagtccgcgg ctccgggtt gaaactca ctccggctgt ggacgtcggc	27480
5	ttaccttcgc aaatttgtac ctgaggacta ccacgcccac gagatttaggt tctacgaaga	27540
	ccaatccccc ccccttaatg cgagacttac cgcctgcgtc attaccagg gccacattct	27600
	tggccaattt caagccatca acaaagcccg ccaagagttt ctgctacgaa agggacgggg	27660
	ggtttacttg gaccccccagt ccggcgagga gctcaaccca atccccccgc cgccgcagcc	27720
	ctatcagcag cagccgcggg cccttgcttc ccaggatggc accaaaaaag aagctgcagc	27780
10	tgccgccc acccacggac gaggaggaat actgggacag tcagggcagag gaggttttgg	27840
	acgaggagga ggaggacatg atggaagact gggagagcct agacgaggaa gcttccgagg	27900
	tcgaagaggt gtcagacgaa acaccgtcac cctcggtcgc attcccctcg ccggcgcggc	27960
	agaaatcggc aaccggttcc agcatggcta caacccctcgc tcctcaggcg ccggcggcac	28020
	tgcccgttcg ccgacccaaac cgtagatggg acaccactgg aaccaggggcc ggttaagtcca	28080
15	agcagccgcc gccgttagcc caagagcaac aacagcgcca aggctaccgc tcatggcg	28140
	ggcacaagaa cgccatagtt gcttgcttgc aagactgtgg gggcaacatc tccttcgccc	28200
	gccgctttct tcttaccat cacggcgtgg cttcccccg taacatcctg cattactacc	28260
	gtcatctcta cagccctatac tgccacggcg gcagcggcag caacagcagc ggccacacag	28320
	aagcaaaggc gaccggatag caagactctg acaaagccca agaaatccac agcggcggca	28380
20	gcagcaggag gaggagcgcgc gcgtctggcg cccaacgaac ccgtatcgac ccgcgagctt	28440
	agaaacagga tttttccac tctgtatgct atatttcaac agagcagggg ccaagaacaa	28500
	gagctgaaaaaaaacag gtctctgcga tccctcaccc gcagctgcct gtatcacaaa	28560
	agcgaagatc agttcggcg cacgctggaa gacgcggagg ctctttcag taaatactgc	28620
	gcgctgactc ttaaggacta gtttcgcgc ctttctcaaa tttaagcgcg aaaactacgt	28680
25	catctccagc ggccacaccc ggccgcagca cctgttgtca gcgcattat gagcaaggaa	28740
	atccccacgc cctacatgtg gagttaccag ccacaaatgg gacttgcggc tggagctgcc	28800
	caagactact caacccgaat aaactacatg agcgcgggac cccacatgat atcccgggtc	28860
	aacggaatac gcccacccg aaaccgaatt ctcctggAAC aggccgctat taccaccaca	28920
	cctcgtaata accttaatcc ccgtagttgg cccgctgccc tgggttacca ggaaagtccc	28980
30	gctcccacca ctgttgtact tcccagagac gcccaggccg aagttcagat gactaactca	29040
	ggggcgcgc ttgcggggcg ctttcgtcac agggtgcggc cgccgggca gggataact	29100
	cacctgacaa tcagagggcg aggtattcag ctcaacgacg agtcggtag gtcctcgctt	29160
	ggtctccgtc cggacgggac atttcagatc ggcggcgcgg gccgctcttc attcacgcct	29220
	cgtcaggcaa tcctaactct gcagacctcg tcctctgagc cgcgcctctgg aggcatgg	29280
35	actctgcaat ttattgagga gtttgtcca tcggtctact ttaaccctt ctgggacact	29340
	ccggccact atccggatca atttattcct aactttgacg cggtaagga ctggcggac	29400
	ggctacgact gaatgttaag tggagaggca gagcaactgc gcctgaaaca cctggtccac	29460
	tgtcgccgccc acaagtgcct tgcccgac tccggtgagt tttgctactt tgaattgccc	29520
	gaggatcata tcgagggccc ggcgcacggc gtccggctta ccggccaggg agagcttgc	29580
40	cgtagcctga ttccggagtt taccagcgc cccctgctag ttgagcggga caggggaccc	29640
	tgtgttctca ctgtgatttgc aactgtcct aaccctggat tacatcaaga tcttattccc	29700
	ttaactaat aaaaaaaaaat aataaagcat cacttactta aaatcagttt gcaaatttct	29760
	gtccagtttta ttccggcgc ccccttgcct ctcctccctt ctctggatt gcagcttcc	29820
	cctggctgca aactttctcc acaatctaa tggaatgtca gtttcctcct gttcctgtcc	29880
45	atccgcaccc actatcttca tgggttgca gatgaagcgc gcaagaccgt ctgaagatac	29940
	cttcaaccccc gtgtatccat atgacacggaa aaccggcttcc ccaactgtgc cttttcttac	30000
	tcctcccttt gtatccccca atgggtttca agagatccc cctggggta tctctttgcg	30060
	cctatccgaa cctctagttt cctccaatgg catgcttgcg ctcaaaatgg gcaacggcct	30120

	ctctctggac gaggccggca accttacctc caaaaatgta accactgtga gcccacctct	30180
	caaaaaaacc aagtcaaaca taaacctgga aatatctgca cccctcacag ttacctcaga	30240
	agccctaact gtggctgccg ccgcacccct aatggtcgca ggcaacacac tcaccatgca	30300
	atcacaggcc ccgctaaccg tgcacgactc caaacttagc attgccaccc aaggaccct	30360
5	cacagtgtca gaaggaaaagc tagccctgca aacatcaggc cccctcacca ccaccgatag	30420
	cagtaccctt actatcactg cctcaccctt tctaactact gccactggta gcttggcat	30480
	tgacttgaaa gagcccattt atacacaaaa tggaaaacta ggactaaagt acggggctcc	30540
	tttgcatgta acagacgacc taaacacttt gaccgttagca actggtccag gtgtgactat	30600
	taataatact tccttgcaaa ctaaagttac tggagccttgg gttttgatt cacaaggcaa	30660
10	tatgcaactt aatgttagcag gaggactaag gattgattct caaaacagac gccttatact	30720
	tgatgttagt tatccgtttt atgctcaaaa ccaactaaat ctaagactag gacagggccc	30780
	tcttttata aactcagccc acaacttgga tattaactac aacaaaggcc tttacttgtt	30840
	tacagcttca aacaattcca aaaagcttga ggttaaccta agcactgcca aggggttgat	30900
	gtttgacgct acagccatag ccattaatgc aggagatggg cttgaatttgg gttcacctaa	30960
15	tgcacccaaac acaaatcccc tcaaaacaaa aattggccat ggcctagaat ttgattcaaa	31020
	caaggctatg gttccttaaac taggaactgg ccttagttt gacagcacag gtgccattac	31080
	agtaggaaac aaaaataatg ataagctaac tttgtggacc acaccagctc catctcctaa	31140
	ctgttagacta aatgcagaga aagatgctaa actcaacttgc tcttaacaa aatgtggcag	31200
	tcaaatactt gctacagttt cagtttggc tttaaaggc agtttggctc caatatctgg	31260
20	aacagttcaa agtgctcatc ttattataag atttgacgaa aatggagtgc tactaaacaa	31320
	ttccttcctg gaccagaat attgaaactt tagaaatggaa gatcttactg aaggcacagc	31380
	ctatacaaac gctgttggat ttatgcctaa cctatcagct tatccaaat ctcacggtaa	31440
	aactgccaaa agtaacattt tcagtcattt tttttttttt caatccatgg aatgtggcag	31500
	aacactaacc attacactaa acggtacaca ggaaacagga gacacaactc caagtgcata	31560
25	ctctatgtca ttttcatgg actggcttgc ccacaactac attaatgaaa tatttgcac	31620
	atcctcttac actttttcat acattgccc agaataaaga atcgtttgc ttatgttca	31680
	acgtgttat tttcaattt cagaaaattt caagtcattt ttcattcagt agtataggccc	31740
	caccaccaca tagtttatac agatcaccgt accttaatca aactcacaga accctagtt	31800
	tcaacctgccc acctccctcc caacacacag agtacacagt ctttctccc cgctggcct	31860
30	taaaaagcat catatcatgg gtaacagaca tattttttttt tttttttttt cacacggttt	31920
	cctgtcgagc caaaacgtca tcagtgatat taataaactc cccgggcagc tcacttaagt	31980
	tcatgtcgct gtccagctgc tgagccacag gctgctgtcc aacttgcggg tgcttaacgg	32040
	gcggcgaagg agaagtccac gcctacatgg gggtagatgc ataatcgtgc atcaggatag	32100
	ggcgggtggc ctgcagcagc gcgcgaataa actgctggcgg ccggcgctcc gtcctgcagg	32160
35	aatacaacat ggcagtggc tcctcagcga tgattcgcac cgccgcagc ataaggcgcc	32220
	ttgtccctccg ggcacagcag cgcaccctga tctcacttaa atcagcacag taactgcagc	32280
	acagcacccac aatatttttttccaaaatccac agtgcaggc gctgtatcca aagctcatgg	32340
	cggggaccac agaaccacag tggccatcat accacaagcg cagtagatt aagtggcagc	32400
	ccctcataaa cacgctggac ataaacatta ctttttttttgg catgtttaaa ttcaccaccc	32460
40	cccggtacca tataaacccctc tgattaaaca tggcgccatc caccaccatc ctaaaccaggc	32520
	tggccaaaac ctgcccggcc gctatacact gcagggaacc gggactggaa caatgacagt	32580
	ggagagccca ggactcgtaa ccatggatca tcatgctcgt catgatataa atgttggcac	32640
	aacacaggca cacgtgcata cactccctca ggattacaag ctcctccgc gttagaacca	32700
	tatcccaggc aacaacccat tcctgaatca gcgtaaatcc cacactgcag ggaagacctc	32760
45	gcacgttaact cacgttgc attgtcaaag tttttttttt gggcagcagc ggatgatcc	32820
	ccagttatgtt agcgccgggtt tctgtctcaa aaggaggtt acgatcccta ctgtacggag	32880
	tgcggccaga caaccggat cgtttggc gtagtgcata gccaatggaa acgcccggacg	32940
	tagtcatatt tcctgaagca aaaccagggtt cggcgctgac aaacagatct gcgttccgg	33000

	tctcgccgct tagatcgctc tgtgttagtag ttgttagtata tccactctct caaagcatcc	33060
	aggcgcccccc tggcttcggg ttctatgtaa actccttcat gcgcgcgtgc cctgataaca	33120
	tccaccaccc cagaataagc cacacccagc caacctacac attcggtctg cgagtcacac	33180
	acgggaggag cgggaagagc tggaagaacc atgtttttt ttttattcca aaagattatc	33240
5	caaaaacctca aaatgaagat ctattaagtg aacgcgcctcc cctccgggtgg cgtggtaaaa	33300
	ctctacagcc aaagaacaga taatggcatt tgtaagatgt tgcaaatgg cttccaaaag	33360
	gcaaacggcc ctcacgtcca agtggacgta aaggctaaac cttcagggt gaatctccctc	33420
	tataaacatt ccagcacct caaccatgcc caaataattc tcatctcgcc accttctcaa	33480
	tatatctcta agcaaatccc gaatattaag tccggccatt gtaaaaatct gctccagagc	33540
10	gccctccacc ttcagcctca agcagcgaat catgattgca aaaattcagg ttccctcacag	33600
	acctgtataa gattcaaaaag cggaacattt aaaaaaatac cgcgatcccg taggtccctt	33660
	cgcagggcca gctgaacata atcgtgcagg tctgcacgga ccagcgcggc cacttccccg	33720
	ccaggaacca tgacaaaaga acccacactg attatgacac gcatactcgg agctatgcta	33780
	accagcgtag ccccgatgta agcttggc atgggcggcg atataaaaatg caaggtgctg	33840
15	ctaaaaaaat caggcaaagc ctcgcgcaaa aaagaaagca catcgtagtc atgctcatgc	33900
	agataaaggc aggttaagctc cggaaccacc acagaaaaag acaccatttt tctctcaaac	33960
	atgtctcggt gtttctgcat aaacacaaaaaaa taaaataaca aaaaaacatt taaacattag	34020
	aagcctgtct tacaacagga aaaacaaccc ttataagcat aagacggact acggccatgc	34080
	cggcgtgacc gtaaaaaaaac tggtcaccgt gattaaaaag caccaccgac agctcctcgg	34140
20	tcatgtccgg agtcataatg taagactcgg taaacacatc aggttattt acatcggtca	34200
	gtgctaaaaa gcgaccgaaa tagccgggg gaatacatac ccgcaggcgt agagacaaca	34260
	ttacagcccc cataggaggt ataacaaaat taataggaga gaaaaacaca taaacacctg	34320
	aaaaaccctc ctgccttaggc aaaatagcac cctccgcctc cagaacaaca tacagcgtt	34380
	ccacagcggc agccataaca gtcagcctta ccagtaaaaa agaaaaccta ttaaaaaaaac	34440
25	accactcgac acggcaccag ctcaatcgt cacagtgtaa aaaaggccca agtgcagagc	34500
	gagtatatat aggactaaaa aatgacgtaa cggttaaagt ccacaaaaaa caccaggaaa	34560
	accgcacgca aacctacgcc cagaaacgaa agccaaaaaa cccacaactt cctcaaatcg	34620
	tcacttccgt tttccacgt tacgtcactt cccattttaa gaaaactaca attccaaaca	34680
	catacaagtt actccgcctt aaaacctacg tcacccgccc cggtccacg cccgcgcaca	34740
30	cgtcacaac tccacccctt cattatcata ttggcttcaa tccaaaataa ggtatattat	34800
	tgatgatg 34808	
	<210> 7	
	<211> 34742	
	<212> DNA	
35	<213> Recombinant human adenovirus serotype 5	
	<220>	
	<223> Материнская последовательность рекомбинантного аденоовириуса человека 5 серотипа	
	<400> 7	
	ccatcttcaa taatatacct caaacttttt tgtgcgcgtt aatatgcaaa tgaggcggtt 60	
40	gaatttgggg aggaagggcg gtgattggtc gagggatgag cgaccgttag gggcgggcg 120	
	agtgacgttt ttagtgcgt gttgcggagga ggagccagtt tgcaagttct cgtggaaaaa 180	
	gtgacgtcaa acgagggtgt gtttgaacac gaaaataactc aattttcccg cgctctctga 240	
	cagggaaatga ggtgtttctg ggccggatgca agtggaaacg ggccattttc gcgcgaaaac 300	
	tgaatgagga agtggaaatc tgagtaattt cgctttatg gcaggagga gtatttgccg 360	
45	aggcccggagt agactttgac cgattacgtg ggggtttcga ttaccgtgtt ttccaccaa 420	
	atttccgcgt acgggtgtcaa agtccgggtgt ttttacgttag gtgtcagctg atcgccagg 480	
	tattnaaacc tgcgcctctcc agtcaagagg ccactttaa gtgccagcga gaagagttgc 540	
	gatgcgtcg cgttgtcaaa tatgagctca caatgcttcc atcaaacgag ttgggtgctca 600	

	tggcggcggc ggctgctgca aaacagatac aaaactacat aagaccccca ccttatatat	660
	tctttcccac ccttaaccac gcccagatcc gcgttaagat acattgatga gtttggacaa	720
	accacaacta gaatgcagtg aaaaaaatgc tttatgttgc aaatttgta tgctattgtct	780
5	ttatgttaa ccattataag ctgcaataaa caagttaca acaacaattt cattcatttt	840
	atgttcagg ttcaggggaa ggtgtggag gttttttaaa gcaagtaaaa cctctacaaa	900
	tgtggtatgg ctgattatga tcagttatct agactcgagc ggccgcgata tcttatgtgt	960
	aatgtaattt gactccttgc agcacggct cagaatcgac ctcgtcgaac ttgcagcagc	1020
	tgccacagct acaacagccc ttcaaggc tacagcagct ggtcatgcaa cacagcatga	1080
	ttgtgaccat cacgatggca atcagtcgg cgataaagcc cagccagatg taccagggcc	1140
10	acttgatgta ctgctcgat ttccccagtt cttgcaggc gatcaggctc tcgttcagat	1200
	tcttggccac ctgcgtcagc cggcgtatct ctttctggat gttcacgacg ctggcattga	1260
	ttccgcgtat gtcgcccagg tccacgtcgg ggcttggat gttcttaaag tacttatcca	1320
	gttcctctttaaag gaagctgtcc agctcggct gcagagggtc gtacacggta ttgttcacaa	1380
	tgccgatcac gacgtcgcag ttgccagaca cgaagggttt gtcgggtgt atgatctggg	1440
15	gctcgttagaa gttccgctgg gtcacgaacc aatgggtgcc gttggacacg aacacgcctt	1500
	ctcttaggaaa gtgggctttc ccgtcgtggc agatggctgg agcgggtgtg aaattcttct	1560
	cttgagcggg cacgtatgtc acgtgcagaa acaccacgac gtgagggca gactgagggaa	1620
	agctcatca gttggtagccc ttgcccaaa agtccactct cttgcgtctgg cccagcacac	1680
	actcagacat cttggtggcg gccagattgg cagaggctct aatctcgccg gctctgatca	1740
20	gctgctgggt aacgttaggtc tgcaggact gcagccttcc ggtgatcagt ctgtcgatct	1800
	gcaccccgcc ttccaccttgc tccagtcgtc tcaggatgtc gttcagcaca gagctgatgg	1860
	cggcgaagtt ggaggacagc tgcttgcacca ggggtttcag tgcctggca ttctgggtga	1920
	ccacgtccttgc cagcttccc agggcgcttgc tctgtctgtc caggctgtcc tggatcttgc	1980
	cgtggcgct gttgaactgg ttggcgatca gttctggat gtcgtacagc acattctggg	2040
25	tcactccat gccgttgaac cggtaggcca tctgcatacg aaaggggatc tgcagagcgg	2100
	cggccagctcc aaatgtccag ccgttgtga ttgtgccggc cagcagggca gatgtgtact	2160
	gggcgatcat ctcatcggtc agcagtggc gcagcactgt cagtcgttta aacttctggg	2220
	cggcaatcat atccctggcg gcaatgtcgc ccagacaatc gccatactgc ttgtatgaagc	2280
	cggcgtcggc cagtgtca ttgttgaaca gcaggtcctc gatgaagctc cgcttgcgtgg	2340
30	gcttgcttagg atcggcaga atctggctga aattgaagcc gccgaagtcc ttgataggag	2400
	gggtctgtat gatctgccttgc acttggcga acaccttttgc ggtgttcttgc tcctgttcca	2460
	cggcgatccc tgtcagggtcttgc ctattcagct ggggtgcagaa gctgccgtac tgcagcagca	2520
	ggttggagca ctcgggtggaa tcgcccaga tgcgtatgtt gcaatgtccacg ctggtcttgg	2580
	tcatggacac aggaggatc tctgtggta cgcgtatgtt gaaatgggtg gggatagcga	2640
35	tagagttgtt ggagtagggcc acgctgttct cggcgccctc agacattgtg taggcaatga	2700
	tgctctggcttgc ggcacagat ctggcccgatc tggggcttgc ttgtctgtc tggttagctgg	2760
	cacagatgcc agcgccgatc gggatgtcgc actcgtagct attgttgcacg tgctcggttc	2820
	cgtcgatcaca gcccgtctg gtctgaaaca cattgtcgtcc ggtggagttac accccgcacat	2880
	taggtgtcag ctgatcgccg tgaatggcca cgggcacttc ggtacagttc acgtcctgttgc	2940
40	acagcactgc cacctgattt ctgggtttgg tgccagggtt gatcacagac actccggcga	3000
	agctgcaagg ggtgtatgtcc aggatttcca gtgtctgggg atctcgatcg gcgtctgtgg	3060
	tatcgcaat atcccgccca aactgtgttgc atggcaggaa cttcttgcgttgc ctctctgtca	3120
	gcacggccgttgc cgggttgcagg ccgttgcagg tgaatgttgc acgttgcgttgc ttacacgat	3180
	tgggtgtttt cttagggccg cacactgtgg caggggcattt cagcagttcg aagctcagca	3240
45	ccaccactct gttagggcttgc tagccacgc cattgtggg ctgaaaagccg taggactgca	3300
	gtgggaagta gcagttgttgc cttccacgc cttacaagg ggtgtgtccgc gcctgtataga	3360
	tctcggtggaa gatgtcccg tcgaagggttgc tcaatgttgc cttccggaaac agccggataca	3420
	ggttaattgttgc gttgtccggc actttggat gtcgttccat gcaatcacac	3480

	agccggtgaa gtcgtcgggc agctttagt ttagtcggc gatctgcct gtctgtccag	3540
	gggcaatctg ccgcacttca tctccccga tcacgaagct gtcggcgtac acgtttgtga	3600
	agcacaggcgtt gttcagctt gtaggggaca cgccgtagca cttgaagggtg ctgaagctgg	3660
	cggagttgtta cagcacggag tagtcggcca cgcaattgtt gatccgcttc cggttccagg	3720
5	cgtacacaga ggcgaatctg gtggcattga acacctcgcc gaaggggcac agattggtga	3780
	tattgggaa ccgcacgatg gattcggtgg gctgcacccg gaagttgctg gtctggtaga	3840
	tgccttttc cacggtaag gacttcaggg tgcaacttgt ctcgctcaga ggatccagag	3900
	cacaatccac ggcgtcgggt atgggtccgt tctcggtta cttcagcagg aaggttctag	3960
	gctgcaggta gcccacatag taagcggcgg caccagctgt ccatccgctg ctgctatcgc	4020
10	caggtgtcag gtagcttctg tgcagggccca gcagtgtctg aaaccgggtg atgtttagtgc	4080
	cgatgggcag atccaccagg gttccagag cagagaagcc ctgaggcaga tcccgcacga	4140
	ggttgatagg ggtgtgctt ctgtagatct tgaagtagcc gtcgatgttc ttgaacacga	4200
	actcgcgcag gttcttgaag ttgcctgtc tgccttccag gtccatcagg aaaggctggg	4260
	acacgtactc gaaggtgcag ttgtggcgc tgctgtacac ccggaaactcg cttccatcc	4320
15	agctcttgtt gttcttgta tagtagacgc ccaggaaggg gtcgttgcag aactggaaact	4380
	cgcacactt gatgaccacg ttgggtggcgt tttcacat cagcaggctc tgggtcttgc	4440
	tgtccagtgt ggtgccgaag atccagcctc tcatgtatgtt ggacttctcg gtgctggcaa	4500
	agtacacccc gtcgttgaag ggcagcacgg gtttgcgaa tctcttggtg ccattggcgc	4560
	cgacacgtg gatggcgtgg aaccaggta cgttgctgaa gaaaggcagg aacaggtcct	4620
20	ggtagatgtc cagcacgctg gatctgaaca cttgtcggg gtagtacacg cctctggtaa	4680
	agctgttgtt gttaggctgga ggcagctggg ttcttgtgtt caggttcaca cactgactag	4740
	agactagtgg caataacaca aggaacacaa acatggtacc agatctctag cgatctgac	4800
	ggttcaactaa accagctctg cttatataga cttcccaccc tacacgccta cggccattt	4860
	gcgtcaatgg ggcggagttt ttacgacatt ttggaaagtc ccgttgattt tggcaca	4920
25	acaaaactccc attgacgtca atggggtgga gacttggaaa tccccgtgag tcaaaccgc	4980
	atccacgccc attgatgtac tgccaaaacc gcatcaccat ggtaatagcg atgactaata	5040
	cgtagatgtt ctgccaagta ggaaagtccc ataaggtcat gtactggca taatgccagg	5100
	cgggcccattt accgtcattt acgtcaatag gggcgtact tggcatatga tacacttgat	5160
	gtactgccaat gttggcagtt taccgtaaat actccaccca ttgacgtcaa tggaaagtcc	5220
30	ctattggcgt tactatggga acatacgtca ttattgacgt caatggcgg gggcgttgg	5280
	gcggcagcc aggccggcca tttaccgtaa gttatgtaac gcggaaactcc atatatggc	5340
	tatgaactaa tgaccccgta attgattact attacagtat tacgcgtat gagtaacaca	5400
	aaattattca gatttcaactt cctcttattt agtttcccgg cggaaatggc caaatcttac	5460
	tcgggtacgc ccaaatttac tacaacatcc gcctaaaacc gcgcgaaaat tgtcaattcc	5520
35	tgtgtacacc ggcgcgtgt gtagtgttct ggggggggg aggacgtcga tgagggccag	5580
	aataactgaa atctgtgctt ttctgtgtt tgcaagcagca tgagcggaaag cggcccttt	5640
	gagggagggg tattcagccc ttatctgacg gggcgtctcc cttctggc gggagtgcgt	5700
	cagaatgtga tgggatccac ggtggacggc cggcccggtc agcccgcaaa ctcttcaacc	5760
	ctgacccatgtt caaccctgag ctcttcgtcg ttggacgcag ctggccgcgc agctgctgca	5820
40	tctgcccaca ggcgcgtgc cgaaatggcc atggggcggc gctactacgg cactctggt	5880
	gccaactcga gttccaccaa taatcccgcc agcctgaacg aggagaagct gttgctgctg	5940
	atggcccagc tcgaggcctt gaccaggcgc ctggcgcagc tgacccagca ggtggctcag	6000
	ctgcaggcgc agacgcgggc cgccgttgc acggtgaaat ccaaataaaa aatgaatcaa	6060
	taaataaacg gagacggttt ttgatttaa cacagagtct gaatctttat ttgattttc	6120
45	gcgcgcggta ggcctggac caccggctc gatcatttgcg caccgggtgg atctttcca	6180
	ggacccggta gaggtggcgt tggatgtga ggtacatggg catgagcccg tcccgggggt	6240
	ggaggttagct ccattgcagg gcctcgtct cgggggtgg gttgtaaatc acccagtcatt	6300
	agcagggcgcg cagggcatgg tggcaca tatctttgcg gaggagactg atggccacgg	6360

	gcagccctt ggttaggtg tttacaaatc tggttagctg ggagggatgc atgcgggggg	6420
	agatgaggtg catcttgcc tggatcttga gattggcgat gttaccgccc agatcccgcc	6480
	tggggttcat gttgtcagg accaccagca cggtgtatcc ggtgcacttg gggaaatttat	6540
5	catgcaacctt ggaagggaag gcgtgaaaga atttggcgac gccttgcgc ccgcccagg	6600
	tttccatgca ctcatccatg atgatggcga tggcccggt ggcggcggcc tggcaaaga	6660
	cgttcgggg gtcggacaca tcatagttgc ggtcctgggt gaggtcatca taggccattt	6720
	taatgaattt gggcggagg gtgcggact gggggacaaa ggtaccctcg atcccggggg	6780
	cgtagttccc ctcacagatc tgcatctccc aggcttgcg ctcggagggg gggatcatgt	6840
10	ccacctgcgg ggcgataaaag aacacggttt cggggcggg ggagatgagc tggccgaaa	6900
	gcaagttccg gaggcgttgc gacttgcgc agccgggtt gccgtatgt accccgatga	6960
	ccggctgcag gtggtagttt agggagagac agctgcgc tcctccggagg aggggggcca	7020
	cctcggtcat catctcgcc acgtcatgt tctcgccac cagttccgccc aggaggcgct	7080
	ctccccccag ggataggagc tcctggagcg aggcaagtt tttagcggc tttagtccgt	7140
	cggccatggg cattttggag agggtttgc gcaagagttc caggcgtcc cagagctcg	7200
15	tgatgtgctc tacggcatct cgatccagca gacccctcg tttcgccgt tggacggct	7260
	gcgggagtag ggcaccagac gatggcgctc cagcgcagcc agggtccggt cttccaggg	7320
	tcgcagcgctc cgcgtcaggg tggctccgt cacggtaag gggtgcgc cgggctggc	7380
	gcttgcgagg gtgcgttca ggctcatccg gctggcgaa aaccgctccc gatcggcgcc	7440
	ctgcgcgtcg gccaggttagc aattgaccat gagttcgtag ttgagcgcct cggccgcgt	7500
20	gccttggcg cggagcttac ctttggaaat ctggccgcag gcgggacaga ggagggactt	7560
	gagggcgttag agcttggggg cgaggaagac ggactcgaaaa gcttaggcgt ccgcgcgc	7620
	gtgggcgcag acggctcgc actccacgag ccaggtgagg tcggctggt cgggtcaaa	7680
	aaccagttc cgcgcgttct tttgatgcg tttcttaccc ttggctcca tgagctcg	7740
	tccccctgg gtagacaaaga ggctgtccgt gtcccgtag accgacttta tggccggc	7800
25	ctcgagcggt gtgcgcggc ctcctcgta gagaaacccc gcccactccg agacgaaagc	7860
	ccgggtcccg gccagcacga aggaggccac gtggacggg tagcggtcg tgtccaccag	7920
	cgggtccacc tttccaggg tatgcaaaca catgtcccc tcgtccacat ccaggaaggt	7980
	gattggcttg taagtgtagg ccacgtgacc ggggtcccg gccccggggg tataaaagg	8040
	tgcgggtccc tgctcgctt cactgtcttc cggatcgctg tccaggagcg ccagctgtt	8100
30	gggttaggtat tccctctcgaa aggccggcat gacccctcgac ctcaggtgtt cagttcttag	8160
	aaacgaggag gatttgcata tgacgggtgcc ggcggagatg ctttcaaga gcccctcg	8220
	catctggtca gaaaagacga tcttttgcgtt gtcgagctt gtcgcaagg agccgttagag	8280
	ggcgttggag aggagcttgg cgatggagcg catggctgg ttttttccct tgccggcg	8340
	ctccttggcg gcgtatgttgc gctgcacgtt ctcgcgcgcc acgcacttcc attcggggaa	8400
35	gacgggtgtc agctcgctgg gcacgattct gacccctcgac ccccgattat gcagggtgat	8460
	gaggtccaca ctggtggcca ctcgcgcgc cagggctca tttagtccagc agaggcg	8520
	gcccttgcgc gacgcagg gggcagggtt gtcagcatg acctcgctgg ggggtcggc	8580
	atcgatggtg aagatgcgg gcaggaggc ggggtcaaa tagtgcgtt gaaatggccag	8640
	atcggtccagg gcagcttgcatttgcgc acgcacgttgc cgctcgtagg gactgagg	8700
40	cgtccccagg ggcgtggat gggtaagcgc ggaggcgatc atgcgcaga tgctgttagac	8760
	gtagaggggc tcctcgagga tgccgtatgtt ggtggggtag cagcgcccc cgcggatgct	8820
	ggcgcgcacg tagtcataca gtcgtgcga gggggcgagg agccccggc ccaggttgg	8880
	gacgtggggc tttcgccgc ggtagacgtt ctggcgaaa atggcatgcg agttggagga	8940
	gatgggtggc ctttggaaat tggtggatgt ggcgtggggc agtccgaccg agtcgcggat	9000
45	gaagtggcg taggagtctt gcagcttggc gacgagctcg gcggtgacta ggacgtccag	9060
	agcgcagtag tcgagggtct cctggatgtat gtcatactt agctgtccct tttgtttcca	9120
	cagctcgccg ttgagaagga actcttcgcg gtccttccag tactttcga gggggaaacc	9180
	gtcctgatct gcacggtaag agccttagcat gtagaactgg ttgacggcct tgtaggc	9240

	gcagcccttc tccacgggaa gggcgtaggc ctggcgccc ttgcgcagg aggtgtgcgt	9300
	gagggcgaaa gtgtccctga ccatgacatt gaggaactgg tgcttgaagt cgatatcgta	9360
	gcagcccccc tgctcccaga gctggaaagtc cgtgcgcttc ttgttaggcgg ggttggcaaa	9420
5	agcgaaagta acatcggtga agaggatctt gcccgcgcgg ggcataaaagt tgcgagtgat	9480
	gcggaaaggt tggggcacct cggcccggtt gttgatgacc tgggcggcga gcacgatctc	9540
	gtcgaagccg ttgatgttgt ggcccacgat gttagagttcc acgaatcgcg gacggccctt	9600
	gacgtggggc agtttcttga gtcctcgta ggtgagctcg tcggggtcgc tgagccctg	9660
	ctgctcgagc gcccagtcgg cgagatgggg gttggcgcgg aggaaggaag tccagagatc	9720
	cacggccagg gcgggttgca gacggtcccgtactgacgg aactgctgcc cgacggccat	9780
10	ttttcgggg gtgacgcagt agaagggtgcg ggggtccccg tgccagcgat cccatttgag	9840
	ctggagggcg agatcgaggg cgagctcgac gagccggctc tccccggaga gtttcatgac	9900
	cagcatgaag gggacgagct gcttgccgaa ggaccccatc caggtgttagg tttccacatc	9960
	gtaggtgagg aagagcctt cggtgcgagg atgcgagccg atggggaaactggatctc	10020
	ctgccaccaa ttggaggaat ggctgttgat gtgatggaa tagaaatgcc gacggcgcgc	10080
15	cgaacactcg tgcttgcgtt tatacaagcg gccacagtgc tcgcaacgct gcacgggatg	10140
	cacgtgctgc acgagctgta cctgagttcc tttgacgagg aatttcagtg ggaagtggag	10200
	tcgtggcgcc tgcacatctcg gctgtactac gtcgtggctt tcggcctggc cctcttctgc	10260
	ctcgatggtg gtcatgctgta cgagcccgcg cgggaggcag gtccagaccc ctggcgcgagc	10320
	gggtcggaga gcgaggacga gggcgcccgag gccggagctg tccagggtcc tgagacgctg	10380
20	cggagtcagg tcagtgggca gcggcgccgc gcgggttgcact tgcaggagtt tttccaggggc	10440
	gcgcgggagg tccagatggt acttgatctc caccgcgcca ttgggtggcga cgtcgatggc	10500
	ttgcagggtc ccgtgcccctt ggggtgtgac caccgtcccc cgtttcttct tgggcggctg	10560
	gggcgacggg ggcgggtgcct cttccatggtagaaggcgc ggcgaggacg cgcgcggggc	10620
	ggcagggcg gctcgccggc cggaggcagg ggcggcagg ggacgtcgcc gccgcgcgc	10680
25	ggtaggttct ggtactgcgc ccggagaaga ctggcgtgag cgacgacgc acggttgacg	10740
	tcctggatct gacgcctctg ggtgaaggcc acgggacccg tgagttgaa cctgaaagag	10800
	agttcgacag aatcaatctc ggtatcggtt acggcgccct gccgcaggat ctcttgac	10860
	tcgcccggagt tgcctggta ggcgatctcg gtcatgaact gtcgatctc ctccctttga	10920
	aggtctccgc ggccggcgcc ctccacggtg gccgcgaggt cgttggagat gcggcccatg	10980
30	agctgcgaga aggcttcat gcccgcctcg ttccagacgc ggctgttagac cacgacgccc	11040
	tcgggatcgcc cggcgccgcat gaccacctgg gcgagggtga gtcacacgtg ggcgtgtaa	11100
	accgcgtagt tgcagaggcg ctggtagagg tagttgagcg tgggtggcgt tgctcggt	11160
	acgaagaaat acatgatcca gcggcgagc ggcacatctcg tgacgtcgcc cagcgcctcc	11220
	aaacgttcca tggcctcgta aaagtccacg gcaagttga aaaactggaa gttgcgcgc	11280
35	gagacggtca actcctccctc cagaagacgg atgagctcg cgatgggtgc gcgcaccccg	11340
	cgctcgaaagg ccccccggag ttccctccact tcctttctt cctccctccac taacatctct	11400
	tctacttcct cctcaggcgcc cagtggtggc gggggagggg gcctgcgtcg ccggcgccgc	11460
	acgggcagac ggtcgatgaa gcgcctcgatg gtctcgccgc gccggcgtcg catggtctcg	11520
	gtgacggcgc gcccgtccctc gcggggccgc acgtgaaga cgccgcgcgc catctccagg	11580
40	tggccggggg ggtcccggtt gggcaggag aggacgtcgatc cgtacatct tatcaattgc	11640
	cccgtaggaa ctcccgccaa ggacctgagc gtctcgagat ccacggatc tgaaaaccgc	11700
	tgaacgaagg cttcgagcca gtcgcagtcg caaggttaggc tgagcacggg ttcttctggc	11760
	gggtcatgtt ggttggagc gggcgccggc atgctgtgg tgatgaagtt gaaataggcg	11820
	gttctgagac ggcggatggt ggcgaggacg accaggttt tggccggc ttgctggatg	11880
45	cgcagacggt cggccatgcc ccaggcgtgg tcctgacacc tggccaggc cttgttagtag	11940
	tcctgcgtga gcccgcctcc gggcacctcc tcctcgcccg cgcggccgtg catgcgcgt	12000
	agcccgaaac cgcgtgggg ctggacgagc gccaggtcg ggacgtcgcc ctcggcgagg	12060
	atggcttgct ggtatctgggt gagggtggc tggaaagtcat caaatcgac gaagcggtgg	12120

	taggctccgg tggccatga cggaccagtt gacggctgg	12180
	tggcccgac gcacgagctc gtggtacttg aggcgcgagt aggcgcgcgt gtcgaagatg	12240
	tagtcgtgc aggtgcgcac caggtactgg tagccgatga ggaagtgcgg cggcggctgg	12300
5	cggtagagcg gccatcgctc ggtggcgaaa ggcgcggcg cgaggtcctc gagcatggtg	12360
	cggtgttgc cgtagatgtc cctggacatc caggtgatgc cggcggcggt ggtggaggcg	12420
	cgcggaaact cgccgacgcg gttccagatg ttgcgcagcg gcaggaagta gttcatggtg	12480
	ggcacggtct ggcccgttag gcgcgcgcag tcgtggatgc tctatacggg caaaaacgaa	12540
	agcggtcagc ggctcgactc cgtggcctgg aggctaagcg aacgggttgg gtcgcgcgtg	12600
10	taccccggtt cgaatctcgat atcaggctgg agccgcagct aacgtggtat tggcaactccc	12660
	gtctcgaccc aagcctgcac caaccctcca ggatacggag gcgggtcggt ttgcaacttt	12720
	tttttgagg ccggatgaga ctagtaagcg cggaaagcg ccgacccgcga tggctcgctg	12780
	ccgtagtctg gagaagaatc gccagggttg cttgcgggtg tgccccgggtt cgaggccggc	12840
	cggattccgc ggctaacgag ggctggctg cccgtcggtt tccaagaccc catagccagc	12900
15	cgacttctcc agttacggag cgagccctc tttgtttt tttgtttt ccagatgcat	12960
	cccgtaactgc ggcagatgcg ccccccaccac cttccaccgc aacaacagcc ccctccacag	13020
	ccggcgcttc tgcccccgcc ccagcagcaa cttccagccca cgaccgcgcg ggccgcgcgt	13080
	agcggggctg gacagagtta ttagtaccagg ctggccttg aagagggcga ggggctggcg	13140
	cgcctggggg cgtcgccgc ggagcggcac ccgcgcgtgc agatgaaaag ggacgctcgc	13200
	gaggcctacg tgcccaagca gaacctgttc agagacagga gcggcgagga gcccgaggag	13260
20	atgcgcgcgg cccgggttcca cgcggggcgg gagctgcggc gcggcctggaa cggaaagagg	13320
	gtgctgaggg acgaggattt cgaggcggac gagctgacgg gatcagccc cgccgcgcgc	13380
	cacgtggccg cggccaacct ggtcacggcg tacgagcaga ccgtgaagga ggagagcaac	13440
	ttccaaaaat cttcaaccaa ccacgtgcgc accctgatcg cgccgcgagga ggtgaccctg	13500
	ggcctgatgc acctgtggga cctgctggag gccatcgatgc agaaccac cagcaagccg	13560
25	ctgacggcgc agctgttcct ggtggtgcag catagtcggtt acaacgaagc gttcagggag	13620
	gcfgctgctga atatcaccga gcccggggc cgctggctcc tggacctggt gaacattctg	13680
	cagagcatcg tggtgccagga ggcggggctg ccgctgtccg agaagctggc ggccatcaac	13740
	ttctcggtgc ttagtttggg caagtactac gcttaggaaga tctacaagac cccgtacgtg	13800
	cccatagaca aggaggtgaa gatcgacggg ttttacatgc gcatgaccct gaaagtgcgt	13860
30	accctgagcg acgatctggg ggtgtaccgc aacgacagga tgcaccgtgc ggtgagcgcc	13920
	agcaggcggc gcgagctgag cgaccaggag ctgatgcata gtctgcagcg ggccctgacc	13980
	ggggccggga ccgaggggggag gactacttt gacatggcg cggacctgca ctggcagccc	14040
	agccgcgggg ccttggaggc ggcggcagga ccctacgttag aagaggtgga cgatgaggtg	14100
	gacgaggagg gcgagtttactt ggaagactga tggcgccgacc gtattttgc tagatgcaac	14160
35	aacaacagcc acctcctgat cccgcgatgc gggcgccgt gcagagccag ccgtccggca	14220
	ttaactcctc ggacgatttg acccaggcca tgcaacgcata catggcgctg acgaccggca	14280
	accccaagc ctttagacag cagcccccagg ccaaccggct ctcggccatc ctggaggccg	14340
	tggtgccttc ggcgtccaaac cccacgcacg agaaggctct ggccatcgatgc aacgcgcgtgg	14400
	tggagaacaa ggccatccgc ggcgacgagg ccggcctgggt gtacaacgcg ctgctggagc	14460
40	gcgtggcccg ctacaacagc accaactgtgc agaccaacct ggaccgcata gtgaccgacg	14520
	tgcgcgaggc cgtggcccg cgcgcgcgt tccaccgcga gtccaaacctg ggatccatgg	14580
	tggcgctgaa cgccttcctc agcaccggc cgcaccaacgt gccccggggc caggaggact	14640
	acaccaactt catcagcgcc ctgcgcctga tggtgaccga ggtgccccag agcgaggtgt	14700
	accagtcgg gccggactac ttcttccaga ccagtcgcac gggcttgcag accgtgaacc	14760
45	tgagccaggc tttcaagaac ttgcaggggcc tggggggcgt gcaggccccg gtcggggacc	14820
	gcgcgcacggt gtcgagccctg ctgacgcccga actcgccct gctgctgctg ctggtgccccc	14880
	ccttcacgga cagcggcagc atcaacccgca actcgatctt gggctacctg attaacctgt	14940
	accgcgaggc catcgcccg ggcgcacgtgg acgagcagac ctaccaggag atcaccacac	15000

	ttagccgcgc cctgggccaag gacgacccgg gcaacctgga agccaccctg aacttttgc	15060
	tgaccaaccg gtgcagaag atcccgcccc agtacgcgct cagcaccgag gaggagcgca	15120
	tcctgcgtta cgtgcagcag agcgtgggcc tggctctgat gcaggagggg gccacccca	15180
	gcccgcgct cgacatgacc gcgcgaaca tggagccag catgtacgcc agcaaccgcc	15240
5	cgttcatcaa taaaactgatg gactacttgc atcggccggc cgccatgaac tctgactatt	15300
	tcaccaacgc catcctgaat ccccaactggc tcccgcggc ggggttctac acgggcgagt	15360
	acgacatgcc cgacccaaat gacgggttcc tgtggacga tgtggacagc agcgtgttct	15420
	ccccccgacc gggtgtaac gagcgcctt tgtggaagaa ggaaggcagc gaccgacgcc	15480
	cgtcctcggc gctgtccggc cgcgagggtg ctgcgcggc ggtgcccag gccgccagtc	15540
10	ctttcccgag cttgccttc tcgctgaaca gtatccgcag cagcgcagctg ggcaggatca	15600
	cgcgcccgcg cttgctggc gaagaggagt acttgaatga ctcgcgttgc agacccgagc	15660
	gggagaagaa cttcccaat aacggatag aaagccttgt ggacaagatg agccgctgga	15720
	agacgtatgc gcaggagcac agggacgatc cccggcgctc gcagggggcc acgagccggg	15780
	gcagcgcgc ccgtaaacgc cggtggcacg acaggcagcg gggacagatg tgggacgatg	15840
15	aggactccgc cgacgcacagc agcgtgttgg acttgggtgg gagtgtaac ccgttcgtc	15900
	acctgcgcgc ccgtatcggt cgcatgtatgt aagagaaacc gaaaataaat gatactcacc	15960
	aaggccatgg cgaccagcg gcgttcgtt cttctctgtt gttgttgtat ctatgtatgt	16020
	gaggcgtgcg tacccggagg gtcctcctcc ctcgtacgag agcgtatgc agcaggcgat	16080
	ggcggcggcg gcgatgcagc cccgcgtgga ggctccttac gtgcggccgc ggtacctggc	16140
20	gcctacggag gggcggaaaca gcattcgta ctcggagctg gcaccctgt acgataaccac	16200
	ccgggtgtac ctgggtggaca acaagtcggc ggacatcgcc tcgctgaact accagaacga	16260
	ccacagcaac ttccctgacca ccgtggtgca gaacaatgac ttcacccca cggaggccag	16320
	cacccagacc atcaactttg acgagcgcgc gcggtgggc ggccagctga aaaccatcat	16380
	gcacaccaac atgcccacg tgaacgagtt catgtacagc aacaagttca aggccgggt	16440
25	gatggcttcc cgcaagaccc ccaatgggt gacagtgaca gaggattatg atggtagtca	16500
	ggatgagctg aagtatgaat gggtggaatt tgagctgccc gaaggcaact tctcggtgac	16560
	catgaccatc gacctgtatgc acaacgcct catgcacaat tacttggcg tggggcggca	16620
	gaacgggttg ctggagagcg acatcggtgt gaagttcgac actaggaact tcaggctgg	16680
	ctgggacccc gtgaccgagc tggcatgac cgggtgtac accaacgagg cttccatcc	16740
30	cgatattgtc ttgctgcccc gctgcggggt ggacttcacc gagagccgcc tcagcaac	16800
	gctggcatt cgcaagaggc agcccttcca ggaaggcttc cagatcatgt acgaggatct	16860
	ggaggggggc aacatccccg cgctcctgga tgtcgacgcc tatgagaaaa gcaaggagga	16920
	tgcagcagct gaagcaactg cagccgttagc taccgcctt accgaggtca gggcgataa	16980
	ttttgcaagc gccgcagcag tggcagcggc cgaggcggt gaaaccgaaa gtaagatagt	17040
35	cattcagccg gtggagaagg atagcaagaa caggagctac aacgtactac cggacaagat	17100
	aaacaccgc taccgcagct ggtaccttagc ctacaactat ggcgaccccg agaaggcggt	17160
	gcgcctctgg acgctgctca ccacctcgga cgtcacctgc ggcgtggagc aagtctactg	17220
	gtcgctgccc gacatgtatgc aagacccgt cacccctcc tccacgcgtc aagtttagcaa	17280
	ctacccggtg gtggcgccg agctcctgac cgtctactcc aagagcttct tcaacgagca	17340
40	ggccgtctac tcgcagcagc tgccgcctt cacctcgat acgcacgtct tcaaccgtt	17400
	ccccgagaac cagatcctcg tccgcggcc cgcgcaccatt accaccgc tcaatgtaaaa	17460
	cgttcctgct ctcacagatc acgggaccct gccgctgcgc agcagtatcc ggggagtc	17520
	gcgcgtgacc gttactgacg ccagacgcgg cacctgcccc tacgtctaca aggccctgg	17580
	catagtcgcg cccgcgtcc tctcgagccg cacctctaa atgtccattc tcatctcgcc	17640
45	cagtaataac accgggtgg gcctgcgcgc gcccagcaag atgtacggag gcgcgc	17700
	acgctccacg caacaccccg tgcgcgtgcg cgggcacttc cgcgcctt gggcgccct	17760
	caagggccgc gtgcggcgc gcaccaccgt cgacgcacgtg atcgaccagg tggtgccga	17820
	cgcgcgcac tacaccccg cgcgcgcgc cgtctccacc gtggacgcgc tcacgcac	17880

	cgtggtggcg gacgcgcgcc ggtacgccc gccaagagc cggccggcggc gcatcgcccc	17940
	gcggcacccg agcacccccc ccatgcgcgc ggccgcagcc ttgctgcga gggccaggcg	18000
	cacgggacgc agggccatgc tcagggcggc cagacgcgcg gcttcaggcg ccagcggcgg	18060
	caggaccgg agacgcgcgg ccacggcggc ggcagcggcc atcgccagca tgtccgccc	18120
5	gcggcgaggg aacgtgtact gggtgcgcga cgccgccacc ggtgtgcgcg tgcccgtgcg	18180
	cacccgcccc cctcgactt gaagatgttc acttcgcgcgat gttgatgtgt cccagcggcg	18240
	aggaggatgt ccaagcgcaa attcaaggaa gagatgctcc aggtcatcgc gcctgagatc	18300
	tacggccctg cggtgtgtaa ggaggaaaaga aagccccgca aaatcaagcg ggtcaaaaag	18360
	gacaaaaagg aagaagaaaag tcatgtggac ggattggtgg agtttgcgcg cgagttcgcc	18420
10	ccccggcggc gcgtgcagtgc gcgcggggcgg aaggtgcac acgggtctgag acccggcacc	18480
	accgtggct tcacgccccg cgagcgctcc ggcaccgcctt ccaagcgctc ctacgacgag	18540
	gtgtacgggg atgatgatat tctggagcag gcggccgagc gcctggcgaa gtttgcttac	18600
	ggcaagcgca gccgttccgc accgaaggaa gaggcggtgt ccatcccgct ggaccacggc	18660
	aacccacgc cgagcctcaa gcccgtgacc ttgcagcagg tgctgcccac cgccggcggc	18720
15	cgccgggggt tcaagcgca gggcgaggat ctgtacccca ccatgcagct gatggtgcgg	18780
	aagcgccaga agcttggaaa cgtgtggag accatgaagg tggaccggc cgtgcagccc	18840
	gaggtcaagg tgcggcccat caagcaggtg gccccgggccc tggcgtgca gaccgtggac	18900
	atcaagattt ccacggagcc catggaaacg cagaccgagc ccatgtatcaa gcccagcacc	18960
	agcaccatgg aggtgcagac ggatccctgg atgcacatcg ctcctagtcg aagacccgg	19020
20	cgcaagtacg gcgcggcccg cctgcgtatgc cccaactacg cgctgcaccc ttccatcatc	19080
	cccacgccccg gctaccgcgg cacgcgcctt taccgcggc ataccagcag ccggcggccgc	19140
	aagaccacca ctcgcccggc ccgtcgcgc accgcgcgtg caaccacccc tgccgcctg	19200
	gtgcggagag tgtaccgcgc cggccgcgc cctctgaccc tgccgcgcgc ggcgtaccac	19260
	ccgagcatcg ccatttaaac ttgcgcagac ttgcagatc aatggccctc acatgcgcgc	19320
25	ttcgcgttcc cattacgggc taccgaggaa gaaaaccgcg ccgtagaagg ctggcgggg	19380
	acgggatgcg tcgcccaccac caccggcggc ggcgcgcgc cagcaagcg ttggggggag	19440
	gcttcctgcc cgcgcgtatc cccatcatcg ccgcggcgat cggggcgatc cccggcattg	19500
	cttccgtggc ggtgcaggcc tctcagcgcc actgagacac acttggaaac atcttgtaat	19560
	aaacccatgg actctgacgc tcctggcctt gtatgtgtt ttgcgtacaca gatggaagac	19620
30	atcaattttt cgtccctggc tccgcacac ggcacgcggc cgatcgatgg cacctggagc	19680
	gacatcggca ccagccaact gaacgggggc gccttcaatt ggagcagtct ctggagcggg	19740
	cttaagaatt tcgggtccac gcttaaaacc tatggcagca aggcgtggaa cagcaccaca	19800
	gggcaggcgc tgagggataa gctgaaagag cagaacttcc agcagaaggt ggtcgatgg	19860
	ctgcctcgg gcatcaacgg ggtggtggac ctggcaacc agggcgtgca gcggcagatc	19920
35	aacagccgcc tggaccggg gccggccgcg ggctccgtgg agatgcgcg ggtggaggag	19980
	gagctgcctc ccctggacaa gcggggcgag aagcgacccc gccccgatgc ggaggagacg	20040
	ctgctgacgc acacggacga gccgcccccg tacgaggagg cggtaaaact ggtctgcgg	20100
	accacgcggc ccatgcgcgc cctggccacc ggggtgctga aacccaaaaa gcccgcgacc	20160
	ctggacttgc ctccctccca gccttccgc ccctctacag tggctaagcc ctcgcgcgc	20220
40	gtggccgtgg cccgcgcgcg acccgggggc accgcgcgc ctcatgcgaa ctggcagagc	20280
	actctgaaca gcatcggtgg tctggagtg cagagtgtga agcgcgcgc ctgctattaa	20340
	acctaccgtt ggcgttact tgcttgcgt tggtgtatg tattatgtcg ccggcgcgc	20400
	tgtccaccag aaggaggagt gaagaggcgc gtcgcgcgat tgcaagatgg ccacccatc	20460
	gatgctgccc cagtggcgt acatgcacat cgccggacag gacgcttcgg agtacctgag	20520
45	tccgggtctg gtgcgtttt cccgcgcac agacacccatc ttcatgttgc ggaacaagtt	20580
	taggaacccc acgggtggcgc ccacgcacga tgtgaccacc gaccgcagcc agcggctgac	20640
	gctgcgccttc gtgcccgtgg accgcgcgatca aacacccatc tcgtacaaag tgcgcacac	20700
	gctggccgtg ggcgacaacc gcgtgcgtga catggccagc acctacttgc acatccgcgg	20760

	cgtgctggat cggggcccta gcttcaaacc ctactccggc accgcctaca acagtctggc	20820
	ccccaaaggga gcacccaaca cttgtcagtg gacatataaa gccgatggtg aaactgccac	20880
	agaaaaaacc tatacatatg gaaatgcacc cgtgcagggc attaacatca caaaaatgg	20940
5	tattcaacctt ggaactgaca ccgatgatca gccaatctac gcagataaaa cctatcagcc	21000
	tgaacctcaa gtgggtgatg ctgaatggca tgacatcact ggtactgatg aaaagtatgg	21060
	aggcagagct cttaaagcctg ataccaaataat gaagccttgt tatggttctt ttgccaagcc	21120
	tactaataaa gaaggagggtc aggcaaattgt gaaaacagga acaggcacta ctaaagaata	21180
	tgacatagac atggctttct ttgacaacag aagtgcggct gctgctggcc tagctccaga	21240
	aattgttttg tatactgaaa atgtggattt ggaaactcca gataccata ttgtatacaa	21300
10	agcaggcaca gatgacagca gctcttctat taatttgggt cagcaagcca tgcccaacag	21360
	acctaactac attggttca gagacaactt tatcggttc atgtactaca acagcactgg	21420
	caatatgggg gtgctggccg gtcaggcttc tcagctaat gctgtggttg acttgcaaga	21480
	cagaaacacc gagctgtcctt accagctctt gcttgactct ctgggtgaca gaacccggta	21540
	tttcagtagt tggaaatcagg cggtggacag ctatgatcct gatgtgcga ttattgaaaa	21600
15	tcatgggttg gaggatgaac ttcccaacta ttgtttccct ctggatgctg ttggcagaac	21660
	agataacttat cagggattt aggctaattgg aactgatcaa accacatgga ccaaagatga	21720
	cagtgtcaat gatgctaattt agataggcaa gggtaatcca ttgcacatgg aaatcaacat	21780
	ccaagccaac ctgtggagga acttcctcta cgccaaacgtg gccctgtacc tgcccgaactc	21840
	ttacaagtac acggccggcca atgttaccct gcccaccaac accaacadct acgattacat	21900
20	gaacggccgg gtgggtggcg cctcgctggt ggactcctac atcaacatcg gggcgcgctg	21960
	gtcgctggat cccatggaca acgtgaaccc cttcaaccac caccgcaatg cggggctgctg	22020
	ctaccgctcc atgctcctgg gcaacggcgct acgtgtgccc ttccacatcc aggtgcccc	22080
	gaaatttttc gccatcaaga gcctcctgct cctgccccgg tcctacaccc acgagtggaa	22140
	cttccgcaag gacgtcaaca tgatcctgca gagctccctc ggcaacgacc tgcgcacgga	22200
25	cggggcctcc attccttca ccagcatcaa cctctacgac accttcttcc ccatggcgca	22260
	caacacggcc tccacgctcg aggccatgct ggcacacgac accaacgacc agtccttcaa	22320
	cgactacctc tcggcgccca acatgctcta ccccatcccg gccaacgcca ccaacgtgcc	22380
	catctccatc ccctcgccga actggccgc cttccgcccc tcgtccttca cgcgtctcaa	22440
	gaccaaggag acggccctcg tgggctccgg gttcgacccc tacttcgtct actcgggctc	22500
30	catcccctac ctcgacggca cttctacactt caaccacacc ttcaagaagg tctccatcac	22560
	cttcgactcc tccgtcagct ggccccggaa cgaccggctc ctgacgcccc acgagttcga	22620
	aatcaagcgc accgtcgacg gcgagggtca caacgtggcc cagtgcaca tgaccaagga	22680
	ctgggttcctg gtccagatgc tggccacta caacatggc taccagggtct tctacgtgcc	22740
	cgagggtctac aaggaccgca tgtactcctt ttccgcaac ttccagcccc tgagccgcca	22800
35	ggtgtggac gaggtcaact acaaggacta ccaggccgtc accctggctt accagcacaa	22860
	caactcgggc ttcgtcggtt acctcgcc caccatcgcc cagggccagc cttaccccg	22920
	caactacccc tacccgctca tcggcaagag cggcgccacc agcgtcaccc agaaaaatgg	22980
	cctctgcgtac agggtcatgt ggccgtatccc cttctccagc aacttcatgt ccatggcg	23040
	gctcaccgac ctcggccaga acatgctcta tgccaaactcc gccacgcgc tagacatgaa	23100
40	tttcgaaatgc gacccatgg atgagtcac cttctctat gttgtctcg aagtcttcga	23160
	cgtcgccatc gtgcaccaggc cccaccggc cgtcatcgag gccgtctacc tgcgaccccc	23220
	cttctcgcc ggtAACGCCA ccacctaagc tttgtttct tgcaagccat ggccgcccc	23280
	tccggcgagc agggactcgg gggcatcatc cgccgacccgg gctgcggcc ctacttcctg	23340
	ggcacccctcg ataagcgctt cccgggattt atggccccc acaagctggc ctgcgcacatc	23400
45	gtcaacacgg cccggccgcga gaccgggggc gagcactggc tggccttcgc ctggaaacccg	23460
	cgctcgaaaca cctgctaccc ttccgaccccc ttggggttct cggacgagcg cctcaagcag	23520
	atctaccagt tcgagtagca gggcctgctg cgccgcagcg ccctggccac cgaggaccgc	23580
	tgcgtcaccc tggaaaatgc caccagacc gtgcagggtc cgccgtcgcc cgccctgcggg	23640

	ctttctgct gcatgttccgcacgccttc gtgcactggc ccgaccgccc catggacaag	23700
	aaccccacca tgaacttgct gacgggggtg cccaacggca tgctccagtc gccccaggtg	23760
	gaacccaccc tgcgccgcaa ccaggaggcg ctctaccgct tcctcaactc ccactccgccc	23820
5	tactttcgct cccaccgcgc ggcacatcgag aaggccaccg cttcgaccg catgaatcaa	23880
	gacatgtaaa ccgtgtgtgt atgttaaatg tcttaataaa acagcactt catgttacac	23940
	atgcacatctga gatgatttat ttagaaaatcg aaagggttct gcccgggtctc ggcacatggccc	24000
	gcgggcaggg acacgttgcg gaactgggtac ttggccagcc acttgaactc ggggatcagc	24060
	agtttgggca gcgggggtgtc ggggaaggag tcgggtccaca gcttccgcgt cagttgcagg	24120
	gcccgcagca ggtcgggcgc ggagatctt aaatcgca gttctgcgcg 24180	
10	cgggagttgc ggtacacggg gttgcagcac tggAACACCA tcagggccgg gtgcacacac	24240
	ctcgccagca ccgtcgcgctc ggtatgc tccacgtcga gtcctcgcc gttggccatc	24300
	ccgaagggggg tcatcttgc ggtctgcctt cccatggtgg gcacgcaccc gggcttgtgg	24360
	ttgcaatcgc agtgcagggg gatcagcatc atctggcct ggtcgccgtt catccccggg	24420
	tacatggcct tcatgaaagc ctccaattgc ctgaacgcct gctggcctt ggctccctcg	24480
15	gtgaagaaga ccccgccagga cttgttagag aactggttgg tggcgcaccc ggctcggtgc	24540
	acgcagcagc ggcgcgtcggt gttggccagc tgcaccacgc tgcgcggggc gcggttctgg	24600
	gtgatcttgg cccggtcggg gttctccctc agcgcgcgt gcccgttctc gctcgccaca	24660
	tccatctcga tcatgtgctc cttctggatc atgggtggcc cgtgcaggca ccgcagcttgc	24720
	ccctcggcct cggtgcaccc gtgcagccac agcgcgcacc cggtgcactc ccagttcttgc	24780
20	tggcgatct gggatgcgc gtgcacgaag ccctgcagga agcggcccat catggtggtc	24840
	agggtcttgt tgctagtgaa ggtcagcgga atgcccgggt gtcctcggtt gatgtacagg	24900
	tggcagatgc ggcggtagac ctcgcctgc tcgggcatca gctggaa gtttgcggc	24960
	tcgggtccca cgcggtagcg gtccatcagc atagtcatga tttccatacc cttctccag	25020
	gccgagacga tggcagggtt catagggttc ttcaccatca tcttagcgct agcagccgcg	25080
25	gccagggggt cgctctcgctc cagggtctca aagctccgc tgcgcgtt ctcggatgtc	25140
	cgcaccgggg gtagctgaa gcccacggcc gccagctcct ctcggcctg tcttcgtcc	25200
	tcgctgtcct ggctgacgtc ctgcaggacc acatgttgg tcttgcgggg tttcttcttgc	25260
	ggcggcagcg gggcgaggaa tgttggagat ggcgagggggg agcgcgagtt ctgcgtcacc	25320
	actactatct cttccctttc ttgggtccgag gccacgcggc ggttaggtatg tctttcggtt	25380
30	ggcagaggcg gaggcgacgg gctctcgccg ccgcgacttgc gcgatggct ggcagagccc	25440
	cttcccggtt cgggggtgcg ctcccgccgg cgctctgact gacttcctcc gggccggcc	25500
	attgtttct cctaggaggaa aacaacaagc atggagactc agccatcgcc aacctcgcca	25560
	tctcccccaccc cgcggacga gaagcagcag cagcagaatg aaagcttaac cggccggcc	25620
	cccaaaaaa ccacctccga cgccggccgtc ccagacatgc aagagatgga ggaatccatc	25680
35	gagattgacc tgggttatgt gacgccccgcg gagcagcagg aggagctggc agtgcgttt	25740
	tcacaagaag agatacacca agaacagcca gagcaggaag cagagaatga gcagagtcag	25800
	gctgggtctg agcatgacgg cgactacctc cacctgagcg gggggggagga cgcgcgtcatc	25860
	aagcatctgg cccggcaggc caccatcgac aaggatgcgc tgctcgaccg caccgagggtg	25920
	ccctcagcg tggaggagct cagccgcgc tacgagttga acctttctc gccgcgcgtg	25980
40	cccccaaggc ggcagccaa tggcacctgc gagcccaacc cgccgcctaa cttctaccgc	26040
	gttttcgcgg tgcccgaggc cctggccacc taccatct tttcaagaa caaaaagatc	26100
	cccgctctt gcccgcacca ccgcacccgc gccgacgccc tttcaacct gggccggc	26160
	gcccgcctac ctgatatcg ctccttggaa gaggttccca agatcttcga gggcttggc	26220
	agcgcacgaga ctcggccgcg gaacgctctg caaggagaag gaggagagca tgagcaccac	26280
45	agcgccttgg tcgagttggaa aggacgacaac ggcgcggctgg cggtgcgtt acgcacggc	26340
	gagctgaccc atttcgccta cccggctctg aacctgcggcc ccaaagtcat gagcgcggc	26400
	atggaccagg tgctcatcaa ggcgcgtcg cccatctccg aggacgagggg catgcaagac	26460
	tccgaggagg gcaagccgt ggtcagcgac gagcagctgg cccgggtggct gggcttaat	26520

	gctagtc(ccc) agagtttgg(a) agagcggcgc(a) aaactcatga tggccgtgg(t) cctggtgacc	26580
	gtggagctgg() a(g)tgccctgcg(c) ccgcttcttc gcccacgcgg(ag) accctgcg(c) caaggctcgag	26640
	gagaacctgc actacccctt caggcacggg(t) tcgtgcgcc() aggccctgcaa gatctccaac	26700
5	gtggagctga ccaacctgg(t) ctccatcata(g) ggcacatcttgc acgagaaccg(c) cctggggcag	26760
	aacgtgctgc acaccaccct gcgcggggag(g) gcccggcgcg(act) acatcatccg cgactgcgtc	26820
	tacctctacc tctgccacac ctggcagacg(g) ggcacatgggcg(t) tgtggcagca gtgtctggag	26880
	gagcagaacc tgaaagagct ctgcaagctc ctgcagaaga(ac) acctaagg(t) tctgtggacc	26940
	gggttcgacg agcgcaccac(c) cgcctcggac ctggccgacc tcatttccc cgagcgcctc	27000
	aggctgacgc tgcgcaacgg(c) cctgcccac(t) ttatgagcc aaagcatgtt gcaaaaactt	27060
10	cgctcttca tcctcgaacg ctccggaaatc ctgcccggca cctgctccgc gctgcccctcg	27120
	gacttcgtgc cgctgacctt ccgcgagtgc cccccggccgc ttttgtggcca ctgctacctg	27180
	ctgcgcctgg ccaactaccc ggcctaccac tcggacgtga tcgaggacgt cagcggcgag	27240
	ggcctgctcg agtgccactg ccgctgcaac ctctgcacgc cgcacccgctc cctggcctgc	27300
	aaccccccagc tgctgagcga gaccagatc atcggcacct tcgagttgca agggcccgagc	27360
15	gaaggcgagg gttcagccgc caaggggggt ctgaaactca cccccgggct gtggacccctcg	27420
	gcctacttgc gcaagttcg(t) gcccggaggac taccatccct tcgagatcag gttctacgag	27480
	gaccaatccc atccggccaa ggccgagctg tcggcctgcg tcacatccca gggggcgatc	27540
	ctggcccaat tgcaagccat ccagaaaatcc cgccaagaat tcttgctgaa aaaggggccgc	27600
	ggggtctacc tcgaccccca gaccggtgag gagctcaacc ccggcttccc ccaggatgcc	27660
20	ccgagggaaac aagaagctga aagtggagct gccgcccgtg gaggatttg aggaagactg	27720
	ggagaacacgc agtcaggcag aggaggagga gatggaggaa gactggaca gcactcaggc	27780
	agaggaggac agcctgcaag acagtctgga ggaagacgag gagggaggcag aggaggaggt	27840
	ggaagaagca gccgcccgc(g) gaccgtcgcc ctcggcgggg gagaaagcaa gcagcacgg	27900
	taccatctcc gctccgggtc ggggtcccgc tcgaccacac agtagatggg acgagaccgg	27960
25	acgattcccg aaccccacca cccagaccgg taagaaggag cgccaggat acaatcctcg	28020
	gcgggggcac aaaaacgcac tcgtctcctg cttgcaggcc tgcggggca acatctcctt	28080
	cacccggcgc tacctgctct tccaccgcgg ggtgaacttt ccccgcaaca tcttgcatta	28140
	ctaccgtcac ctccacagcc cctactactt ccaagaagag gcagcagcag cagaaaaaga	28200
	ccagcagaaa accagcagct agaaaatcca cagcggcgcc agcaggtgga ctgaggatcg	28260
30	cggcgaacga gccggcgcaa acccggggagc tgaggaaccg gatcttccc accctctatg	28320
	ccatcttcca gcagagtcgg gggcaggagc aggaactgaa agtcaagaac cgttctctgc	28380
	gctcgctcac ccgcagttgt ctgtatcaca agagcgaaga ccaacttcag cgcaactctcg	28440
	aggacgcccga ggctctcttc aacaagtact gcgcgctcac tcttaaagag tagccgcgc	28500
	ccgcccagtc gcagaaaaag gcgggaatta cgtcacctgt gcccttcgccc ctagccgcct	28560
35	ccaccatca tcatgagcaa agagattccc acgccttaca tgtggagcta ccagccccag	28620
	atgggcctgg ccgcgggtgc cgcccaggac tactccaccc gcatgaattt gctcagcgcc	28680
	ggggccgcga tggatctcacg ggtgaatgac atccgcgc(cc) accgaaacca gatactccta	28740
	gaacagttag cgttcaccgc cacgccccgc aatcacctca atccgcgtaa ttggccgc	28800
	gccctgggtg accaggaaat tccccagccc acgaccgtac tacttccgcg agacgcccag	28860
40	gccgaagtcc agctgactaa ctcaagggtgc cagctggcg(g) gcggcgccac cctgtgtcg	28920
	caccgc(cc)ccg ctcagggtat aaagcggctg gtatccggg gcagaggac acagctcaac	28980
	gacgaggtgg tgagctttc gctgggtctg cgacctgacg gagtcttcca actcgccgg	29040
	tcggggagat cttccttcac gcctcgtag gccgtcctga ctggggagat ttgcgtcctcg	29100
	cagccccgct cgggtggcat cggcactctc cagttcg(t) aggagttcac tccctcggtc	29160
45	tacttcaacc ccttctccgg ctccccccgc cactaccgg acgagttcat cccgaactt	29220
	gacgcccata cgcgagtcgg(g) ggacggctac gattgaatgt cccatgtcg(c) ccccccgg	29280
	cccaccctgt ccccccggaa ggtccgaaa tgcaaattcc aagaaccctg gaaattcctc	29340
	aatgttacc gccaaaaatc agacatgtcat cccagctgga tcatgtatcat tggatcg	29400

	aacattctgg cctgcaccct catcccttt gtgatttacc cctgcttga ctttggttgg	29460
	aactcgccag aggcgctcta tctccgcct gaacctgaca caccaccaca gcaacctcg	29520
	gcacacgcac taccaccact acagcctagg ccacaataca tgcccatatt agactatgag	29580
	gccgagccac agcgacccat gctccccgtt attagttact tcaatcta ac cgccggagat	29640
5	gactgaccca ctggccaaca acaacgtcaa cgaccccttc ctggacatgg acggccgcgc	29700
	ctcggagcg cgactcgccc aacttcgcat tcgcccggc caggagagag ccgtcaagga	29760
	gctgcaggat gcggtggcca tccaccagt caagagaggc atcttctgcc tggtaaaaca	29820
	ggccaagatc tcctacgagg tcactccaaa cgaccatcgc ctctcctacg agctcctgca	29880
	gcagcgccag aagttcacct gcctggtcgg agtcaacccc atcgtcatca cccagcagtc	29940
10	tggcgatacc aagggggtgca tccactgctc ctgcgactcc cccgactgctc tccacactct	30000
	gatcaagacc ctctcgccc tccgcgaccc cctcccccatt aactaatcac ccccttatcc	30060
	agtgaaataa agatcatatt gatgatgatt ttacagaaat aaaaaataat catttgattt	30120
	gaaataaaga tacaatcata ttgatgattt gagtttaca aaaaaataaa gaatcactta	30180
	cttgaatct gataccagg ctctgtccat gtttctgcc aacaccactt cactccctc	30240
15	ttcccgctc tggtaactgca ggccccggcg ggctgcaaac ttccctccaca cgctgaaggg	30300
	gatgtcaaat tcctccctgct cctcaatctt cattttatct tctatcagat gtccaaaaag	30360
	cgcgtccggg tggatgatga ctgcgaccc cgttaccctt acgatgcaga caacgcaccg	30420
	accgtgcct tcataccccc ccccttcgtc tcttcagatg gattccaaga gaagccctg	30480
	ggggtgttgc ccctgcgact ggccgaccc cgttaccacca agaacgggaa aatcaccctc	30540
20	aagctgggag agggggtggc cctcgattcc tcggaaaaac tcatactccaa cacggccacc	30600
	aaggccgccc cccctctcag ttttccaac aacaccattt cccttaacat ggatcaccctc	30660
	ttttacacta aagatggaaa attatccta caagtttctc caccattaaa tataactgaga	30720
	acaagcattc taaacacact agcttaggt tttggatcag gtttaggact ccgtggctct	30780
	gccttggcag tacagttgt ctctccactt acatttgata ctgatggaaa cataaagctt	30840
25	accttagaca gaggttgca tgttacaaca ggagatgca ttgaaagcaa cataagctgg	30900
	gctaaagggtt taaaatttga agatggagcc atagcaacca acattggaaa tgggttagag	30960
	tttggaaagca gtagtacaga aacaggtgtt gatgatgctt acccaatcca agttaaactt	31020
	ggatctggcc ttagcttgc cagtagcgg gccataatgg ctggtaacaa agaagacgat	31080
	aaactcactt tgtggacaac acctgatcca tcaccaaact gtcaaataact cgccggaaat	31140
30	gatgcaaaac taacactttt ctgactaaa tggtaactgca aaatactggc cactgtgtca	31200
	gtcttagttt taggaagtgg aaacccctaaac cccattactg gcaccgtaag cagtgcgtc	31260
	gtgtttctac gttttgatgc aaacgggtttt ctttaacag aacattctac actaaaaaaa	31320
	tactgggggtt ataggcagg agatagcata gatggcactc catataccaa tgctgttagga	31380
	ttcatgccc attaaaagc ttatccaaag tcacaaagttt ctactactaa aaataatata	31440
35	gtaggcggcaag tatacatgaa tggagatgaa tcaaaaccta tgcttctcac tataaccctc	31500
	aatggtactg atgacagcaa cagtagatata tcaatgtcat tttcatacac ctggactaat	31560
	ggaaggctatg ttggagcaac atttggggct aactcttata ctttcatacatcgcccaa	31620
	gaatgaacac tgtatcccac cctgcatacc aacccttccc accccactct gtggaaacaaa	31680
	ctctgaaaca caaaataaaa taaagttcaa gtgttttattt gattcaacag ttttacagga	31740
40	ttcgagcagt tattttccct ccaccctccc aggacatgga atacaccacc ctctccccc	31800
	gcacagccctt gaacatctga atgcattgg tggatggacat gctttggc tccacgttcc	31860
	acacagttc agagcgagcc agtctcggtt cggtcaggaa gatgaaaccc tccggcact	31920
	cccgcatctg cacccatcag ctcaacagct gaggattgtc ctcgggtggc gggatcaggg	31980
	ttatctggaa gaagcagaag agcggcggtt ggaatcatag tccgcgaacg ggatcggccg	32040
45	gtgggtgcgc atcaggcccc gcagcagtcg ctggccgcgc cgctccgtca agctgctgc	32100
	caggggggtcc ggggtccagg actccctcag catgatgccc acggccctca gcatcagtcg	32160
	tctgggtgcgg cgggcgcgc agcgcatacg gatctcgctc aggtcgctgc agtacgtgca	32220
	acacagaacc accaggttgt tcaacagtcc atagttcaac acgctccagc cgaaactcat	32280

	cgccccagg atgctaccca cgtggccgtc gtaccagatc ctcaggtaaa tcaagtggtg	32340
	ccccctccag aacacgctgc ccacgtacat gatctcctt ggcattgtggc ggttcaccac	32400
	ctcccggtac cacatcaccc tctggttgaa catgcagccc cgatgtatcc tgccgaacca	32460
	cagggccagc accgccccgc ccgcctatgca gcgaagagac cccgggtccc ggcaatggca	32520
5	atggaggacc caccgctcg acccggtggat catctgggag ctgaacaagt ctatgttggc	32580
	acagcacagg catatgctca tgcacatctt cagcactctc aactcctcg gggtcaaaac	32640
	catatcccag ggcacgggaa actcttgcag gacagcgaac cccgcagaac agggcaatcc	32700
	tcgcacagaa cttacattgt gcatggacag ggtatcgaa tcaggcagca ccgggtgatc	32760
	ctccaccaga gaagcgcggg tctcggtctc ctcacagcgt ggtaaggggg ccggccgata	32820
10	cgggtgatgg cgggacgcgg ctgatcgatgg tgcgcaccgt gtcatgtgc agttgcttc	32880
	ggacatttc gtacttgctg tagcagaacc tggtccgggc gtcacacc gatgcgcggc	32940
	ggcggtctcg ggccttggaa cgctcggtgt tgaaattgta aaacagccac tctctcagac	33000
	cgtgcagcag atcttagggcc tcaggagtga tgaagatccc atcatgcctg atggctctga	33060
	tcacatcgac caccgtggaa tggccagac ccagccagat gatcaattt tgttgggtt	33120
15	cgggtgatgg cgggacgcgg ctgatcgatgg tgcgcaccgt gtcatgtgc agttgcttc	33180
	ctcggagttac ttcaaatgaa agatcgccgaa gatggcacct ctcgcggcc ctgtgttgg	33240
	ggaaaataac agccaggtca aaggtgatac gttctcgag atgttccacg gtggcttcca	33300
	gcaaagcctc cacgcgcaca tccagaaaca agacaatagc gaaagcggga gggttctcta	33360
	attcctcaat catcatgtt cactcctgca ccatccccag ataatttca ttttccagc	33420
20	cttgaatgtatc tcgaactagt tcgtgaggta aatccaagcc agccatgata aagagctcgc	33480
	gcagagcgcc ctccaccggc attcttaagc acaccctcat aattccaaga tattctgctc	33540
	ctggttcacc tgcagcagat tgacaagcgg aatatcaaaa tctctgccgc gatccctgag	33600
	ctcctccctc agcaataact gtaagtactc tttcatatcc tctccgaaat ttttagccat	33660
	aggaccacca ggaataagat tagggcaagc cacagtacag ataaaccgaa gtcctccca	33720
25	gtgagcatttgc ccaaattgca gactgctata agcatgctgg cttagaccgg tgatatcttc	33780
	cagataactg gacagaaaat cgcccaggca atttttaaga aaatcaacaa aagaaaaatc	33840
	ctccaggtgg acgttttagag cctcggaac aacgatgaag taaatgcaag cggtgcgttc	33900
	cagcatggtt agttagctga tctgttagaaa aaacaaaaat gaacattaaa ccatgcttagc	33960
	ctggcgaaca ggtggtaaa tcgttctctc cagcaccagg cagggcacgg ggtctccggc	34020
30	gcfaccctcg taaaaattgt cgctatgatt gaaaaccatc acagagagac gttcccggtg	34080
	gccggcgtga atgattcgac aagatgaata caccggcga acattggcgt ccgcgagtga	34140
	aaaaaaagcgc ccgaggaagc aataaggcac tacaatgctc agtaaataaa tctcaagtcc	34200
	agcaaagcga tgccatgcgg atgaagcaca aaattctcag gtgcgtacaa aatgtatatta	34260
	ctccccctc gcacaggcag caaagcccc gatccctca ggtacacata caaagctca	34320
35	gcgtccatag cttaccggc agcagcacac aacaggcgca agagtcagag aaaggcttag	34380
	ctctaacctg tccaccggc ctctgctcaa tatataccc agatctacac tgacgtaaag	34440
	gccaaagtct aaaaatacc gccaaataat cacacacgccc cagcacacgc ccagaaaccg	34500
	gtgacacact caaaaaaaaaa cgccacttc ctcaaacgccc caaaactgccc gtcattccg	34560
	gttcccccacg ctacgtcatc aaaacacgac tttcaaattc cgtcgaccgt taaaaacgtc	34620
40	acccggcccg cccctaacgg tcgcccgtct ctcagccaaat cagggccccg catccccaaa	34680
	ttcaaacacc tcatttgcattt attaacgcgc acaaaaaagtt tgaggtatat tattgtat	34740
	gg	34742

(57) Формула изобретения

1. Фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма human adenovirus 26-го серотипа, в котором делятированы

E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus* 5-го серотипа, в 5 котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

2. Фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома 10 рекомбинантного штамма *human adenovirus* 26-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, а область ORF6-Ad26 заменена на ORF6-Ad5, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *simian adenovirus* 25-го серотипа, 15 в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

3. Фармацевтическое средство для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, содержащее компонент 1, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома 20 рекомбинантного штамма *simian adenovirus* 25-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, а также содержащее компонент 2, представляющий собой средство в виде экспрессионного вектора на основе генома рекомбинантного штамма *human adenovirus* 5-го серотипа, в котором делетированы E1 и E3 области, со встроенной 25 экспрессионной кассетой, выбранной из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3.

4. Фармацевтическое средство по пп. 1-3, отличающееся тем, что оно находится в жидкой или лиофилизированной форме.

5. Фармацевтическое средство по п. 4, отличающееся тем, что буферный раствор для жидкой формы содержит, масс %:

30	трис	от 0,1831 до 0,3432
	хлорид натрия	от 0,3313 до 0,6212
	сахароза	от 3,7821 до 7,0915
	магния хлорида гексагидрат	от 0,0154 до 0,0289
	ЭДТА	от 0,0029 до 0,0054
35	полисорбат-80	от 0,0378 до 0,0709
	этанол 95%	от 0,0004 до 0,0007
	вода	остальное

6. Фармацевтическое средство по п.4, отличающееся тем, что буферный раствор для лиофилизированной формы содержит, масс %:

40	трис	от 0,0180 до 0,0338
	хлорид натрия	от 0,1044 до 0,1957
	сахароза	от 5,4688 до 10,2539
	магния хлорида гексагидрат	от 0,0015 до 0,0028
	ЭДТА	от 0,0003 до 0,0005
45	полисорбат-80	от 0,0037 до 0,0070
	вода	остальное

7. Фармацевтическое средство по пп. 1-3, отличающееся тем, что компонент 1 и компонент 2 находятся в разных упаковках.

8. Применение фармацевтического средства по пп. 1, 2 или 3 для индукции

специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2, включающее использование компонента 1 и 2 в эффективном количестве последовательно с интервалом не менее 1 недели.

5

10

15

20

25

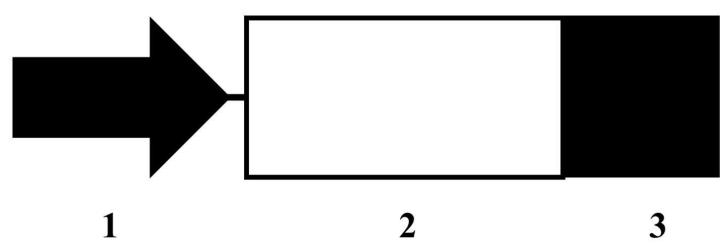
30

35

40

45

1



Фиг. 1

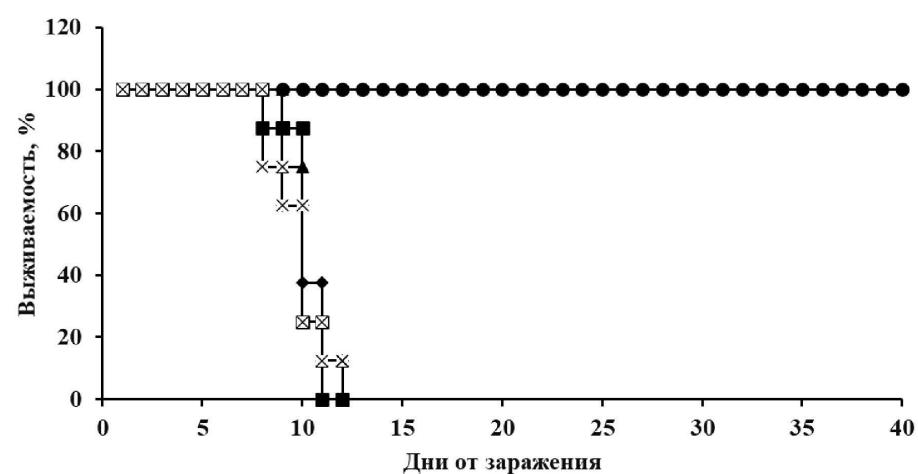
2



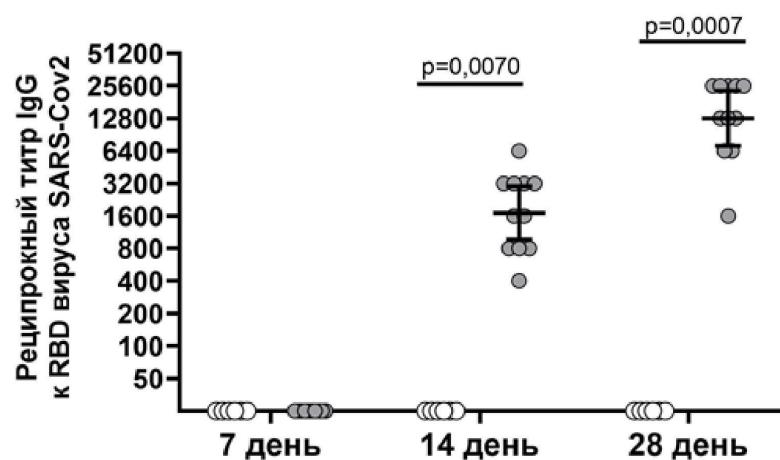
Фиг. 2



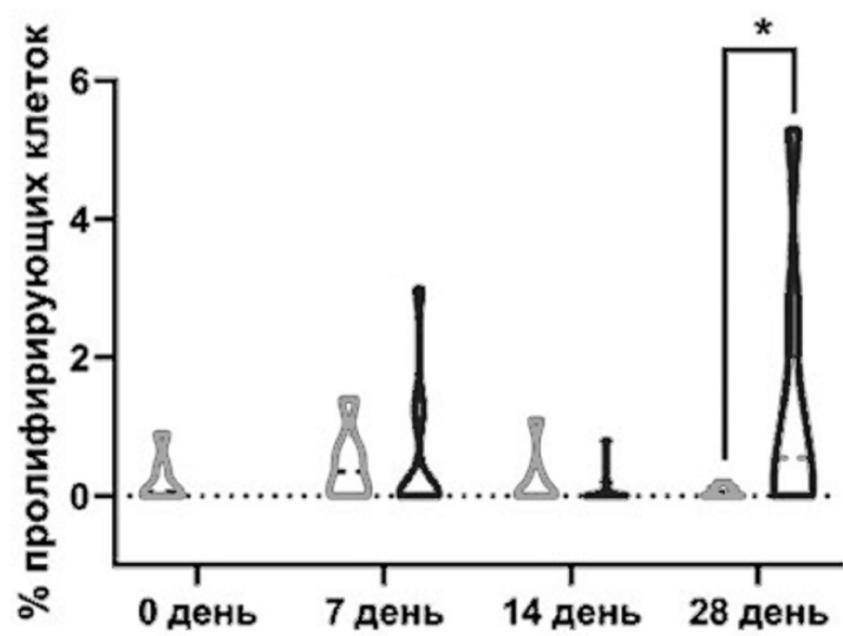
Фиг. 3



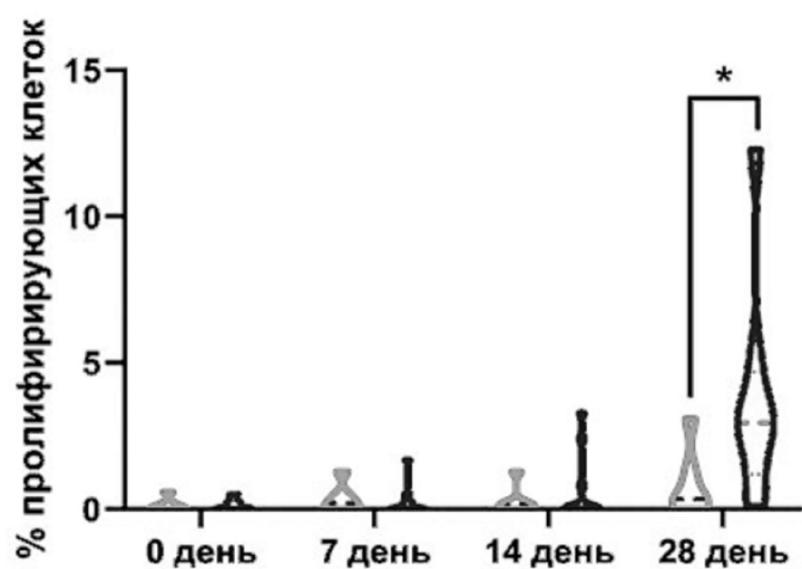
Фиг. 4



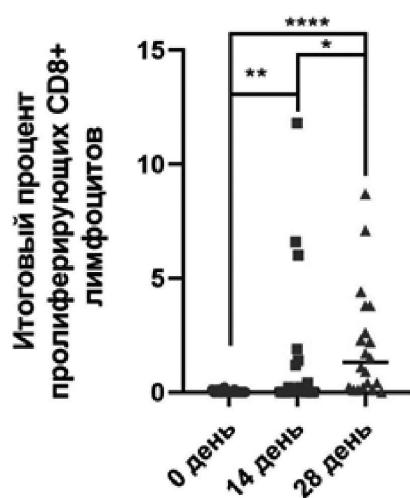
Фиг. 5



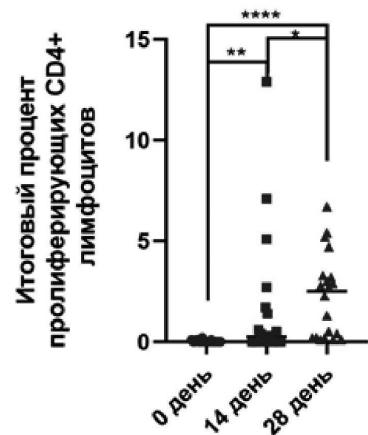
Фиг. 6



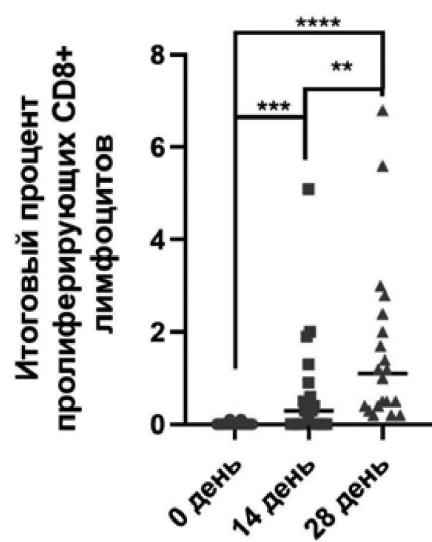
Фиг. 7



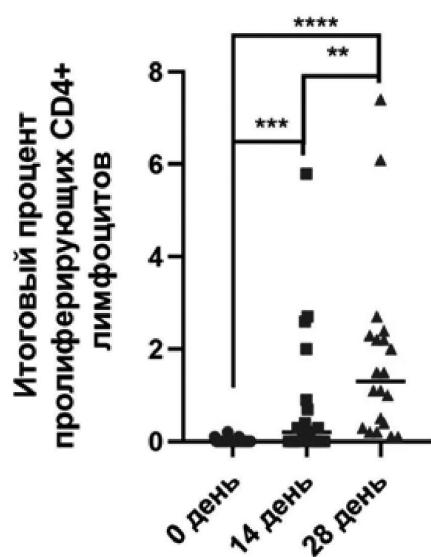
Фиг. 8



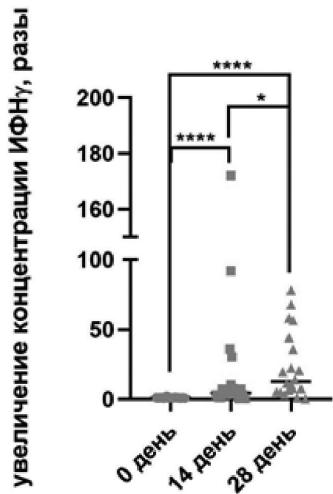
Фиг. 9



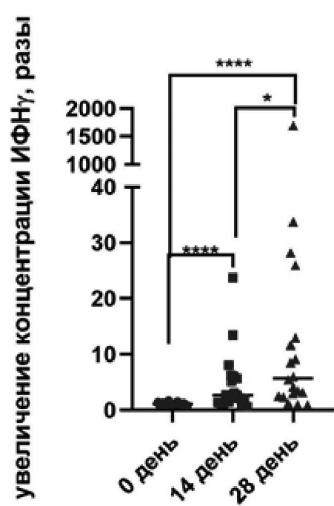
Фиг. 10



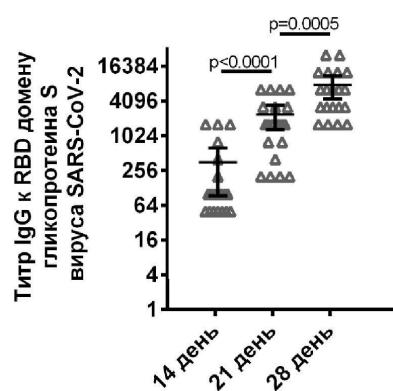
Фиг. 11



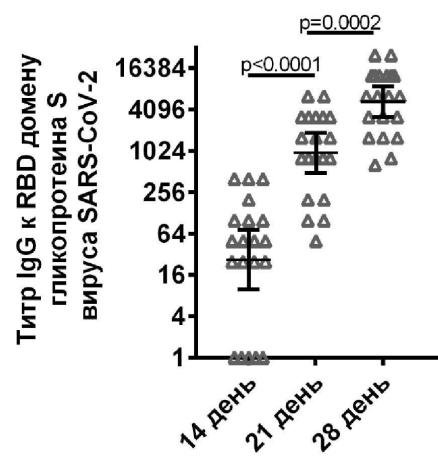
Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15