

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201600189** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2016.08.31

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2014.08.21

(54) **КОМПОЗИЦИЯ И ВАКЦИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКИХ**

(31) **PCT/EP2013/002514**

(32) **2013.08.21**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2014/002299**

(87) **WO 2015/024666 2015.02.26**

(71) Заявитель:
КУРЕВАК АГ (DE)

(72) Изобретатель:
**Каллен Карл-Йозеф, Фотин-Млечек
Мариола, Гнад-Фогт Ульрике (DE)**

(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Кузенкова Н.В.,
Веселицкий М.Б., Каксис Р.А.,
Белоусов Ю.В., Куликов А.В.,
Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) В заявке описана композиция, содержащая по меньшей мере одну мРНК, кодирующую комбинацию антигенов, которые могут вызывать (адаптивный) иммунный ответ у млекопитающего, в которой антигены выбраны из группы, состоящей из 5Т4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивина (белок, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов 5; BIRC5), NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1; STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1). В заявке описана также вакцина, содержащая по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует указанную комбинацию антигенов, и применение указанной композиции (для приготовления вакцины) и/или вакцины для вызывания (адаптивного) иммунного ответа для лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких (NSCLC), и связанных с ним заболеваний или нарушений. И, наконец, в заявке описаны наборы, прежде всего наборы компонентов, которые содержат композицию и/или вакцину.

A1

201600189

201600189

A1

5

10

15

Заявка № 201600189

Заявитель КУРЕВАК АГ, DE

КОМПОЗИЦИЯ И ВАКЦИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКИХ20 Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к композиции, которая содержит по меньшей одну мРНК, кодирующую комбинацию антигенов, которые обладают способностью вызвать (адаптивный) иммунный ответ у млекопитающего, где антигены выбирают из группы, состоящей из 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивина (белок 5, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов; BIRC5), NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1). Изобретение относится также к вакцине, содержащей по меньшей мере одну мРНК, кодирующую указанную комбинацию антигенов, и к применению указанной композиции (для приготовления вакцины) и/или вакцины для вызывания (адаптивного) иммунного ответа с целью лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких (NSCLC), и связанных с ним

25
30

заболеваний или нарушений. И, наконец, изобретение относится к наборам, прежде всего наборам компонентов, которые содержат композицию и/или вакцину.

Предпосылки создания изобретения

5 Из всех злокачественных опухолей 25% приходится на бронхиальные карциномы (карциномы легких). Во всем мире они являются наиболее часто встречающейся причиной связанной с раком смерти у мужчин и второй из наиболее часто встречающихся причин у женщин. В Германии этот тип карцином является третьим по распространенности после карциномы
10 предстательной железы и колоректальной карциномы. Ежегодно они вызывают 1,3 миллиона смертельных случаев во всем мире. В Центральной Европе заболеваемость им составляет примерно 60 на 100000 населения, и количество людей, у которых впервые диагностирован рак легких, постоянно возрастает (в Германии в настоящее время количество случаев составляет примерно 50000 в
15 год). После диагностирования рака легких средний уровень общей пятилетней выживаемости составляет только 5%. Однако продолжительность жизни каждого отдельного пациента полностью зависит от стадии болезни (TMN-классификация) и рассматриваемого подтипа карциномы (рак легких) (см. ниже).

20 Основные подтипы рака легких, которые классифицируют по размеру и внешнему виду злокачественных клеток, идентифицируемых с помощью микроскопа, представляют собой мелкоклеточный рак легких (20%) и немелкоклеточный рак легких (NSCLC) (80%). Эта классификация, хотя она основывается на простых гистологических критериях, имеет очень важное значение в клинической практике и для прогнозирования заболевания, при этом,
25 мелкоклеточный рак легких, как правило, поддается лечению с помощью химиотерапии, а при немелкоклеточном раке легких наиболее часто используют хирургическое вмешательство в качестве лечения первой линии.

30 Подтипы немелкоклеточного рака легких (NSCLC) объединяют в одну группу на основании того, что их прогнозирование и пути их лечения являются примерно одинаковыми. Имеются три основных подтипа: плоскоклеточная карцинома легких, аденокарцинома и крупноклеточная карцинома легких. Хирургия является основным путем лечения; однако только для четверти пациентов резекция оказывается успешной, при этом частота рецидивов

составляет 50%. Терапевтические подходы на запущенной стадии заболевания включают (после хирургического вмешательства) адъювантную химиотерапию и/или адъювантную лучевую терапию, в то время как монотерапия (терапия первой линии), по-видимому, представляет собой подход, ассоциированный с относительно плохими результатами. При сравнении четырех обычно применяемых режимов комбинированной химиотерапии ни у одной из них не обнаружено преимуществ. Уровни ответа варьировались от 15 до 22%, при этом уровни однолетней выживаемости составляли от 31 до 36% (см., например, O'Mahony D., S. Kummar и др., «Non-small-cell lung cancer vaccine therapy: a concise review», J Clin Oncol 23(35), 2005, сс. 9022-9028). Таким образом, даже хотя предоперационная химиотерапия, по-видимому, не приводит к удлинению продолжительности жизни, установлено, что адъювантная химиотерапия, если ее применяют в сочетании с лучевой терапией, также существенно увеличивает продолжительность жизни.

Одним из применяемых в настоящее время химиотерапевтических подходов включает комбинации субстанций на основе платины, например, с гемцитабином, даже в качестве терапии первой линии, а, например, пеметрексед применяют в качестве терапии второй линии.

Другим подходом, применяемым для лечения NSCLC, является так называемая «таргетная (направленная) терапия», с помощью которой пытаются повышать успех классической цитотоксической химиотерапии путем воздействия на специфические для опухоли структуры-мишени на молекулярном уровне. Применяемые для этой цели субстанции включают бевацизумаб (ингибитор ангиогенеза) или эрлотиниб, мишенью которого являются рецепторные тирозинкиназы эпидермального фактора роста (EGFR).

Даже, несмотря на то, что при применении современных терапевтических подходов к лечению рака легких, прежде всего NSCLC, наблюдается несомненная положительная динамика, все еще существуют серьезные трудности (учитывая высокий уровень смертности), что определяет настоятельную потребность в дополнительных, альтернативных или усовершенствованных путях лечения.

Таким образом, в настоящем изобретении предлагается использовать иммунную систему при лечении NSCLC. Иммунная система играет важную роль

при лечении и предупреждении многочисленных заболеваний. Согласно существующему уровню техники у млекопитающих имеются различные механизмы защиты организма, основанные на идентификации и уничтожении, например, опухолевых клеток. Эти опухолевые клетки необходимо распознавать и отличать от здоровых клеток и тканей организма.

Иммунная система позвоночных животных, таких как человек, состоит из многих типов белков, клеток, органов и тканей, которые участвуют в сложной и динамической системе. В качестве компонента такого более сложного иммунного ответа система позвоночных животных адаптировалась со временем к более эффективному распознаванию конкретных патогенов или опухолевых клеток. Процесс адаптации создает иммунологическую память и позволяет еще более эффективно обеспечивать защиту в процессе последующих «столкновений» с патогенами. Указанный процесс адаптивного (искусственного) или приобретенного иммунитета формирует основу стратегий вакцинации.

Адаптивная иммунная система является антигенспецифической и включает распознавание специфических «своих» или «чужих (не своих)» антигенов в процессе, который называется презентацией антигена. Антигенная специфичность позволяет вырабатывать ответы, направленные на специфические патогены или инфицированные патогеном клетки, или опухолевые клетки. Способность создавать такие приспособленные ответы, как правило, поддерживается в организме «клетками памяти». Если патоген инфицирует организм более одного раза, то указанные специфические клетки памяти используются для его быстрой элиминации. Таким образом, адаптивная иммунная система обеспечивает более сильный иммунный ответ, а также иммунологическую память, с помощью которой каждый патоген или опухолевая клетка «запоминаются» по одному или нескольким сигнатурным антигенам.

Основными компонентами адаптивной иммунной системы позвоночных являются, прежде всего, лимфоциты на клеточном уровне и антитела на молекулярном уровне. Лимфоциты в качестве клеточных компонентов адаптивной иммунной системы включают В-клетки и Т-клетки, происходящие из гематопозитических стволовых клеток в костном мозге. В-клетки участвуют в гуморальном ответе, а Т-клетки участвуют в опосредуемом клетками иммунном ответе. Как В-клетки, так и Т-клетки несут рецепторные молекулы, которые

распознают специфические мишени. Т-клетки распознают «чужую» мишень, такую как патогенная структура-мишень, только после процессирования и презентации антигенов (например, небольших фрагментов патогена) в комбинации со «своим» рецептором, который называют молекулой главного комплекса гистосовместимости (ГКГС). В противоположность этому, В-клеточный антигенспецифический рецептор представляет собой молекулу антитела на поверхности В-клетки и он распознает сами патогены, когда антитела на ее поверхности связываются со специфическим чужеродным антигеном. Указанный комплекс антиген/антитело поглощается В-клеткой и процессируется в результате протеолиза с образованием пептидов. Затем В-клетка презентует указанные антигенные пептиды на своей поверхности с молекулами ГКГС класса II. Указанная комбинация ГКГС и антигена привлекает соответствующую Т-клетку-хелпера, которая высвобождает лимфокины и активирует В-клетку. Поскольку затем активированная В-клетка начинает делиться, то ее потомство секретирует миллионы копий антител, которые распознают антиген. Указанные антитела циркулируют в плазме крови и лимфе, связываются с патогенами или опухолевыми клетками, которые экспрессируют антиген, и тем самым «маркируют» их для последующего разрушения в результате активации комплемента или поглощения и разрушения фагоцитами.

В качестве клеточного компонента адаптивной иммунной системы цитотоксические Т-клетки ($CD8^+$) могут формировать ЦТЛ-ответ. Цитотоксические Т-клетки ($CD8^+$) могут распознавать пептиды из эндогенных патогенов и аутоантигенов, связанные молекулами ГКГС типа I. $CD8^+$ -Т-клетки выполняют свою цитолитическую функцию посредством высвобождения цитотоксических белков в клетку.

Механизмы иммунной системы формируют мишени, пригодные для лечебных целей. Соответствующие методы, как правило, основываются на введении адъювантов для вызывания врожденного иммунного ответа или на введении антигенов или иммуногенов для вызывания адаптивного иммунного ответа. Поскольку основой антигенов, как правило, являются специфические компоненты патогенов (например, поверхностные белки) или их фрагменты, то предусматривается также введение нуклеиновых кислот пациенту, что сопровождается экспрессией требуемых полипептидов, белков или антигенов.

Известные к настоящему времени общепринятые методы вызывания иммунного ответа, иммунизации или вакцинации основываются на применении молекул ДНК для включения требуемой генетической информации в клетку. Разработаны различные методы интродукции ДНК в клетки, такие как

5 трансфекция с использованием фосфата кальция, трансфекция полипреном, слияние протопластов, электропорация, микроинъекция и липофекция, при этом доказано, что липофекция является наиболее приемлемым методом.

Аналогичным образом ДНК вирусов можно использовать также в качестве ДНК-носителя. Благодаря их инфекционным свойствам при использовании указанных

10 вирусов достигается очень высокая скорость трансфекции. Применяемые вирусы являются генетически модифицированными так, чтобы исключить образование функциональных инфекционных частиц в трансфектированной клетке. Однако, несмотря на указанные меры предосторожности, невозможно исключить риск неконтролируемого размножения интродуцированного гена и вирусных генов,

15 например, из-за потенциально возможных случаев рекомбинации. Это также влечет за собой риск того, что ДНК может встраиваться в интактный ген генома клетки-хозяина, например, путем рекомбинации, что приводит к тому, что этот ген может быть изменен в результате мутации и, как следствие, полностью или частично инактивирован, или может приводить к ошибочной информации.

20 Другими словами, синтез генного продукта, который является жизненно важным для клетки, может полностью подавляться или в другом варианте может иметь место экспрессия модифицированный или неправильный генный продукт. Особый риск представляет собой интеграция ДНК в ген, который участвует в регуляции клеточного роста. В этом случае клетка-хозяин может вырождаться и

25 приводить к образованию рака или опухоли. Кроме того, если ДНК, интродуцированная в клетку, должна экспрессироваться, то необходимо, чтобы соответствующий переносчик ДНК содержал сильный промотор, такой как промотор вируса CMV. Интеграция указанных промоторов в геном обработанной клетки может приводить к нежелательным изменениям регуляции

30 генной экспрессии в клетке. Другим риском при применении ДНК в качестве агента для индукции иммунного ответа (например, в виде вакцины) является индукция патогенных антител к ДНК у пациента, которому интродуцирована

чужеродная ДНК, что приводит к вызыванию (возможно фатального) иммунного ответа.

5 Таким образом, для эффективной стимуляции иммунной системы для лечения рака легких, позволяющей исключить проблемы, связанные с неконтролируемым размножением интродуцированного гена в результате применения композиций на основе ДНК, разработаны композиции на основе РНК. В WO 2009/046738 представлена композиция, содержащая по меньшей мере одну РНК, которая кодирует по меньшей мере один антиген, выбранный из группы, состоящей из NY-ESO-1, MAGE-C1 и MAGE-C2, и которая также
10 кодирует по меньшей мере один антиген, выбранный из группы, состоящей из hTERT, WT1, MAGE-A2, 5T4, MAGE-A3, MUC1, Her-2/neu, NY-ESO-1, CEA, сурвивина, MAGE-C1 и/или MAGE-C2. Даже хотя комбинация по меньшей мере двух антигенов в указанной композиции представляет собой важный шаг к активной иммунотерапии рака легких, практикующий врач при рассмотрении
15 варианта лечения для индивидуального пациента все еще сталкивается с проблемой выбора приемлемой комбинации антигенов, которая обладала бы и эффективностью и хорошей переносимостью.

Таким образом, в целом, имеется и возможность, и необходимость создания эффективной системы, которую можно применять для эффективной стимуляции
20 иммунной системы с целью лечения рака легких, прежде всего немелкоклеточного рака легких (NSCLC), в которой отсутствуют проблемы, возникающие при применении композиций, известных в данной области.

Таким образом, в основу настоящего изобретения положена задача разработать композицию, которая а) позволяет лечить рак легких путем
25 стимуляции иммунной системы и при этом б) лишена указанных выше недостатков.

Таким образом, в основу настоящего изобретения положена задача разработать вакцину против рака легких или композицию для лечения рака легких путем стимуляции иммунной системы.

30 Задача, положенная в основу настоящего изобретения решается с помощью представленного в формуле изобретения объекта изобретения.

Краткое изложение сущности изобретения

Указанная задача решается с помощью объекта настоящего изобретения, прежде всего с помощью композиции, которая содержит по меньшей мере одну мРНК, где по меньшей мере одна мРНК кодирует следующие антигены:

- 5
- 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG);
 - сурвивин (белок 5, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов; BIRC5),
 - NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1; STAG1B),

- 10
- MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1);
 - MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и
 - MUC1 (муцин 1),

или их фрагменты, и где по меньшей мере одна мРНК является моно-, би- или полицистронной.

- 15
- При создании изобретения неожиданно было установлено, что специфическая комбинация антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов из указанной выше группы, кодируемых по меньшей мере одной мРНК, входящей в композицию, предлагаемую в настоящем изобретении, обладает способностью эффективно стимулировать (адаптивную) иммунную
- 20
- систему, что позволяет лечить рак легких, предпочтительно подтипы немелкоклеточного рака легких, и связанные с ними заболевания или нарушения. Обладающие преимуществом воздействия на лечение указанных выше заболеваний и нарушений достигаются вне зависимости от того, применяют ли комбинацию антигенов, предлагаемых в изобретении, в качестве
- 25
- одной композиции, или путем отдельного введения индивидуальных антигенов. Таким образом, любая комбинация антигенов, указанных в настоящем описании, например, в форме шести различных препаратов мРНК, может быть предназначена для решения одинаковых задач и достигать требуемого действия. Ожидается, что количество респондеров на такую стратегию вакцинации должно
- 30
- быть существенно большим по сравнению с другими подходами. В контексте настоящего описания понятия антигены, антигенные белки или антигенные пептиды можно применять в качестве синонимов. В контексте настоящего изобретения под композицией, предлагаемой в изобретении, следует понимать

также композицию, которая обладает способностью вызывать иммунный ответ, предпочтительно адаптивный иммунный ответ, указанный в настоящем описании, благодаря по меньшей мере одному компоненту(ам), входящему(им) в композицию, или скорее благодаря по меньшей мере одному из антигенов, кодируемых по меньшей мере одним из компонентов композиции, т.е. благодаря по меньшей мере одной мРНК, кодирующей указанные выше антигены.

Согласно изобретению комбинация антигенов, либо введенных по отдельности (например, одновременно) или в виде одной композиции, обладает способностью вызывать требуемый иммунный ответ. Раздельное введение может означать, что различные мРНК либо вводят практически одновременно, например, в пределах 10 мин, или в различные моменты в течение более продолжительного периода времени, например, составляющего более 30 мин.

Ниже комбинация антигенов, предлагаемых в изобретении, будет проиллюстрирована путем описания композиции, которая содержит по меньшей мере одну мРНК, кодирующую комбинацию антигенов. Следует понимать, что по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, отличается представленными в настоящем описании особенностями вне зависимости от того, применяют ли ее в одной композиции или в форме различных препаратов, например, приготовленных в виде шести различных мРНК, каждая из которых кодирует один антиген, и которые применяют по отдельности (например, одновременно).

Среди большого количества антигенов, экспрессируемых в клетках рака легких, согласно настоящему изобретению отобраны шесть антигенов, которые представлены в настоящем описании, т.е. 5T4, сурвивин, NY-ESO-1, MAGE-C1, MAGE-C2 и MUC1. Указанные антигены идентифицированы в качестве потенциальных мишеней для иммунотерапии. Согласно изобретению один или несколько указанных выше антигенов кодируются по меньшей мере одной ОРС/кодирующей областью/кодирующей последовательностью, присутствующей по меньшей мере в одной мРНК. В данном контексте матричная мРНК, как правило, представляет собой одноцепочечную РНК, которая состоит (по меньшей мере) из нескольких структурных элементов, например, необязательной 5'UTR-области, расположенного против хода транскрипции сайта связывания рибосом, за которым располагается кодирующая

область, необязательной 3'UTR-области, за которой может находиться поли-А-хвост (и/или поли-С-хвост). Согласно изобретению композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует по меньшей мере шесть антигенов, указанных выше. При этом одна мРНК может кодировать один или несколько антигенов, если полученная композиция содержит по меньшей мере шесть указанных выше антигенов. Таким образом, по меньшей мере одна мРНК в композиции может содержать более одной ОРС/кодирующей области/кодирующей последовательности, если композиция в целом содержит по меньшей мере одну кодирующую область каждого из по меньшей мере шести антигенов, указанных выше. Альтернативно этому, кодирующая область для каждого из по меньшей мере шести антигенов может быть локализована на различных мРНК в композиции. Ниже представлены более предпочтительные варианты по меньшей мере одной мРНК:

Согласно настоящему изобретению по меньшей мере одна мРНК в композиции кодирует 5Т4. «5Т4» представляет собой трофобластический гликопротеин. Harrop, Connolly и др. в 2006 г. описали, что человеческий карциноэмбриональный антиген 5Т4 представляет собой имеющий молекулярную массу 72 кДа богатый лейцином мембранный гликопротеин, высокий уровень экспрессии которого обнаружен в плаценте, а также в широком разнообразии человеческих карцином, включая колоректальный рак, рак желудка, почки и яичника, но экспрессия которого редко наблюдается в здоровых тканях (см. Harrop R., N. Connolly и др., «Vaccination of colorectal cancer patients with modified Vaccinia Ankara delivering the tumor antigen 5Т4 (TroVax) induces immune responses which correlate with disease control: a phase I/II trial», Clin Cancer Res 12(11 Pt 1), 2006, сс. 3416-3424). Сверхэкспрессия 5Т4 ассоциирована с неблагоприятным прогнозом у пациентов с колоректальной карциномой, карциномой желудка и яичника. Несмотря на указанное сочетание факторов, 5Т4-специфический клеточный и/или гуморальный иммунные ответы индуцировались у большинства пациентов (16 из 17; 94%) после иммунизации TroVax, что рассматривается как обнадеживающий результат по сравнению со многими другими испытаниями противораковой иммунотерапии. В целом, обнаружена безопасность и иммуногенность TroVax при введении i.m.- и i.d.-путями. Zhao и Wang (2007) (Zhao Y. и Y. Wang, «5Т4 oncotrophoblast

glycoprotein: janus molecule in life and a novel potential target against tumors», Cell Mol Immunol 4(2), 2007, сс. 99-104) описали, что 5T4 канцеротрофобластический гликопротеин представляет собой трансмембранный белок, экспрессируемый в эмбриональной ткани и на поверхности клеток различных злокачественных

5 опухолей. Он играет жизненно важную роль в многочисленных биологических и патологических процессах, включая массивную клеточную миграцию в процессе эмбриогенеза, клеточную инвазию, ассоциированную с имплантацией, и неопластические метастазы при развитии онкогенеза. Согласно Kopreski, Benko и др. (2001) 5T4 представляет собой трофобластический гликопротеин, часто

10 сверхэкспрессирующийся при эпителиальных злокачественных новообразованиях, поэтому он представляет собой потенциальную мишень для противораковых терапевтических средств (см. Kopreski M. S., F. A. Benko и др., «Circulating RNA as a tumor marker: detection of 5T4 mRNA in breast and lung cancer patient serum», Ann N Y Acad Sci 945, 2001, сс. 172-178). Получали

15 образцы сыворотки у 19 пациентов с запущенным раком молочной железы (5 пациентов) или немелкоклеточным раком легких (14 пациентов) и 25 здоровых контрольных добровольцев с поддающимися амплификации уровнями РНК. РНК, экстрагированные из сыворотки, амплифицировали с помощью ОТ-ПЦР, используя полугнездовые двухстадийные реакции, продукты выявляли с

20 помощью гель-электрофореза. мРНК 5T4 воспроизводимо выявляли в сыворотке 8/19 (42%) пациентов, включая сыворотку 2/5 пациентов с раком молочной железы и сыворотку 6/14 пациентов с раком легких, но только в 3/25 (12%) образцов контрольной сыворотки здоровых людей ($p = 0,035$).

В контексте настоящего изобретения предпочтительная последовательность

25 по меньшей мере одной мРНК, кодирующей антиген 5T4, может содержать кодирующую последовательность, представленную на фиг. 3 (SEQ ID NO: 2), и более предпочтительно последовательность, представленную на фиг. 4 (SEQ ID NO: 3). Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК содержит или состоит из последовательности, представленной на фиг. 1 или 2 (SEQ ID NO: 1

30 или 19). Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции может альтернативно этому кодировать антиген 5T4, выбранный из фрагмента, варианта или эпитопа 5T4, где по меньшей мере одна мРНК содержит фрагмент или вариант

последовательности, представленной на любой из фиг. 1, 2, 3 или 4 (SEQ ID NO: 1, 2, 3 или 19).

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК предпочтительно содержит последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 28 (SEQ ID NO: 75), или ее фрагмент, вариант или эпитоп.

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК в композиции кодирует сурвивин. «Сурвивин» представляет собой белок, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов 5 (сурвивин). Сурвивин описан у Grube, Moritz и др. (2007) (см. Grube M., S. Moritz и др., «CD8+ T cells reactive to survivin antigen in patients with multiple myeloma», Clin Cancer Res 13(3), 2007, сс. 1053-1060). Сурвивин является представителем семейства ингибиторов апоптоза, и он сверхэкспрессируется в различных типах злокачественных новообразований. Цитотоксические Т-клетки, которые распознают эпитопы сурвивина, могут образовываться *in vitro* и с помощью вакцинации пациентов, страдающих лейкозом, раком молочной железы и меланомой. Исследовали наличие сурвивинспецифических CD8⁺-Т-клеток у пациентов с множественной миеломой, и Т-клетки, распознающие HLA-A2.1-связывающий пептид сурвивина, обнаружены у 9 из 23 пациентов и 1 из 21 здорового добровольца. Сурвивинреактивные Т-клетки идентифицированы как окончательно (полностью) дифференцированные эффекторные Т-клетки (CD8⁺, CD45RA⁺ и CCR7⁻). Позитивная реакция в отношении экспрессии сурвивина в клетках миеломы в образцах костного мозга обнаружена у 7 из 11 пациентов. Высокий уровень экспрессии сурвивина обнаружен в большинстве человеческих раковых клеток эпителиального и гематopoэтического происхождения, и его сверхэкспрессия ассоциирована с прогрессированием рака, неблагоприятным прогнозом, устойчивостью и коротким временем выживания пациента. Duffy, O'Donovan (2007) описали, что сурвивин представляет собой имеющий молекулярную массу 16,5 кДа белок, сверхэкспрессирующийся практически при всех злокачественных новообразованиях, но редко обнаруживаемый в здоровых дифференцированных тканях взрослых (см. Duffy M. J., N. O'Donovan и др., «Survivin: a promising tumor biomarker», Cancer Lett 249(1), 2007, сс. 49-60). Установлено, что функционально сурвивин ингибирует апоптоз, усиливает

клеточную пролиферацию и повышает ангиогенез. Описано, что в соответствии с его ролью в указанных процессах сурвивин имеет важное значение для прогрессирования рака. Из-за большого различия в экспрессии в здоровой и злокачественной ткани и его решающей ролью в прогрессировании рака сурвивин в настоящее время подвергается интенсивному исследованию в качестве потенциального маркера опухолей. Полученные данные позволили предположить, что измерение уровней сурвивина может способствовать ранней диагностике рака мочевого пузыря, определению прогноза при множестве типов рака и прогнозированию ответа на различные противораковые терапии. Zeis, Siegel и др. (2003) продемонстрировали, что человеческие сурвивинспецифические ЦТЛ (цитотоксические лимфоциты), образовавшиеся из РВМС путем стимуляции аутологичными дендритными клетками, трансфектированными РНК сурвивина, обладали цитотоксическим действием в отношении ряда гематопоэтических линий злокачественных клеток и клеток первичных опухолей, выделенных из пациентов с острым миелоидным лейкозом (см. Zeis M., S. Siegel и др., «Generation of cytotoxic responses in mice and human individuals against hematological malignancies using survivin -RNA-transfected dendritic cells», J Immunol 170(11), 2003, сс. 5391-5397). Продемонстрировано также, что вакцинация мышей трансфектированными кодирующей сурвивин РНК дендритными клетками приводила к пролонгированной устойчивости к контрольному заражению экспрессирующей сурвивин лимфомой, что демонстрирует потенциал сурвивин в качестве Аг, связанного с отторжением опухоли.

В контексте настоящего изобретения предпочтительная последовательность по меньшей мере одной мРНК, кодирующей сурвивин, может содержать кодирующую последовательность, представленную на фиг. 7 (SEQ ID NO: 5), и более предпочтительно последовательность, представленную на фиг. 8 (SEQ ID NO: 6). Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК содержит или состоит из последовательности, представленной на фиг. 5 или 6 (SEQ ID NO: 4 или 20). Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции может альтернативно этому кодировать антиген сурвивина, выбранный из фрагмента, варианта или эпитопа сурвивина, где по меньшей мере одна мРНК содержит фрагмент или

вариант последовательности, представленной на любой из фиг. 5, 6, 7 или 8 (SEQ ID NO: 4, 5, 6 или 20).

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК предпочтительно содержит последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 29 или 30 (SEQ ID NO: 76 или 77), или ее фрагмент, вариант или эпитоп.

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК в композиции кодирует NY-ESO-1. «NY-ESO-1» представляет собой раково-тестикулярный антиген 1B. Chen, Scanlan и др. (1997) описали определение с помощью ОТ-ПЦР экспрессии мРНК NY-ESO-1 в различных человеческих опухолях, установив ее встречаемость при меланоме в 23 случаях из 67 (23/67), при раке яичника 2/8, раке молочной железы 10/33, раке щитовидной железы 2/5, раке предстательной железы 4/16, раке мочевого пузыря 4/5, раке ободочной кишки 0/16, лимфоме Беркитта 1/2, глиоме 0/15, базальноклеточной карциноме 0/2, раке желудка 0/12, лейомиосаркоме 0/2, раке легких 2/12, других саркомах 0/2, раке почки 0/10, раке поджелудочной железы 0/2, лимфоме 0/10, семиноме 0/1, гепатоме 2/7, опухоли спинного мозга 0/1 (см. Chen Y. T., M. J. Scanlan и др., «A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening», Proc Natl Acad Sci U S A 94(5), 1997, сс. 1914-1918). Jager, Karbach и др. (2006) описали, что NY-ESO-1 представляет собой раково-тестикулярный антиген, экспрессируемый при широком спектре человеческих злокачественных новообразований, и описали разработку нескольких стратегий на основе вакцин, направленных против NY-ESO-1 (см. Jager E., J. Karbach и др., «Recombinant vaccinia/fowlpox NY-ESO-1 vaccines induce both humoral and cellular NY-ESO-1-specific immune responses in cancer patients», Proc Natl Acad Sci U S A 103(39), 2006, сс. 14453-14458). В указанном исследовании анализировали безопасность и иммуногенность рекомбинантного вируса коровьей оспы-NY-ESO-1 и рекомбинантного вируса куриной оспы-NY-ESO-1 на группах из 36 пациентов с целым рядом различных типов опухолей. Каждую конструкцию сначала тестировали индивидуально при двух различных уровнях доз и затем согласно «прайм-буст» протоколу с использованием рекомбинантного вируса коровьей оспы-NY-ESO-1, а затем рекомбинантного вируса куриной оспы-NY-ESO-1. Вакцины хорошо переносились как при индивидуальном, так и при совместном

применении. Специфические в отношении NY-ESO-1 гуморальные иммунные ответы/или специфические CD8- и CD4-Т-клеточные ответы против широкого спектра эпитопов NY-ESO-1 индуцировались в процессе по меньшей мере четырех вакцинаций с месячными интервалами у большей части пациентов.

5 Установлено, что клоны CD8-Т-клеток, полученные из пяти вакцинированных пациентов, лизировали экспрессирующие NY-ESO-1 клетки меланомы-мишени. У нескольких пациентов с меланомой обнаружено сильное проявление, при этом вакцинация оказывала благоприятное воздействие на естественное течение болезни. Davis, Chen и др. (2004) описали, что HLA-A2-ограниченные пептиды
10 NY-ESO-1, инъектированные внутривенно, обладали безопасностью и иммуногенностью (Davis I. D., W. Chen и др., «Recombinant NY-ESO-1 protein with ISCOMATRIX adjuvant induces broad integrated antibody and CD4(+) and CD8(+) T cell responses in humans», Proc Natl Acad Sci U S A 101(29), 2004, сс. 10697-10702). Хотя указанные опыты планировались только для определения
15 безопасности и иммуногенности, у некоторых пациентов был обнаружен регресс опухолей или стабилизация заболевания. Кроме того, у Jager, Gnjatic и др., (2000) описано, что широкий спектр NY-ESO-1-специфических иммунных ответов, включая ответы в виде образования антител и ответы CD4- и CD8-Т-клеток, обнаружены после иммунизации рекомбинантным белком NY-ESO-1 в
20 сочетании с адъювантом ISCOMATRIX (фирма CSL Ltd., Парквилль, шт. Виктория, Австралия) у пациентов с резецированной экспрессирующей NY-ESO-1 меланомой (см. Jager E., S. Gnjatic и др., «Induction of primary NY-ESO-1 immunity: CD8+ T lymphocyte and antibody responses in peptide-vaccinated patients with NY-ESO-1+ cancers», Proc Natl Acad Sci U S A 97(22), 2000, сс. 12198-
25 12203). Пролонгированный период выживания без болезни, по-видимому, ассоциирован с указанным иммунным ответом на вакцину. Кроме того, Odunsi, Qian и др. (2007) описали, что вакцинация NY-ESO-1-пептидом индуцировала интегрированный гуморальный и Т-клеточный ответы при раке яичника (см. Odunsi K., F. Qian и др., «Vaccination with an NY-ESO-1 peptide of HLA class I/II
30 specificities induces integrated humoral and T cell responses in ovarian cancer», Proc Natl Acad Sci U S A 104(31), 2007, сс. 12837-12842).

В контексте настоящего изобретения предпочтительная последовательность по меньшей мере одной мРНК, кодирующей антиген NY-ESO-1, может

содержать кодирующую последовательность, представленную на фиг. 11 (SEQ ID NO: 8), и – более предпочтительно – представленную на фиг. 12 (SEQ ID NO: 9). Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК содержит или состоит из последовательности, представленной на фиг. 9 или 10 (SEQ ID NO: 7 или 21). Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции может альтернативно этому кодировать антиген NY-ESO-1, выбранный из фрагмента, варианта или эпитопа NY-ESO-1, где по меньшей мере одна мРНК содержит фрагмент или вариант последовательности, представленной на любой из фиг. 9, 10, 11 или 12 (SEQ ID NO: 7, 8, 9 или 21).

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК предпочтительно содержит последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 31 (SEQ ID NO: 78), или ее фрагмент, вариант или эпитоп.

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК в композиции кодирует MAGE-C1. «MAGE-C1» представляет собой меланомный антиген семейства C, 1. Lucas, De Smet и др. (1998) впервые идентифицировали MAGE-C1 с помощью метода репрезентативного дифференциального анализа (RDA) (см. Lucas S., C. De Smet и др., «Identification of a new MAGE gene with tumor-specific expression by representational difference analysis», *Cancer Res* 58(4), 1998, сс. 743-752). MAGE-C1 не экспрессировался в панели протестированных здоровых тканей за исключением яичек. Из опухолевых образцов MAGE-C1 часто экспрессировался в семиномах, меланомах и карциномах мочевого пузыря. Он экспрессировался также в значительной фракции карцином головы и шеи, карцином молочной железы, немелкоклеточных карцином легких, аденокарцином предстательной железы и сарком. Jungbluth, Chen и др. (2002) описали его экспрессию при раке молочной железы, раке яичника, раке печени, раке яичек, раке мочевого пузыря, меланоме и немелкоклеточном раке легких (39%) (см., Jungbluth A. A., Y. T. Chen и др., «CT7 (MAGE-C1) antigen expression in normal and neoplastic tissues», *Int J Cancer* 99(6), 2002, сс. 839-845). Gure, Chua и др. (2005) проанализировали опухоли у 523 пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легких (NSCLC), в отношении экспрессии раково-тестикулярных антигенов (см. Gure A. O., R. Chua и др., «Cancer-testis genes are coordinately expressed and are markers of

poor outcome in non-small cell lung cancer», Clin Cancer Res 11(22), 2005, сс. 8055-8062). MAGE-C1 обнаружен у 18,8%. Scanlan, Altorki и др., в 2000 г. описали также экспрессию раково-тестикулярных (CT) антигенов в 33 образцах немелкоклеточного рака легких: MAGE-C1: 30% (см. Scanlan M. J., N. K. Altorki и др., «Expression of cancer-testis antigens in lung cancer: definition of bromodomain testis-specific gene (BRDT) as a new CT gene, CT9», Cancer Lett 150(2), 2000, сс. 155-164).

В контексте настоящего изобретения предпочтительная последовательность по меньшей мере одной мРНК, кодирующей антиген MAGE-C1, может содержать кодирующую последовательность, представленную на фиг. 15 (SEQ ID NO: 11), более предпочтительно последовательность, представленную на фиг. 16 (SEQ ID NO: 12), и наиболее предпочтительно последовательность, представленную на фиг. 17 (SEQ ID NO: 25). Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК содержит или состоит из последовательности, представленной на фиг. 13 или 14 (SEQ ID NO: 10 или 22). Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции может альтернативно этому кодировать антиген MAGE-C1, выбранный из фрагмента, варианта или эпитопа MAGE-C1, где по меньшей мере одна мРНК содержит фрагмент или вариант последовательности, представленной на любой из фиг. 13, 14, 15, 16 или 17 (SEQ ID NO: 10, 11, 12, 22 или 25).

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК предпочтительно содержит последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 32 (SEQ ID NO: 79), или ее фрагмент, вариант или эпитоп.

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК в композиции кодирует MAGE-C2. «MAGE-C2» представляет собой меланомный антиген семейства C2. Lucas, De Plaen и др. (2000) впервые идентифицировали MAGE-C2 путем осуществления RDA (см. Lucas, S., E. De Plaen и др., «MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-C2, and MAGE-C3: four new members of the MAGE family with tumor-specific expression», Int J Cancer 87(1), 2000, сс. 55-60). MAGE-C2 не экспрессировался в панели протестированных здоровых тканей за исключением яичек. Из опухолевых образцов MAGE-C2 часто экспрессировался в семиномах,

меланомах и карциномах мочевого пузыря. Он экспрессировался также в значительной фракции карцином головы и шеи, карцином молочной железы, немелкоклеточных карцином легких, аденокарцином предстательной железы и сарком. Scanlan, Altorki и др. (2000) описали экспрессию CT-антигенов в 33 образцах немелкоклеточного рака легких: MAGE-C2: 30% (см. Scanlan M. J., N. K. Altorki и др., «Expression of cancer-testis antigens in lung cancer: definition of bromodomain testis-specific gene (BRDT) as a new CT gene, CT9», *Cancer Lett* 150(2), 2000, сс. 155-164).

В контексте настоящего изобретения предпочтительная последовательность по меньшей мере одной мРНК, кодирующей антиген MAGE-C2, может содержать кодирующую последовательность, представленную на фиг. 20 (SEQ ID NO: 14), и более предпочтительно последовательность, представленную на фиг. 21 (SEQ ID NO: 15). Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК содержит или состоит из последовательности, представленной на фиг. 18 или 19 (SEQ ID NO: 13 или 23). Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции может альтернативно этому кодировать антиген MAGE-C2, выбранный из фрагмента, варианта или эпитопа MAGE-C2, где по меньшей мере одна мРНК содержит фрагмент или вариант последовательности, представленной на любой из фиг. 18, 19, 20 или 21 (SEQ ID NO: 13, 14, 15 или 23).

Кроме того, по меньшей мере одна мРНК предпочтительно содержит последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33 (SEQ ID NO: 80), или ее фрагмент, вариант или эпитоп.

И, наконец, по меньшей мере одна мРНК в композиции кодирует также MUC1. «MUC1» обозначает муцин 1. Считается, что ассоциированные с раком муцины ускоряют образование метастазов, облегчая прикрепление злокачественных клеток к поверхности эндотелиальных клеток. Согласно Denda-Nagai и Irimura (2000) (Denda-Nagai K. и T. Irimura, «MUC1 in carcinoma-host interactions», *Glycoconj J* 17(7-9), 2000, сс. 649-658) MUC-1 сверхэкспрессируется в 90% всех аденокарцином, включая аденокарциномы молочной железы, легких, поджелудочной железы, предстательной железы, желудка, ободочной кишки и яичника. Kontani, Taguchi с соавторами (2001)

описали, что MUC-1 экспрессируется в 60% образцов рака легких (см. Kontani К., О. Taguchi и др., «Modulation of MUC1 mucin as an escape mechanism of breast cancer cells from autologous cytotoxic T-lymphocytes», Br J Cancer 84(9), 2001, сс. 1258-1264), в то время как Kontani, Taguchi и др. (2003) установили в опыте, в
5 котором анализировали применение активированных антигенами MUC1 ДК (дендритных клеток), для образования клеточного иммунитета при MUC1-
позитивных типах рака, что в клинических условиях семь из девяти MUC1-
позитивных пациентов реагировали на лечение либо снижением уровней
опухолевого маркера, либо исчезновением злокачественной плевральной
10 эффузии (см. Kontani К., О. Taguchi и др., «Dendritic cell vaccine immunotherapy of cancer targeting MUC1 mucin», Int J Mol Med 12(4), 2003, сс. 493-502). Три из
указанных реагирующих на лечение пациентов имели NSCLC. Palmer, Parker и
др. (2001) описали данные о безопасности и переносимости, полученные на фазе
I клинического испытания с использованием пептида MUC1 на стадии III/IV
15 NSCLC (см. Palmer M., J. Parker и др., «Phase I study of the BLP25 (MUC1
peptide) liposomal vaccine for active specific immunotherapy in stage IIIB/IV non-
small-cell lung cancer», Clin Lung Cancer 3(1), 2001, сс. 49-57; обсуждение 58).
Пять из 12 пациентов (42%) давали иммунологические ответы, а у 4 из 12
пациентов (33%) достигалась стабилизация заболевания. Wierecky, Mueller и др.
20 (2006) дополнительно идентифицировали два связывающих HLA-A2 новых 9-
мерных пептида ТАА MUC1, которые экспрессировались при различных
гематологических и эпителиальных злокачественных новообразованиях (см.
Wierecky J., M. Mueller и др., «Dendritic cell-based cancer immunotherapy targeting
MUC-1», Cancer Immunol Immunother 55(1), 2006, сс. 63-67). Цитотоксические Т-
25 клетки образовавшиеся после активации ДК указанными пептидами, обладали
способностью индуцировать лизис опухолевых клеток, экспрессирующих MUC1
в антигенспецифическом и HLA-ограниченном виде. В двух клинических
испытаниях продемонстрировано, что вакцинация пациентов с запущенным
раком с использованием ДК, активированных полученными из MUC1
30 пептидами, хорошо переносилась без признаков серьезных побочных действий и
могла индуцировать иммунологические ответы. Из 20 пациентов с
метастатической почечноклеточной карциномой у 6 пациентов обнаружен

регресс метастазов, что описывалось 3 объективными ответами (1 CR (полный ответ), 2 PR (частичный ответ)).

В контексте настоящего изобретения предпочтительная последовательность по меньшей мере одной мРНК, кодирующей антиген MUC1, может содержать
5 кодирующую последовательность, представленную на фиг. 24 или 36 (SEQ ID NO: 17 или 83), и более предпочтительно последовательность, представленную на фиг. 25 (SEQ ID NO: 18). Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК содержит или состоит из последовательности, представленной на фиг. 22
10 или 23 (SEQ ID NO: 16 или 24). Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции может альтернативно этому кодировать антиген MUC1, выбранный из фрагмента, варианта или эпитопа MUC1, где по меньшей мере одна мРНК содержит фрагмент или вариант последовательности, представленной на любой из фиг. 22,
24, 25, 23 или 36 (SEQ ID NO: 16, 17, 18, 24 или 83).

15 Кроме того, по меньшей мере одна мРНК предпочтительно содержит последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 34 или 35 (SEQ ID NO: 81 или 82), или ее фрагмент, вариант или эпитоп.

Когда в контексте настоящего изобретения ссылка делается на антигены
20 или их фрагменты, эпитопы или варианты, то следует понимать, что ссылка касается антигена или пептида, кодируемого одной или несколькими из последовательностей мРНК, представленных в настоящем изобретении. Кроме того, антигены, антигенные белки или антигенные пептиды, указанные выше, которые кодируются по меньшей мере одной мРНК, входящей в композицию,
25 предлагаемую в настоящем изобретении, могут содержать фрагменты или варианты указанных последовательностей. Такие фрагменты или варианты могут, как правило, содержать область последовательности, имеющую гомологию с последовательностью или с последовательностями одного из указанных выше антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов или с
30 последовательностями кодирующих их нуклеиновых кислот, составляющую по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, предпочтительно по меньшей мере 70%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере 85%, еще более предпочтительно по меньшей мере

мере 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% или даже 97%, относительно полной последовательности дикого типа, либо на уровне нуклеиновых кислот, либо на уровне аминокислот.

В контексте настоящего изобретения «фрагменты» антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, могут содержать последовательность антигена, антигенного белка или антигенного пептида, как она определена в настоящем описании, которая касательно ее аминокислотной последовательности (или кодирующей ее молекулы нуклеиновой кислоты), укорочена на N-конце, С-конце и/или внутри последовательности по сравнению с аминокислотной последовательностью исходного (нативного) белка (или кодирующей его молекулой нуклеиновой кислоты). Таким образом, указанное укорочение может иметь место либо на аминокислотном уровне, либо соответственно на уровне нуклеиновой кислоты. Следовательно, гомология последовательности применительно к такому фрагменту, как он определен в настоящем описании, предпочтительно может относиться к полному антигену, антигенному белку или антигенному пептиду, как они определены в настоящем описании, или к полной (кодирующей) молекуле нуклеиновой кислоты, указанного антигена, антигенного белка или антигенного пептида.

В контексте настоящего изобретения фрагменты антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов могут содержать также последовательность антигена, антигенного белка или антигенного пептида, указанного выше, которая содержит от примерно 6 до примерно 20 или даже большее количество аминокислот, например, фрагменты, процессированные и презентуемые молекулами ГКГС класса I, предпочтительно имеют длину от примерно 8 до примерно 10 аминокислот, например, 8, 9 или 10 (или даже 6, 7, 11 или 12 аминокислот), или фрагменты, процессированные и презентуемые молекулами ГКГС класса II, предпочтительно состоят примерно из 13 или большего количества аминокислот, например, из 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или даже большего количества аминокислот, при этом указанные фрагменты можно выбирать из любой области аминокислотной последовательности. Указанные фрагменты, как правило, распознаются Т-клетками в форме комплекса, состоящего из пептидного фрагмента и молекул ГКГС, т.е. фрагменты, как правило, не распознаются в их нативной форме.

Фрагменты антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанные в настоящем описании, могут содержать также эпитопы указанных антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов. Эпитопы (которые называют также «антигенными детерминантами») в контексте настоящего изобретения, как правило, обозначают фрагменты, локализованные на наружной поверхности (нативных) антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных в настоящем описании, которые состоят предпочтительно из 5-15 аминокислот, более предпочтительно из 5-12 аминокислот, еще более предпочтительно из 6-9 аминокислот, и которые могут распознаваться антителами или В-клеточными рецепторами, т.е. они могут распознаваться в их нативной форме. Указанные эпитопы антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов можно выбирать также из любых указанных в настоящем описании вариантов таких антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов. В этом контексте антигенные детерминанты могут представлять собой конформационные или прерывистые эпитопы, состоящие из сегментов антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных в настоящем описании, которые представляют собой прерывистую аминокислотную последовательность антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных в настоящем описании, но собранную вместе в виде трехмерной структуры, или могут представлять собой непрерывные или линейные эпитопы, которые состоят из одной полипептидной цепи.

«Варианты» антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных выше, могут кодироваться по меньшей мере одной мРНК, которая входит в композицию, предлагаемую в настоящем изобретении, где нуклеиновые кислоты по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует антиген, антигенный белок или антигенный пептид, указанный выше, изменены. Так, можно создавать антиген, антигенный белок или антигенный пептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая отличается от исходной последовательности одной мутацией или несколькими мутациями, например, одной или несколькими замененной(ыми), встроенной(ыми) и/или удаленной(ыми) путем делеции аминокислотой(ами). Предпочтительно эти фрагменты и/или варианты имеют такую же биологическую функцию или специфическую активность, что и

полноразмерный нативный антиген, антигенный белок или антигенный пептид, например, присущие ему антигенные свойства.

По меньшей мере, одна мРНК в композиции, предлагаемой в изобретении, может кодировать также антиген или антигенный белок, указанный выше, в
5 котором кодируемая аминокислотная последовательность содержит консервативную(ые) аминокислотную(ые) замену(ы) относительно ее встречающейся в физиологических условиях последовательности. Эти аминокислотные последовательности, а также кодирующие их нуклеотидные последовательности подпадают под понятие вариантов, указанных в настоящем
10 описании. Замены, при осуществлении которых аминокислоты, относящиеся к одному и тому же классу, заменяют друг на друга, называют консервативными заменами. В частности, они представляют собой аминокислоты, которые имеют алифатические боковые цепи, положительно или отрицательно заряженные боковые цепи, ароматические группы в боковых цепях или аминокислоты,
15 боковые цепи которых могут входить в водородные мостики, например, боковые цепи которых имеют гидроксильную функцию. Это означает, что, например, аминокислоту, имеющую полярную боковую цепь, заменяют на другую аминокислоту, имеющую аналогичную полярную боковую цепь, или, например, аминокислоту, характеризующуюся гидрофобной боковой цепью, заменяют на
20 другую аминокислоту, которая имеет аналогичную гидрофобную боковую цепь (например) серин (треонин) на треонин (серин) или лейцин (изолейцин) на изолейцин (лейцин)). Возможны инсерции или замены, в частности, в тех положениях в последовательности, которые не приводят к модификации трехмерной структуры или не влияют на связывающую область. Модификации
25 трехмерной структуры, полученные путем инсерции(ий) или делеции(ий), можно легко определять с помощью, например CD-спектров (спектры циркулярного дихроизма) (Urry, Absorption, Circular Dichroism and ORD of Polypeptides, в: Modern Physical Methods in Biochemistry, под ред. Neuberger и др., изд-во Elsevier, Amsterdam).

30 Кроме того, варианты антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных выше, которые могут кодироваться по меньшей мере одной мРНК, которая входит в композицию, предлагаемую в настоящей изобретении, могут включать также такие последовательности, в которых нуклеиновые

кислоты по меньшей мере одной мРНК изменены в результате вырожденности генетического кода, что не приводят к изменению соответствующей аминокислотной последовательности антигена, антигенного белка или антигенного пептида, т.е. аминокислотная последовательность или по меньшей мере ее часть может не отличаться одной или несколькими мутациями от исходной последовательности, как она определена выше.

Кроме того, варианты антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных выше, которые могут кодироваться по меньшей мере одной мРНК, которая входит в композицию, предлагаемую в настоящей изобретении, могут содержать также такие ДНК-последовательности, которые соответствуют РНК-последовательностям, указанным в настоящем описании, и содержат также РНК-последовательности, которые соответствуют ДНК-последовательностям, указанным в настоящем описании. Специалисту в данной области известно, как осуществлять трансляцию РНК-последовательности в ДНК-последовательность (или наоборот) или создавать последовательность комплементарной цепи (т.е. путем замены U-остатков на T-остатки и/или путем конструирования цепи, комплементарной относительно данной последовательности).

Для определения процента идентичности двух последовательностей, (нуклеотидных последовательностей, например, последовательностей РНК или мРНК, указанных в настоящем описании, или аминокислотных последовательностей, предпочтительно кодируемых ими аминокислотных последовательностей, например, аминокислотных последовательностей антигенов, антигенных белков или антигенных пептидов, указанных выше) последовательности можно выравнивать для последующего сравнения друг с другом. Для этого, например, можно встраивать бреши в последовательность первой последовательности и компонент в соответствующем положении второй последовательности можно сравнивать. Если положение в первой последовательности занято тем же компонентом, который находится в этом положении во второй последовательности, то две последовательности являются идентичными в этом положении. Процент идентичности двух последовательностей является функцией количества идентичных положений, деленной на общее количество положений. Процент идентичности двух последовательностей можно определять с помощью математического алгоритма.

Предпочтительным примером математического алгоритма, который можно применять, является (но, не ограничиваясь только им) алгоритм, предложенный Karlin и др., PNAS USA, 90, 1993, сс. 5873-5877 или Altschul и др., Nucleic Acids Res., 25, 1997, сс. 3389-3402. Указанный алгоритм входит в программу BLAST. С помощью этой программы можно идентифицировать последовательности, обладающие конкретной степенью идентичности с последовательностями, предлагаемыми в настоящем изобретении.

В контексте настоящего описания понятие «композиция» относится по меньшей мере к одной мРНК и необязательно дополнительным эксципиентам.

10 Таким образом, понятие «композиция» включает любую смесь мРНК (виды мРНК), кодирующих указанные выше антигены, вне зависимости от того, являются ли мРНК моно-, би- или полицистронными. Согласно настоящему изобретению понятие «композиция» относится также к варианту осуществления изобретения, включающему полицистронную мРНК, которая кодирует все шесть

15 антигенов, указанных выше. Предпочтительно композиция содержит по меньшей мере шесть различных видов мРНК, где каждый вид мРНК кодирует один из указанных выше антигенов. Понятие «композиция» предпочтительно относится по меньшей мере к одной мРНК в сочетании по меньшей мере с одной другой пригодной субстанцией. Как правило, композиция может представлять собой

20 фармацевтическую композицию, созданную для применения в области медицины. Таким образом, композиция, как правило, содержит по меньшей мере один дополнительный эксципиент, который является фармацевтически приемлемым и который можно выбирать, например, из носителей, наполнителей и т.п. «Композиция» может представлять собой жидкую или сухую композицию.

25 Если композиция является жидкой, то она предпочтительно представляет собой водный раствор или дисперсию по меньшей мере одной мРНК. Если «композиция» представляет собой сухую композицию, то она, как правило, представляет собой лиофилизированную композицию по меньшей мере одной мРНК. Понятие «композиция» в контексте настоящего описания относится

30 также по меньшей мере к одной мРНК, предлагаемой в изобретении, в комбинации с дополнительным действующим веществом. Предпочтительно композиция представляет собой иммуностимулирующую композицию, т.е. композицию, содержащую по меньшей мере один компонент, который может

индуцировать иммунный ответ или из которого может образовываться компонент, который может индуцировать иммунный ответ. В этом контексте иммунный ответ может являться результатом активности адаптивной и/или врожденной иммунной системы.

5 Композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, содержит по меньшей мере одну мРНК, кодирующую по меньшей мере шесть антигенов, указанных выше, поскольку установлено, что конкретная комбинация указанных антигенов обладает способностью эффективно стимулировать (адаптивную) иммунную систему, что позволяет лечить рак легких, предпочтительно немелкоклеточный
10 рак легких (NSCLC).

В целом, задача, положенная в основу изобретения, решается созданием композиции, содержащей по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует новую комбинацию указанных в настоящем описании антигенов.

15 В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть антигенов (5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивин (белок 5, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов; BIRC5), NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1)), которые
20 кодируются шестью моноцистронными мРНК, каждая из указанных мРНК кодирует отдельный антиген, выбранный из указанной группы антигенов. Альтернативно этому, композиция может содержать комбинацию моноцистронных, би- и/или полицистронных мРНК, при этом более одного из шести антигенов кодируется би- и/или полицистронной мРНК. Согласно
25 изобретению рассматривается любая комбинация моно-, би- или полицистронных мРНК, которая кодирует все шесть антигенов, указанных в настоящем описании, например, три бицистронных мРНК, каждая из которых кодирует два из указанных выше шести антигенов, или две бицистронных и две моноцистронных мРНК.

30 Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, которая содержит по меньшей мере одну кодирующую последовательность, выбранную из последовательностей РНК, которые идентичны или по меньшей мере на 80%

идентичны последовательности РНК, представленной в SEQ ID NO: 2, 5, 8, 11, 14 или 17. Еще более предпочтительно композиция содержит шесть мРНК, где кодирующая последовательность каждой мРНК идентична или по меньшей мере на 80% идентична одной из последовательностей РНК, представленных в SEQ ID NO: 2, 5, 8, 11, 14 и 17.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения каждый из по меньшей мере шести антигенов композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может кодироваться одной (моноцистронной) мРНК. Другими словами, композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, может содержать шесть (моноцистронных) мРНК, где каждая из указанных шести (моноцистронных) мРНК может кодировать только один указанный выше антиген.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, где одна мРНК кодирует 5T4 (соответствует SEQ ID NO: 75), одна мРНК кодирует сурвивин (соответствует SEQ ID NO: 76 или 77), одна мРНК кодирует NY-ESO-1 (соответствует SEQ ID NO: 78), одна мРНК кодирует MAGE-C1 (соответствует SEQ ID NO: 79), одна мРНК кодирует MAGE-C2 (соответствует SEQ ID NO: 80) и одна мРНК кодирует MUC1 (соответствует SEQ ID NO: 81 или 82) или их фрагменты или варианты соответственно.

В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, где одна мРНК кодирует 5T4 и содержит кодирующую последовательность, идентичную или по меньшей мере на 80% идентичную SEQ ID NO: 2, одна мРНК кодирует сурвивин и содержит кодирующую последовательность, идентичную или по меньшей мере на 80% идентичную SEQ ID NO: 5, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и содержит кодирующую последовательность, идентичную или по меньшей мере на 80% идентичную SEQ ID NO: 8, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и содержит кодирующую последовательность, идентичную или по меньшей мере на 80% идентичную SEQ ID NO: 11, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и содержит кодирующую последовательность, идентичную или по меньшей мере на 80% идентичную SEQ ID NO: 14, и одна мРНК кодирует MUC1 и содержит кодирующую последовательность, идентичную или по меньшей мере на 80%

идентичную SEQ ID NO:17 (или фрагменты или варианты каждой из указанных последовательностей), и необязательно дополнительно содержит эксципиенты.

В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, где одна мРНК кодирует 5T4 и содержит кодирующую последовательность SEQ ID NO: 2, одна мРНК кодирует сурвивин и содержит кодирующую последовательность SEQ ID NO: 5, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и содержит кодирующую последовательность SEQ ID NO: 8, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и содержит кодирующую последовательность SEQ ID NO: 11, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и содержит кодирующую последовательность SEQ ID NO: 14 и одна мРНК кодирует MUC1 и содержит кодирующую последовательность SEQ ID NO:17 или их фрагменты соответственно.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции содержит гистоновую структуру типа «стебель-петля» в 3'UTR-области. Предпочтительно композиция содержит шесть мРНК, где каждая мРНК содержит гистоновую структуру типа «стебель-петля», указанную выше.

Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, может содержать (по меньшей мере) одну би- или даже полицистронную мРНК, т.е. (по меньшей мере) одну мРНК, которая несет кодирующие последовательности двух или большего количества антигенов, предлагаемых в изобретении. Указанные кодирующие последовательности двух или большего количества антигенов (по меньшей мере) одной би- или даже полицистронной мРНК, могут разделяться по меньшей мере одной последовательностью IRES (участок внутренней посадки (связывания) рибосомы), указанной ниже. Таким образом, понятие «кодирует два или большее количество антигенов» может означать (но, не ограничиваясь только ими), что (по меньшей мере) одна (би- или даже полицистронная) мРНК может кодировать, например, по меньшей мере два, три, четыре, пять или шесть (предпочтительно различных) антигенов из упомянутых выше антигенов или их фрагментов или вариантов, которые подпадают под указанные выше определения. Более предпочтительно (но, не ограничиваясь только ими) (по меньшей мере) одна (би- или даже полицистронная) мРНК может кодировать,

например, по меньшей мере два, три, четыре, пять или шесть (предпочтительно различных) антигенов из упомянутых выше антигенов или их фрагментов или вариантов, которые подпадают под указанные выше определения. В этом контексте так называемая последовательность IRES (участок внутренней

5 посадки (связывании) рибосомы), указанная выше, может функционировать в качестве единственного сайта связывания рибосом, но она может служить также для получения би- или даже полицистронных РНК, указанных выше, кодирующих несколько белков, которые должны транслироваться рибосомами независимо друг от друга. Примерами последовательностей IRES, которые

10 можно применять согласно изобретению, являются соответствующие последовательности из пикорнавирусов (например, FMDV), пестивирусов (CFFV), полиовирусов (PV), вирусов энцефаломиокардита (ECMV), вирусов ящура (FMDV), вирусов гепатита С (HCV), вирусов классической лихорадки свиней (CSFV), вируса мышинного лейкоза (MLV), вирусов обезьяньего

15 иммунодефицита (SIV) или вирусов паралича сверчка (CrPV).

Согласно следующему наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, может содержать смесь из по меньшей мере одной

20 моноцистронной мРНК, указанной выше, и по меньшей мере одной би- или даже полицистронной мРНК, указанной выше. По меньшей мере, одна моноцистронная мРНК и/или по меньшей мере одна би- или даже полицистронная мРНК предпочтительно кодирует различные антигены или их фрагменты или варианты, которые подпадают под указанные выше определения. Однако по меньшей мере одна моноцистронная мРНК и по меньшей мере одна

25 би- или даже полицистронная мРНК может предпочтительно кодировать также (частично) идентичные антигены, выбранные из упомянутых выше антигенов, при условии, что композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, в целом, содержит шесть указанных выше антигенов. Путем получения нескольких копий одного или нескольких антигенов можно повышать относительные количества

30 белков указанного(ых) одного или нескольких антигенов, т.е. отношение между количествами каждого из шести антигенов можно варьировать. Указанный вариант может обладать дополнительными преимуществами, например, для поочередного введения, например, зависящего от времени введения композиции,

предлагаемой в настоящем изобретении, пациенту, который нуждается в этом. Компоненты указанной композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, прежде всего различные мРНК, кодирующие по меньшей мере шесть антигенов, могут, например, находиться (в его различных частях) в наборе, который
5 содержит части композиции, или их можно, например, вводить по отдельности в виде компонентов различных композиций, предлагаемых в настоящем изобретении.

Предпочтительно по меньшей мере одна мРНК в композиции, кодирующая по меньшей мере один из шести антигенов, как правило, содержит от примерно
10 50 до примерно 20000 или от 100 до примерно 20000 нуклеотидов, предпочтительно от примерно 250 до примерно 20000 нуклеотидов, более предпочтительно от примерно 500 до примерно 10000, еще более предпочтительно от примерно 500 до примерно 5000.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции, которая кодирует по меньшей мере один из
15 шести антигенов, может находиться в форме модифицированной мРНК, где любую модификацию, указанную в настоящем описании, можно интродуцировать по меньшей мере в одну мРНК в композиции. Указанные в настоящем описании модификации предпочтительно приводят к стабилизации
20 по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении.

Так, согласно одному из вариантов осуществления изобретения по меньшей мере одну мРНК, которая входит в композицию, предлагаемую в настоящем изобретении, можно получать в виде «стабилизированной мРНК», т.е. в виде
25 мРНК, которая является относительно устойчивой к расщеплению *in vivo* (например, экзо- или эндонуклеазой). Указанную стабилизацию можно осуществлять, например, путем модификации фосфатного каркаса по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении. Модификация каркаса в контексте настоящего изобретения представляет собой
30 модификацию, при которой фосфаты каркаса нуклеотидов, входящих в мРНК, модифицируют химически. Нуклеотиды, которые можно предпочтительно применять в этой связи, содержат, например, модифицированный фосфотиоатом фосфатный каркас, при этом предпочтительно по меньшей мере

один из атомов кислорода фосфата, входящий в фосфатный каркас, заменяют на атом серы. Стабилизированные мРНК могут дополнительно включать, например: неионные фосфатные аналоги, такие, например, как алкил- и арилфосфонаты, в которых заряженный кислород фосфоната заменен на алкильную или арильную группу, или сложные фосфодиэфиры и акилфосфотриэфиры, в которых заряженный кислородный остаток присутствует в алкилированной форме. Указанные модификации каркаса, как правило, включают (но, не ограничиваясь только ими) модификации, выбранные из группы, состоящей из метилфосфонатов, фосфорамидатов и фосфоротиоатов (например, цитидин-5'-О-(1-тиофосфат)).

По меньшей мере, одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может дополнительно или альтернативно вышесказанному содержать также модификации сахара. Модификация сахара в контексте настоящего изобретения представляет собой химическую модификацию сахара нуклеотидов по меньшей мере одной мРНК и, как правило, включает (но, не ограничиваясь только ими) модификации сахара, выбранные из группы, включающей 2'-дезоксидеокси-2'-фторолигорибонуклеотид (2'-фтор-2'-дезоксидеоксицитидин-5'-трифосфат, 2'-фтор-2'-дезоксидеоксиуридин-5'-трифосфат), 2'-дезоксидеокси-2'-деаминолигорибонуклеотид (2'-амино-2'-дезоксидеоксицитидин-5'-трифосфат, 2'-амино-2'-дезоксидеоксиуридин-5'-трифосфат), 2'-О-алкилолигорибонуклеотид, 2'-дезоксидеокси-2'-С-алкилолигорибонуклеотид (2'-О-метилцитидин-5'-трифосфат, 2'-метилуридин-5'-трифосфат), 2'-С-алкилолигорибонуклеотид и их изомеры (2'-арацитидин-5'-трифосфат, 2'-арауридин-5'-трифосфат), или азидотрифосфат (2'-азидо-2'-дезоксидеоксицитидин-5'-трифосфат, 2'-азидо-2'-дезоксидеоксиуридин-5'-трифосфат).

По меньшей мере, одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может дополнительно или альтернативно вышесказанному содержать также по меньшей мере одну модификацию основания, которая предпочтительно может повышать уровень экспрессии кодируемого белка по сравнению с неизменной, т.е. встречающейся в естественных условиях (нативной) последовательностью мРНК. В этом случае существенным является повышение уровня экспрессии белка по сравнению с его экспрессией нативной последовательностью мРНК по меньшей мере на 20%, предпочтительно по меньшей мере на 30%, 40%, 50% или 60%, более предпочтительно по меньшей

мере на 70%, 80%, 90% или даже 100% и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 150%, 200% или даже на 300% или более. В контексте настоящего изобретения нуклеотид, имеющий такую модификацию основания, предпочтительно выбирают из группы нуклеотидов с модифицированными основаниями, включающей 2-амино-6-хлорпуририбозид-5'-трифосфат, 2-аминоаденозин-5'-трифосфат, 2-тиоцитидин-5'-трифосфат, 2-тиоуридин-5'-трифосфат, 4-тиоуридин-5'-трифосфат, 5-аминоаллилцитидин-5'-трифосфат, 5-аминоаллилуридин-5'-трифосфат, 5-бромцитидин-5'-трифосфат, 5-бромуридин-5'-трифосфат, 5-йодцитидин-5'-трифосфат, 5-йодуридин-5'-трифосфат, 5-метилцитидин-5'-трифосфат, 5-метилуридин-5'-трифосфат, 6-азацитидин-5'-трифосфат, 6-азауридин-5'-трифосфат, 6-хлорпуририбозид-5'-трифосфат, 7-дезааденозин-5'-трифосфат, 7-дезагуанозин-5'-трифосфат, 8-азааденозин-5'-трифосфат, 8-азидоаденозин-5'-трифосфат, бензимидазолрибозид-5'-трифосфат, N1-метиладенозин-5'-трифосфат, N1-метилгуанозин-5'-трифосфат, N6-метиладенозин-5'-трифосфат, O6-метилгуанозин-5'-трифосфат, псевдоуридин-5'-трифосфат или пурамицин-5'-трифосфат, ксантозин-5'-трифосфат. Наиболее предпочтительные нуклеотиды для модификаций оснований выбирают из группы нуклеотидов с модифицированными основаниями, включающей 5-метилцитидин-5'-трифосфат, 7-дезагуанозин-5'-трифосфат, 5-бромцитидин-5'-трифосфат и псевдоуридин-5'-трифосфат.

Согласно другому варианту осуществления изобретения по меньшей мере одну мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно также модифицировать (и предпочтительно стабилизировать) путем интродукции дополнительных модифицированных нуклеотидов, которые содержат модификации в их рибозных остатках или в основаниях. Как правило, по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может содержать любой нативный (встречающийся в естественных условиях) нуклеотид, например, гуанозин, урацил, аденозин и/или цитозин или их аналог. В этом контексте нуклеотидные аналоги определяют как не встречающиеся в естественных условиях варианты встречающихся в естественных условиях нуклеотидов. Таким образом, аналоги представляют собой химически дериватизированные нуклеотиды с не встречающимися в естественных условиях функциональными группами, которые предпочтительно

добавляют или изымают путем делеции из встречающегося в естественных условиях нуклеотида или которыми заменяют встречающиеся в естественных условиях функциональные группы нуклеотида. Таким образом, каждый компонент встречающегося в естественных условиях нуклеотида может быть

5 модифицирован, а именно, компонент, представляющий собой основание, компонент, представляющий собой сахар (рибозу), и/или фосфатный компонент, образующий каркас (см. выше) последовательности РНК. Аналоги гуанозина, урацила, аденозина и цитозина включают (но, не ограничиваясь только ими) любой встречающийся в естественных условиях или не встречающийся в

10 естественных условиях гуанозин, урацил, аденозин, тимидин или цитозин, который был изменен химически, например, ацелированием, метилированием, гидрокселированием и т.д., включая, например, 1-метиладенозин, 1-метилгуанозин, 1-метилюридин, 2,2-диметилгуанозин, 2,6-диаминопуридин, 2'-амино-2'-дезоксаденозин, 2'-амино-2'-дезоксцитидин, 2'-амино-2'-

15 дезоксигуанозин, 2'-амино-2'-дезоксуридин, 2-амино-6-хлорпуринорибозид, 2-аминопуринорибозид, 2'-араденозин, 2'-арацитидин, 2'-арауридин, 2'-Азидо-2'-дезоксаденозин, 2'-азидо-2'-дезоксцитидин, 2'-азидо-2'-дезоксигуанозин, 2'-азидо-2'-дезоксуридин, 2-хлораденозин, 2'-фтор-2'-дезоксаденозин, 2'-фтор-2'-дезоксцитидин, 2'-фтор-2'-дезоксигуанозин, 2'-фтор-2'-дезоксуридин, 2'-

20 фтортимидин, 2-метиладенозин, 2-метилгуанозин, 2-метилтио-N6-изопенениладенозин, 2'-О-метил-2-аминоаденозин, 2'-О-метил-2'-дезоксаденозин, 2'-О-метил-2'-дезоксцитидин, 2'-О-метил-2'-дезоксигуанозин, 2'-О-метил-2'-дезоксуридин, 2'-О-метил-5-метилуридин, 2'-О-метилюридин, 2'-О-метилпсевдоуридин, 2-тиоцитидин, 2-тиоцитозин, 3-метилцитозин, 4-

25 ацетилцитозин, 4-тиоуридин, 5-(карбоксихидроксиметил)урацил, 5,6-дигидроуридин, 5-аминоаллилцитидин, 5-аминоаллилдезоксуридин, 5-бромурин, 5-карбоксиметиламинометил-2-тиоурацил, 5-карбоксиметиламинометилурацил, 5-хлор арацитозин, 5-фторуридин, 5-йодуридин, 5-метоксикарбонилметилуридин, 5-метоксуридин, 5-метил-2-

30 тиоуридин, 6-азацитидин, 6-азауридин, 6-хлор-7-дезагуанозин, 6-хлорпуринорибозид, 6-меркаптогуанозин, 6-метилмеркаптопуринорибозид, 7-деза-2'-дезоксигуанозин, 7-дезааденозин, 7-метилгуанозин, 8-азааденозин, 8-броаденозин, 8-бромгуанозин, 8-меркапторгуанозин, 8-оксогуанозин,

бензимидазолрибозид, бета-D-маннозилквеозин, дигидроурацил, инозин, N1-метиладенозин, N6-([6-аминогексил]карбамоилметил)аденозин, N6-изопентениладенозин, N6-метиладенозин, N7-метилксантозин, метиловый эфир N-урацил-5-оксиуксусной кислоты, пурамицин, квеозин, урацил-5-оксиуксусная кислота, метиловый эфир урацил-5-оксиуксусной кислоты, вибутоксозин, ксантозин и ксилоаденозин. Получение таких аналогов известно специалисту в данной области, например, описано в US 4373071, US 4401796, US 4415732, US 4458066, US 4500707, US 4668777, US 4973679, US 5047524, US 5132418, US 5153319, US 5262530 и 5700642. Касательно аналогов, описанных выше, наиболее предпочтительными согласно изобретению могут быть те аналоги, которые повышают иммуногенность мРНК, которая входит в композицию, предлагаемую в изобретении, и/или не взаимодействуют с другой интродуцированной модификацией мРНК.

Согласно конкретному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может содержать липидную модификацию. Такая модифицированная липидами мРНК, как правило, содержит указанную в настоящем описании мРНК, которая кодирует по меньшей мере один из шести антигенов, указанных выше. Такая модифицированная липидами мРНК, как правило, дополнительно содержит по меньшей мере один линкер, ковалентно связанный с указанной мРНК, и по меньшей мере один липид, ковалентно связанный с соответствующим линкером. Альтернативно этому, модифицированная липидами мРНК содержит (по меньшей мере одну) мРНК, указанную в настоящем описании, и по меньшей мере один (бифункциональный) липид, ковалентно связанный (без линкера) с указанной мРНК. Согласно третьей альтернативе модифицированная липидами мРНК содержит мРНК, указанную в настоящем описании, по меньшей мере один линкер, ковалентно связанный с указанной мРНК, и по меньшей мере один липид, ковалентно связанный с соответствующим линкером, и также по меньшей мере один (бифункциональный) липид, ковалентно связанный (без линкера) с указанной мРНК.

Липид, содержащийся по меньшей мере в одной мРНК в предлагаемой в изобретении композиции (образующий с ней комплекс или ковалентно связанный)), как правило, представляет собой липид или липофильный

фрагмент, который сам является биологически активным. Указанные липиды предпочтительно включают встречающиеся в естественных условиях субстанции или соединения, такие, например, как витамины, например, альфа-токоферол (витамин E), включая RRR-альфа-токоферол (прежнее название D-альфа-токоферол), L-альфа-токоферол, рацемат D,L-альфа-токоферола, сукцинат

5 витамина E (VES) или витамин A и его производные, например, ретиноевая кислота, ретинол, витамин D и его производные, например, витамин D, а также его эргостерольные предшественники, витамин E и его производные, витамин K и его производные, например, витамин K и родственные хиноны или фитолы,

10 или стероиды, такие как желчные кислоты, например, холевая кислота, дезоксихолевая кислота, дегидрохолевая кислота, кортизон, дигоксигенин, тестостерон, холестерин или тиохолестерин. Дополнительные липиды или липофильные фрагменты, подпадающие под объем настоящего изобретения, включают (но, не ограничиваясь только ими) полиалкиленгликоли (Oberhauser и др., Nucl. Acids Res., 20, 1992, с. 533), алифатические группы, такие, например,

15 как C₁-C₂₀алканы, C₁-C₂₀алкены или C₁-C₂₀алканольные производные и т.д., такие, например, как додекандиольные, гексадеканольные или ундецильные фрагменты (Saison-Behmoaras и др., EMBO J, 10, 1991, с. 111; Kabanov и др., FEBS Lett., 259, 1990, с. 327; Svinarchuk и др., Biochimie, 75, 1993, с. 49),

20 фосфолипиды, такие, например, как фосфатидилглицерин, диацилфосфатидилглицерин, фосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилхолин, дистеароилфосфатидилхолин, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, дигексадецил-*rac*-глицерин, сфинголипиды, цереброзиды, ганглиозиды или триэтиламмоний-1,2-ди-О-

25 гексадецил-*rac*-глицеро-3-Н-фосфонат (Manoharan и др., Tetrahedron Lett., 36, 1995, с. 3651; Shea и др., Nucl. Acids Res., 18, 1990, с. 3777), полиамины или полиалкиленгликоли, такие, например, как полиэтиленгликоль (ПЭГ) (Manoharan и др., Nucleosides & Nucleotides, 14, 1995, с. 969), гексаэтиленгликоль (ГЭГ), пальмитин или пальмитильные фрагменты (Mishra и др., Biochim. Biophys. Acta, 1264, 1995, с. 229), октадециламины или

30 гексиламинокарбонилноксистеролиновые остатки (Crooke и др., J. Pharmacol. Exp. Ther., 277, 1996, с. 923), а также воски, терпены, ациклические

углеводороды, фрагменты насыщенных и моно- или полиненасыщенных жирных кислот и т.д.

По меньшей мере, одну мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно также стабилизировать для предотвращения расщепления мРНК *in vivo* с помощью нескольких подходов. В данной области известно, что нестабильность и (быстрое) расщепление мРНК или РНК *in vivo*, как правило, может представлять собой серьезную проблему при применении композиций на основе РНК. Такая нестабильность РНК, как правило, связана с расщепляющими РНК ферментами, «РНКазами» (рибонуклеазы), причем загрязнение указанными рибонуклеазами может иногда приводить к полному расщеплению РНК в растворе. Таким образом, имеющее место в естественных условиях расщепление РНК в цитоплазме клеток следует очень точно регулировать и загрязнение РНКазой можно предотвращать с помощью специальной обработки перед применением указанных композиций, в частности с помощью диэтилпиروкарбоната (ДЭПК). Из существующего уровня техники известно несколько механизмов защиты от имеющего место в естественных условиях расщепления, которые можно также применять. Например, концевая структура, как правило, имеет решающее значение для мРНК *in vivo*. Например, на 5'-конце встречающихся в естественных условиях мРНК обычно находится структура в виде так называемого «кэпа» (модифицированный гуанозиновый нуклеотид), а на 3'-конце, как правило, находится последовательность, включающая вплоть до 200 аденозиновых нуклеотидов (так называемый поли-А хвост).

Таким образом, по меньшей мере одну мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно стабилизировать для предотвращения расщепления РНКазами путем добавления структуры так называемого «5'-кэпа». Наиболее предпочтительной в этом контексте является m⁷G(5')ppp(5'(A,G(5')ppp(5')A или G(5')ppp(5')G в качестве структуры «5'-кэпа». Однако указанную модификацию интродуцируют только, если модификация, например липидная модификация, еще не интродуцирована на 5'-конец мРНК в предлагаемой в изобретении композиции или если модификация не оказывает влияние на иммуногенные свойства (немодифицированной или химически модифицированной) мРНК.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может содержать поли-А-хвост на 3'-конце, как правило, состоящий примерно из 10-200 аденозиновых нуклеотидов, предпочтительно примерно из 10-100 аденозиновых нуклеотидов, более предпочтительно 40-80 аденозиновых нуклеотидов или еще более предпочтительно 50-70 аденозиновых нуклеотидов.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может содержать поли-С-хвост на 3'-конце, как правило, состоящий примерно из 10-200 цитозиновых нуклеотидов, предпочтительно примерно из 10-100 цитозиновых нуклеотидов, более предпочтительно 20-70 цитозиновых нуклеотидов или еще более предпочтительно 20-60 или даже 10-40 цитозиновых нуклеотидов.

По меньшей мере, одна мРНК, предлагаемая в изобретении, предпочтительно содержит по меньшей мере одну гистоновую структуру типа «стебель-петля». В контексте настоящего изобретения указанную гистоновую структуру типа «стебель-петля» (вне зависимости от того, представляет ли она гистоновую «стебель-петлю» или нет), как правило, получают из генов гистонов, и она содержит внутримолекулярные спаривающиеся основания двух соседних полностью или частично обратно комплементарных последовательностей, которые, таким образом, образуют структуру типа «стебель-петля». Структура типа «стебель-петля» может находиться в одноцепочечной ДНК или, что является наиболее распространенным, в РНК.

В контексте настоящего описания последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» может описываться ее ДНК- или соответствующей РНК-последовательностью. Таким образом, в контексте настоящего описания любая ссылка на последовательности гистоновой структуры типа «стебель-петля», которая в контексте настоящего описания соответствует последовательностям ДНК (например, SEQ ID NO: 38-67 и 71), относится также к соответствующей последовательности РНК. Это относится, в частности, к последовательностям гистоновой структуры типа «стебель-петля», которые содержатся по меньшей мере в одной мРНК, предлагаемой в

изобретении. Соответственно, под ссылкой на специфическую последовательность ДНК, которая определяет гистоновую структуру типа «стебель-петля», подпадает также соответствующая последовательность РНК.

Эту структуру называют также «шпилькой» или «шпилечной петлей», и она, как правило, состоит из стебля и (концевой) петли в непрерывной последовательности, при этом стебель образован двумя соседними полностью или частично обратно комплементарными последовательностями, которые разделены короткой последовательностью типа спейсера, образуя петлю структуры типа «стебель-петля». Две соседние полностью или частично обратно комплементарные последовательности можно обозначать, например, как элементы stem1 и stem2 структуры типа «стебель-петля». Структура типа «стебель-петля» образуется в том случае, когда эти две соседние полностью или частично обратно комплементарные последовательности, например, элементы stem1 и stem2 структуры типа «стебель-петля», образуют пары оснований друг с другом, что приводит к созданию двухцепочечной нуклеотидной последовательности, содержащей неспаренную петлю в концевой области, которая состоит из короткой последовательности, локализованной между элементами stem1 и stem2 структуры типа «стебель-петля» на непрерывной последовательности. Таким образом, неспаренная петля, как правило, представляет собой область нуклеиновой кислоты, которая не обладает способностью к спариванию оснований с любым из указанных элементов структуры типа «стебель-петля». Образовавшаяся имеющая форму «леденца на палочке» структура представляет собой основной конструктивный элемент многих вторичных структур РНК. Таким образом, образование структуры типа «стебель-петля» зависит от стабильности образовавшихся областей стебля и «петли», при этом первой предпосылкой является, как правило, присутствие последовательности, которая может обладать способностью к обратной укладке на самой себе с формированием спаренной двойной цепи. Стабильность спаренных элементов структуры типа «стебель-петля» определяется длиной, количеством мисмэтчей или выпуклостей, которые она содержит (небольшое количество мисмэтчей, как правило, является допустимым, прежде всего в случае длинной двойной цепи) и составом оснований спаренной области. В контексте настоящего изобретения оптимальная длина петли составляет 3-15

оснований, при этом более предпочтительно длина петли составляет 3-10 оснований, более предпочтительно 3-8, 3-7, 3-6 или еще более предпочтительно 4-5 оснований и наиболее предпочтительно 4 основания. Последовательность, образующая область стебля в гистоновой структуре типа «стебель-петля», как правило, состоит из 5-10 оснований, более предпочтительно 5-8 оснований, при этом предпочтительно по меньшей мере одно из оснований представляет собой мисмэтч, т.е. не представляет собой пару оснований.

В контексте настоящего изобретения гистоновую структуру типа «стебель-петля», как правило, получают из генов гистонов (например, генов из гистоновых семейств H1, H2A, H2B, H3, H4), и она содержит внутримолекулярные спаривающиеся основания двух соседних полностью или частично обратно комплементарных последовательностей, которые образуют, таким образом, структуру типа «стебель-петля». Как правило, гистоновая 3'UTR структура типа «стебель-петля» представляет собой элемент РНК, участвующий в ядерно-цитоплазматическом транспорте гистоновых мРНК и в регуляции стабильности и эффективности трансляции в цитоплазме. В мРНК гистоновых генов многоклеточных организмов отсутствует полиаденилирование и поли-А-хвост, вместо этого имеет место 3'-концевой процессинг в сайте между высоко консервативной структурой типа «стебель-петля» и богатой пуринами области, состоящей примерно из 20 нуклеотидов, расположенной в прямом направлении (расположенный в прямом направлении гистоновый элемент (HDE)). Гистоновая структура типа «стебель-петля» связывается с помощью имеющего молекулярную массу 31 кДа белка, связывающего структуру типа «стебель-петля» (SLBP, его обозначают также как связывающий гистоновую шпильку белок или HBP). Указанные гистоновые структуры типа «стебель-петля» согласно настоящему изобретению предпочтительно применяют в сочетании с другими элементами и структурами последовательности, которые не встречаются в естественных условиях (т.е. в нетрансформированных живых организмах/клетках) в генах гистонов, но, но при объединении- согласно настоящему изобретению- образуют искусственную гетерологичную нуклеиновую кислоту. Таким образом, в настоящем изобретении предложена искусственная (ненативная) комбинация гистоновой структуры типа «стебель-петля» с другими элементами гетерологичной последовательности, которые не

присутствуют в генах гистонов или в генах гистонов многоклеточных организмов, и которые выделяют из областей функциональных и/или регуляторных последовательностей (влияющих на транскрипцию и/или трансляцию) генов, кодирующих белки, отличные от гистонов, с достижением 5 обладающих преимуществом эффектов. Таким образом, одним из вариантов осуществления изобретения является комбинация гистоновой структуры типа «стебель-петля» с поли(А)-последовательностью или последовательностью, представляющей собой сигнал полиаденилирования (3'-конец кодирующей области), которая не встречается в генах гистонов многоклеточных организмов. 10 Другим предпочтительным объектом изобретения является комбинация гистоновой структуры типа «стебель-петля» с кодирующей областью, которая кодирует по меньшей мере один из указанных выше антигенов, предлагаемых в изобретении, которая предпочтительно не встречается в генах гистонов многоклеточных организмов (кодирующая область и последовательность 15 гистоновой структуры типа «стебель-петля» являются гетерологичными).

Таким образом, гистоновая структура типа «стебель-петля» представляет собой структуру типа «стебель-петля», представленную в настоящем описании, которая предпочтительно обладает определенной функцией, если она 20 обладает/сохраняет способность связываться с ее встречающимся в естественных условиях партнером по связыванию, т.е. белком, связывающим структуру типа «стебель-петля» (SLBP, его обозначают также как связывающий гистоновую шпильку белок или НВР).

В предпочтительном варианте осуществления изобретения последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» не получают из 25 мышинового гистонового белка. Более конкретно, последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» не получают из мышинового гена гистона H2A614. Кроме того, по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, может не содержать ни мышиную последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», ни мышинный ген гистона H2A614. Кроме того, по 30 меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, может не содержать сигнал процессинга структуры типа «стебель-петля», более конкретно, мышинный сигнал процессинга структуры типа «стебель-петля» и наиболее предпочтительно мышинный сигнал процессинга структуры типа «стебель-петля»

H2kA614, даже, если по меньшей мере одна мРНК содержит по меньшей мере один ген гистона млекопитающих. Однако по меньшей мере один ген гистона млекопитающих не может иметь последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7 в WO 01/12824.

5 По меньшей мере, одна мРНК, указанная выше, может предпочтительно содержать 5'UTR, кодирующую область, которая кодирует указанные выше антигены или их фрагмент, вариант или производное; и/или 3'UTR, предпочтительно содержащую по меньшей мере одну гистоновую структуру типа «стебель-петля». Когда помимо антигенов, указанных выше,
10 дополнительный пептид или белок кодируется по меньшей мере одной мРНК, то кодируемый пептид или белок предпочтительно не представляет собой гистоновый белок, репортерный белок и/или не представляет собой маркерный или селектируемый белок, указанный выше. 3'UTR по меньшей мере одной мРНК предпочтительно содержит также поли(А)- и/или поли(С)-
15 последовательность, указанную в настоящем описании. Сигнальные элементы 3'UTR могут встречаться в ней в любом порядке от 5'-конца к 3'-концу вдоль последовательности по меньшей мере одной мРНК. Кроме того, могут присутствовать также дополнительные элементы, указанные в настоящем описании, такие как указанная в настоящем описании стабилизирующая
20 последовательность (например, полученная из UTR гена глобина), IRES-последовательности и т.д. Каждый из указанных элементов может также повторяться по меньшей мере в одной мРНК, предлагаемой в изобретении, по меньшей мере один раз (прежде всего в би- или полицистронных конструкциях), предпочтительно два или большее количество раз. Например, сигнальные
25 элементы могут присутствовать по меньшей мере в одной мРНК в следующем порядке:

5' – кодирующая область – гистоновая структура «стебель-петля» – поли(А)/(С)-последовательность – 3'; или

30 5' – кодирующая область – поли(А)/(С)-последовательность – гистоновая структура «стебель-петля» – 3'; или

5' – кодирующая область – гистоновая структура «стебель-петля» – сигнал полиаденилирования – 3'; или

5' – кодирующая область – сигнал полиаденилирования – гистоновая структура «стебель-петля»– 3'; или

5' – кодирующая область – гистоновая структура «стебель-петля» – гистоновая структура «стебель-петля» – поли(А)/(С)-последовательность – 3';

5 или

5' – кодирующая область – гистоновая структура «стебель-петля» – гистоновая структура «стебель-петля» – сигнал полиаденилирования – 3'; или

5' – кодирующая область – стабилизирующая последовательность – поли(А)/(С)-последовательность – гистоновая структура «стебель-петля» – 3';

10 или

5' – кодирующая область – стабилизирующая последовательность – поли(А)/(С)-последовательность – поли(А)/(С)-последовательность – гистоновая структура «стебель-петля» – 3' и т.д.

15 В этом контексте наиболее предпочтительно, если помимо антигенов, указанных выше, по меньшей мере одной мРНК кодируется дополнительный пептид или белок, то кодируемый пептид или белок предпочтительно не представляет собой ни гистоновый белок, ни репортерный белок (например, люциферазу, GFP, EGFP, β-галактозидазу, прежде всего EGFP) и ни маркерный белок или селективируемый белок (например, альфа-глобин, галактокиназу и ксантин:гуанинфосфорибозилтрансферазу (GPT)).

20 В предпочтительном варианте осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, не содержит репортерный ген или маркерный ген. Предпочтительно мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует, например, люциферазу; зеленый флуоресцентный белок (GFP) и его варианты (такие как eGFP, RFP или BFP); α-глобин; гипоксантин:гуанинфосфорибозилтрансферазу (HGPRТ); β-галактозидазу; галактокиназу; щелочную фосфатазу; секретируемую эмбриональную щелочную фосфатазу (SEAP)) или ген, обуславливающий устойчивость (такой как ген, обуславливающий устойчивость к неомицину, пуромицину, гигромицину и зеоцину). В предпочтительном варианте

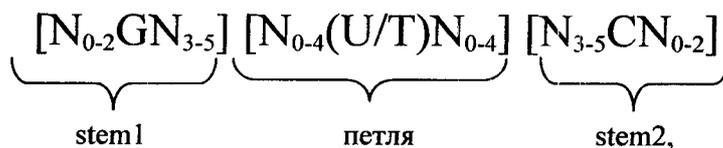
25 осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует люциферазу. В другом варианте осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует GFP или его вариант.

30

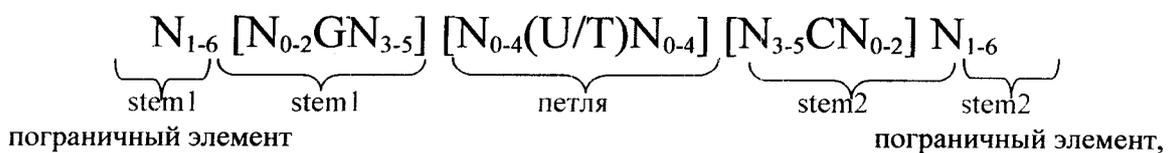
В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует белок (или фрагмент белка), происходящий из вируса, предпочтительно из вируса, принадлежащего к семейству *Orthomyxoviridae*. Предпочтительно мРНК не кодирует белок, происходящий из вируса гриппа, более предпочтительно вируса гриппа А. Предпочтительно мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует белок вируса гриппа А, выбранный из группы, состоящей из гемагглютинина (HA), нейраминидазы (NA), нуклеопротеина (NP), M1, M2, NS1, NS2 (NEP: белок ядерного экспорта), PA, PB1 (основная полимеразы 1), PB1-F2 и PB2. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует овальбумин (OVA) или его фрагмент. Предпочтительно мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует белок вируса А или овальбумин.

Согласно одному из предпочтительных вариантов осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, содержит по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», предпочтительно соответствующую по меньшей мере одной из следующих формул (I) или (II):

формула (I) (последовательность структуры типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля):



формула (II) (последовательность структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля):



в которых:

пограничные элементы stem1 или stem2 N_{1-6} обозначают непрерывную последовательность, состоящую из 1-6, предпочтительно 2-6, более предпочтительно 2-5, еще более предпочтительно 3-5, наиболее

предпочтительно 4-5 или 5 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или их нуклеотидного аналога;

5 stem1 [N₀₋₂GN₃₋₅]

обозначает последовательность, обратно комплементарную или частично обратно комплементарную элементу stem2, и представляет собой непрерывную последовательность, состоящую из 5-7 нуклеотидов;

10

в которой N₀₋₂ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-2, предпочтительно 0-1, более предпочтительно 1 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или его нуклеотидного аналога;

15

в которой N₃₋₅ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5, предпочтительно 4-5, более предпочтительно 4 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или его нуклеотидного аналога, и

20

в которой G обозначает гуанозин или его аналог и необязательно может быть заменен на цитидин или его аналог при условии, что комплементарный ему нуклеотид цитидин в stem2 заменен на гуанозин;

25

последовательность петли [N₀₋₄(U/T)N₀₋₄] локализована между элементами stem1 и stem2 и обозначает непрерывную

30

последовательность, состоящую из 3-5 нуклеотидов, более предпочтительно 4 нуклеотидов;

- 5 в которой N_{0-4} каждый независимо друг от друга обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-4, предпочтительно 1-3, более предпочтительно 1-2 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, Т, G и С или его нуклеотидного аналога; и в которой U/Т обозначает уридин или необязательно тимидин;
- 10 stem2 [$N_{3-5}CN_{0-2}$] обозначает последовательность, обратно комплементарную или частично обратно комплементарную элементу stem1, и представляет собой непрерывную последовательность, состоящую из 5-7 нуклеотидов;
- 15 в которой N_{3-5} обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5, предпочтительно 4-5, более предпочтительно 4 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, Т, G и С или его нуклеотидного аналога;
- 20 в которой N_{0-2} обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-2, предпочтительно 0-1, более предпочтительно 1 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, Т, G или С или его нуклеотидного аналога; и в которой С обозначает цитидин или его аналог и необязательно может быть заменен на гуанозин или его аналог при условии, что комплементарный ему нуклеотид гуанозин в stem1 заменен на цитидин;
- 25
- 30

где

у элементов stem1 и stem2 может происходить спаривание оснований друг с другом с образованием обратно комплементарной последовательности, где спаривание оснований может иметь место между stem1 и stem2, например, посредством спаривания оснований по Уотсону-Крику нуклеотидов А и U/T или G и С, или посредством спаривания оснований не по Уотсону-Крику, например, посредством спаривания «качающихся» оснований («качающегося» спаривания оснований), обратного спариванию оснований по Уотсону-Крику, посредством хугстиновского спаривания оснований, посредством обратного хугстиновскому спаривания оснований, или у них может происходить спаривание оснований друг с другом с образованием частично обратно комплементарной последовательности, при этом неполное спаривание оснований может иметь место между stem1 и stem2, вследствие того, что для одного или нескольких оснований в одном стебле не имеется комплементарного основания в обратно комплементарной последовательности другого стебля.

В указанном выше контексте спаривание «качающихся» оснований, как правило, представляет собой спаривание оснований не по Уотсону-Крику между двумя нуклеотидами. В контексте настоящего описания четыре основные пары «качающихся» оснований, которые можно применять, представляют собой гуанозин-уридин, инозин-уридин, инозин-аденозин, инозин-цитидин (G-U/T, I-U/T, I-A и I-C) и аденозин-цитидин (A-C).

Таким образом, в контексте настоящего изобретения «качающееся» основание представляет собой основание, которое формирует «качающуюся» пару оснований с другим основанием, как указано выше. Таким образом, спаривание оснований не по Уотсону-Крику, например, «качающееся» спаривание оснований, может иметь место в стебле гистоновой структуры типа «стебель-петля» по меньшей мере в одной мРНК, предлагаемой в настоящем изобретении.

В указанном выше контексте частично обратно комплементарная последовательность содержит максимум 2, предпочтительно только один мисмэтч, в структуре стебля последовательности структуры «стебель-петля», образованные(образованное) в результате спаривания оснований элементов stem1 и stem2. Другими словами, stem1 и stem2 предпочтительно обладают способностью к (полному) спариванию оснований друг с другом на всем

протяжении полной последовательности stem1 и stem2 (100% от возможных спариваний оснований по Уотсону-Крику или не по Уотсону-Крику), формируя тем самым обратно комплементарную последовательность, где каждое
5 основание имеет правильное соответствующее ему парное по Уотсону-Крику или не по Уотсону-Крику основание в качестве комплементарно связывающего партнера. В альтернативном варианте stem1 и stem2 предпочтительно обладают способностью к спариванию оснований друг с другом на протяжении полной последовательности stem1 и stem2, где по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% из 100% от возможных правильных спариваний
10 оснований по Уотсону-Крику или не по Уотсону-Крику соответствуют правильным спариваниям оснований по Уотсону-Крику или не по Уотсону-Крику и максимум примерно 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% оставшихся оснований остаются неспаренными.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения по
15 меньшей мере одна последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» (с пограничными элементами стебля) по меньшей мере одной мРНК, представленной в настоящем описании, содержит от примерно 15 до примерно 45 нуклеотидов, предпочтительно от примерно 15 до примерно 40 нуклеотидов, предпочтительно от примерно 15 до примерно 35 нуклеотидов, предпочтительно
20 от примерно 15 до примерно 30 нуклеотидов и еще более предпочтительно от примерно 20 до примерно 30 и наиболее предпочтительно от примерно 24 до примерно 28 нуклеотидов.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна последовательность гистоновой структуры
25 типа «стебель-петля» (без пограничных элементов стебля) по меньшей мере одной мРНК, представленной в настоящем описании, содержит от примерно 10 до примерно 30 нуклеотидов, предпочтительно от примерно 10 до примерно 20 нуклеотидов, предпочтительно от примерно 12 до примерно 20 нуклеотидов, предпочтительно от примерно 14 до примерно 20 нуклеотидов и еще более
30 предпочтительно от примерно 15 до примерно 17 и наиболее предпочтительно примерно 16 нуклеотидов.

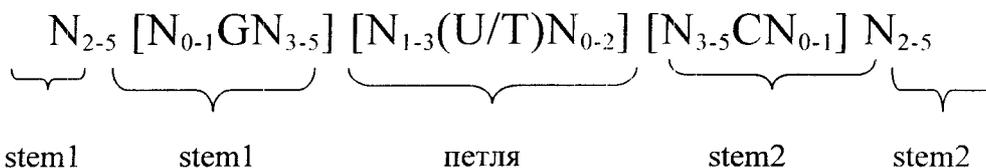
Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в настоящем

изобретении, может содержать по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», соответствующую по меньшей мере одной из следующих конкретных формул (Ia) или (IIa):

формула (Ia) (последовательность структуры типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля):



формула (IIa) (последовательность структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля):



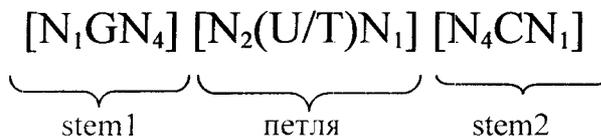
пограничный элемент пограничный элемент,

в которой:

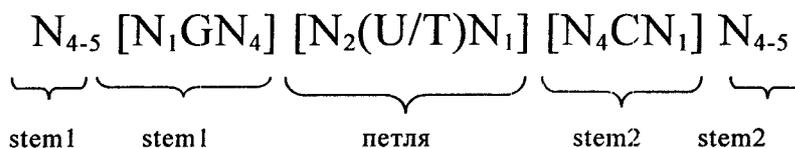
N, C, G, T и U имеют указанные выше значения.

Согласно другому более предпочтительному варианту осуществления первого объекта изобретения по меньшей мере одна мРНК может содержать или кодировать по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», соответствующую по меньшей мере одной из следующих конкретных формул (Ib) или (IIb):

формула (Ib) (последовательность структуры типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля):



формула (IIb) (последовательность структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля):



пограничный элемент пограничный элемент

в которой:

N, C, G, T и U имеют указанные выше значения.

5 Согласно еще более предпочтительному варианту осуществления
изобретения по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в настоящем
изобретении, может содержать по меньшей мере одну последовательность
гистоновой структуры типа «стебель-петля», соответствующую по меньшей мере
одной из следующих конкретных формул (Ic)-(Ih) или (IIc)-(IIh), которые
являются альтернативными по структуре типа «стебель-петля», и имеют
10 линейную последовательность, соответствующую последовательностям
гистоновой структуры типа «стебель-петля»:

формула (Ic): (консенсусная последовательность гистоновой структуры
типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля многоклеточных и
простейших организмов):

15

N U
N N
N-N
N-N
20 N-N
N-N
G-C
N-N (структура типа «стебель-петля»)

25

NGNNNNNNUNNNNNNCN

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 26),

формула (IIc): (консенсусная последовательность гистоновой структуры
типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля многоклеточных и
простейших организмов):

30

N U
N N
N-N
N-N
35 N-N
N-N

G-C

N*N*NNNN-NNNN*N*N* (структура типа «стебель-петля»)

N*N*NNNNGNNNNNNUNNNNNNCNNNN*N*N*

5 (линейная последовательность) (SEQ ID NO: 27),

формула (Id): (без пограничных элементов стебля)

N U

N N

10 N-N

N-N

N-N

N-N

C-G

15 N-N (структура типа «стебель-петля»)

NCNNNNNNUNNNNNNGN

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 28),

формула (Id): (с пограничными элементами стебля)

20 N U

N N

N-N

N-N

N-N

25 N-N

C-G

N*N*NNNN-NNNN*N*N* (структура типа «стебель-петля»)

N*N*NNNNNCNNNNNNUNNNNNNGNNNN*N*N*

30 (линейная последовательность) (SEQ ID NO: 29),

формула (Ie): (консенсусная последовательность гистоновой структуры

типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля простейших

организмов):

35 N U

N N

N-N

N-N

N-N

N-N
G-C
D-H (структура типа «стебель-петля»)

5 DGNNNNNNUNNNNNCH
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 30),

формула (Ie): (консенсусная последовательность гистоновой структуры
типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля простейших
10 организмов):

N U
N N
N-N
N-N
15 N-N
N-N
G-C
N*N*NNND-HNNN*N*N* (структура типа «стебель-петля»)

20 N*N*NNNDGNNNNNNUNNNNNCHNNN*N*N*
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 31),

формула (If): (консенсусная последовательность гистоновой структуры
типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля многоклеточных
25 организмов):

N U
N N
Y-V
30 Y-N
B-D
N-N
G-C
N-N (структура типа «стебель-петля»)

35 NGNBYNNUNVNDNCN
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 32),

формула (If): (консенсусная последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля многоклеточных организмов):

5
N U
N N
Y-V
Y-N
B-D
N-N
10
G-C
N*N*NNNN-NNNN*N*N* (структура типа «стебель-петля»)
N*N*NNNNGNBYYNNUNVNDNCNNNN*N*N*
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 33).

15

формула (Ig): (консенсусная последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля позвоночных животных):

20
N U
D H
Y-A
Y-B
Y-R
H-D
25
G-C
N-N (структура типа «стебель-петля»)

30
NGHYYYDNUHABRDCN
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 34),

30

формула (Ilg): (консенсусная последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля позвоночных животных):

35
N U
D H
Y-A
Y-B

Y-R
H-D
G-C

5 N*N*HNNN-NNNN*N*H* (структура типа «стебель-петля»)

N*N*HNNNGHYYYDNUHABRDCNNNN*N*H*
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 35),

формула (Ih): (человеческая (*Homo sapiens*) консенсусная
10 последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» без
пограничных элементов стебля):

Y U
D H
U-A
15 C-S
Y-R
H-R
G-C
20 D-C (структура типа «стебель-петля»)

DGHYCUDYUHASRRCC
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 36),

формула (IIh): (человеческая (*Homo sapiens*) консенсусная
25 последовательность структуры типа «стебель-петля» с пограничными
элементами стебля):

Y U
D H
U-A
30 C-S
Y-R
H-R
G-C

35 N*H*AAHD-CVHB*N*H* (структура типа «стебель-петля»)

N*H*AAHDGHYCUDYUHASRRCCVHB*N*H*
(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 37),

где в каждой из формул (Ic)-(Ih) или (IIc)- (IIh):

N, C, G, A, T и U имеют указанные выше значения;

каждый U можно заменять на T;

каждый (высоко) консервативный G или C в элементах 1 и 2 стебля можно

5 заменять на комплементарное ему нуклеотидное основание C или G при условии, что указанный комплементарный нуклеотид в соответствующем стебле параллельно заменяют на комплементарный ему нуклеотид; и/или

G, A, T, U, C, R, Y, M, K, S, W, H, B, V, D и N представляют собой

нуклеотидные основания, указанные ниже в таблице:

Сокращение	Нуклеотидные основания	Комментарий
G	G	гуанин
A	A	аденин
T	T	тимин
U	U	урацил
C	C	цитозин
R	G или A	пурин
Y	T/U или C	пиримидин
M	A или C	амино
K	G или T/U	кето
S	G или C	сильное (3Н-связи)
W	A или T/U	слабое (2Н-связи)
H	A или C или T/U	не G
B	G или T/U или C	не A
V	G или C или A	не T/U
D	G или A или T/U	не C
N	G или C или T/U или A	любое основание
*	присутствует или нет	основание может присутствовать или не присутствовать

10

В этом контексте наиболее предпочтительной последовательностью гистоновой структуры типа «стебель-петля», которая соответствует по меньшей мере одной из формул (I) или (Ia)- (Ih), или (II), или (IIa)-(IIh), предлагаемых в настоящем изобретении, является последовательность, выбранная из

15 встречающейся в естественных условиях последовательности гистоновой структуры типа «стебель-петля», более предпочтительно из последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля» из простейших или многоклеточных организмов и еще более предпочтительно из последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля» из позвоночных животных и наиболее
20 предпочтительно из последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля» из млекопитающих, наиболее предпочтительно из человеческих последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля».

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», которая соответствует по меньшей мере одной из конкретных формул (I) или (Ia)-(Ih), или (II), или (IIa)-(IIh), предлагаемых в настоящем изобретении, представляет собой последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», которая содержит в каждом нуклеотидном положении наиболее часто встречающийся нуклеотид, или либо наиболее часто встречающийся, либо второй по частоте встречаемости в естественных условиях нуклеотид в последовательностях гистоновой структуры типа «стебель-петля» у многоклеточных и простейших организмов, простейших организмов, многоклеточных организмов, позвоночных животных и людей. В этом контексте наиболее предпочтительно по меньшей мере 80%, предпочтительно по меньшей мере 85% или наиболее предпочтительно по меньшей мере 90% всех нуклеотидов соответствуют нуклеотидам, наиболее часто встречающимся в естественных условиях в последовательностях гистоновой структуры типа «стебель-петля».

В другом конкретном варианте осуществления изобретения последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», которая соответствует по меньшей мере одной из конкретных формул (I) или (Ia)-(Ih), указанных выше, выбирают из представленных ниже последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля» (без пограничных элементов «стебля»):

VGYYYYNHTHRVRCB (SEQ ID NO: 38, соответствует формуле (Ic)),
SGYYTTTYTMARRRCS (SEQ ID NO: 39, соответствует формуле (Ic)),
25 SGYYCTTTMAGRRCB (SEQ ID NO: 40, соответствует формуле (Ic)),

DGNNBNNTHVNNCH (SEQ ID NO: 41, соответствует формуле (Ie)),
RGNNYHBTHRDNNCY (SEQ ID NO: 42, соответствует формуле (Ie)),
RGNDVYNYTHRDHNCY (SEQ ID NO: 43, соответствует формуле (Ie)),

30 VGYYTYNHTHRVRCB (SEQ ID NO: 44, соответствует формуле formula (If)),
SGYYCTTYTMAGRRCB (SEQ ID NO: 45, соответствует формуле (If)),
SGYYCTTTMAGRRCB (SEQ ID NO: 46, соответствует формуле (If)),

GGYYCTTYTHAGRRCC (SEQ ID NO: 47, соответствует формуле (Ig)),
GGCYCTTYTMAGRGCC (SEQ ID NO: 48, соответствует формуле (Ig)),
GGCTCTTTMAGRGCC (SEQ ID NO: 49, соответствует формуле (Ig)),

5

DGHYCTDYTHASRRCC (SEQ ID NO: 50, соответствует формуле (Ih)),
GGCYCTTTTHAGRGCC (SEQ ID NO: 51, соответствует формуле (Ih)),
GGCYCTTTTMAGRGCC (SEQ ID NO: 52, соответствует формуле (Ih)).

Кроме того, в этом контексте наиболее предпочтительными являются
10 следующие последовательности гистоновой структуры типа «стебель-петля» (с
пограничными элементами стебля), соответствующие одной из конкретных
формул (II) или (IIa)-(IIh):

H*N*HHVVGYYYYHHHHRVVRRCBVHH*N*N* (SEQ ID NO: 53, соответствует
формуле (IIc)),

15 M*N*MHMSGYYTYTMARRRCSMCH*N*N* (SEQ ID NO: 54, соответствует
формуле (IIc)),

M*M*MMMSGYYCTTTMAGRRCSACH*M*N* (SEQ ID NO: 55, соответствует
формуле (IIc)),

20 N*N*NNNDGNNNBNNTHVNNNCHNHN*N*N* (SEQ ID NO: 56, соответствует
формуле (IIe)),

N*N*HHNRGNNNYHBTHRDNNCYDHH*N*N* (SEQ ID NO: 57, соответствует
формуле (IIe)),

25 N*N*HHVRGNDBYHYTHRDHNCYRHH*N*N* (SEQ ID NO: 58, соответствует
формуле (IIe)),

H*N*MHMVGYYTYHHRVRRCBVMH*N*N* (SEQ ID NO: 59, соответствует
формуле (IIf)),

30 M*M*MMMSGYYCTTYTMAGRRCSMCH*N*N* (SEQ ID NO: 60, соответствует
формуле (IIf)),

M*M*MMMSGYYCTTTMAGRRCSACH*M*N* (SEQ ID NO: 61, соответствует
формуле (IIf)),

H*N*MAMGGYYCTTYTHAGRRCVHN*N*M* (SEQ ID NO: 62, соответствует формуле (IIg)),

H*N*AAMGGCYCTTYTMAGRGCVCN*N*M* (SEQ ID NO: 63, соответствует формуле (IIg)),

5 M*M*AAMGGCTCTTTMAGRGCMSY*M*M* (SEQ ID NO: 64, соответствует формуле (IIg)),

N*N*AANDGHYCTDYTHASRRCCVNB*N*N* (SEQ ID NO: 65, соответствует формуле (IIh)),

10 H*N*AAMGGCYCTTTTHAGRGCVMY*N*M* (SEQ ID NO: 66, соответствует формуле (IIh)),

H*M*AAAGGCYCTTTMAGRGCRCMY*N*M* (SEQ ID NO: 67, соответствует формуле (IIh)).

15 Согласно дополнительному предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК содержит по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», последовательность которой идентична по меньшей мере примерно на 80%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 85%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90% или даже более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95% последовательности, содержащей не более 100% консервативных нуклеотидов в последовательностях гистоновой структуры типа «стебель-петля», соответствующих по меньшей мере одной из конкретных формул (I) или (Ia)-(Ih), или (II), или (IIa)-(IIh), или встречающейся в естественных условиях последовательности гистоновой структуры типа «стебель-петля».

20

25

Наиболее предпочтительной последовательностью гистоновой структуры типа «стебель-петля» является последовательность, представленная в SEQ ID NO: 71 CAAAGGCTCTTTTCAGAGCCACCA, или более предпочтительно соответствующая последовательность РНК, имеющая нуклеотидную последовательность, которая соответствует SEQ ID NO: 71: CAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCA (SEQ ID NO: 72).

30

В предпочтительном варианте осуществления изобретения последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля» не содержит

последовательность петли 5'-UUUC-3'. Более конкретно, гистоновая структура типа «стебель-петля» не содержит последовательность элемента stem1 5'-GGCUCU-3' и/или последовательность элемента stem2 5'-AGAGCC-3' соответственно. В другом предпочтительном варианте осуществления

5 изобретения последовательность структуры типа «стебель-петля» не содержит последовательность петли 5'-CCUGCCC-3' или последовательность петли 5'-UGAAU-3'. Более конкретно, структура типа «стебель-петля» не содержит последовательность stem1 5'-CCUGAGC-3' или не содержит последовательность stem1 5'-ACCUUUCUCCA-3' и/или последовательность stem2 5'-GCUCAGG-3'

10 или 5'-UGGAGAAAGGU-3' соответственно. Кроме того, последовательности структуры типа «стебель-петля» предпочтительно не имеют происхождение из 3'-нетранслируемой области рецептора инсулина млекопитающих.

Предпочтительно также по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, может не содержать сигнал процессинга гистоновой структуры

15 типа «стебель-петля», в частности, сигнал процессинга имеющий происхождение из мышинового гена гистона H2A614 (H2kA614).

Предпочтительно по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, не содержит один или два или по меньшей мере один или все кроме одного, или все компоненты, выбранные из группы, включающей:

20 последовательность, которая кодирует рибозим (предпочтительно обладающий способностью к автономному сплайсингу рибозим), вирусную нуклеотидную последовательность, сигнал процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля», в частности, сигнал процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля», происходящий из мышинового гена гистона H2A614, ген Neo,

25 инактивированную промоторную последовательность и инактивированную энхансерную последовательность. Еще более предпочтительно по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, не содержит рибозим, предпочтительно обладающий способностью к автономному сплайсингу рибозим, и один или несколько компонентов, выбранных из группы, включающей: ген Neo,

30 инактивированную промоторную последовательность и инактивированную энхансерную последовательность, сигнал процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля», в частности, сигнал процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля», происходящий из мышинового гена гистона H2A614.

Таким образом, мРНК в предпочтительном варианте не содержит ни рибозим, предпочтительно обладающий способностью к автономному сплайсингу рибозим, ни ген Neo, или в альтернативном варианте не содержит ни рибозим, предпочтительно обладающий способностью к автономному сплайсингу рибозим, ни какой-либо ген, обуславливающий устойчивость (например, обычно применяемый для селекции). В другом предпочтительном варианте по меньшей мере одна мРНК, предлагаемая в изобретении, может не содержать рибозим, предпочтительно обладающий способностью к автономному сплайсингу рибозим, ни сигнал процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля», в частности, сигнал процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля», происходящий из мышинового гена гистона H2A614.

Альтернативно этому, по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в изобретении, необязательно содержит сигнал полиаденилирования, указанный в настоящем описании, представляющий собой сигнал, который обеспечивает полиаденилирование (транскрибируемой) мРНК посредством специфических белковых факторов (такой, например, как специфический фактор расщепления и полиаденилирования (CPSF), стимулирующий расщепление фактор (CstF), факторы расщепления I и II (CF I и CF II), поли(А)-полимераза (PAP)). В этом контексте консенсусный сигнал полиаденилирования предпочтительно содержит консенсусную последовательность NN(U/T)ANA. В наиболее предпочтительном объекте изобретения сигнал полиаденилирования содержит следующие последовательности: AA(U/T)AAA или A(U/T)(U/T)AAA (в которых уридин, как правило, присутствует в РНК, а тимидин, как правило, присутствует в ДНК). В некоторых вариантах осуществления изобретения сигнал полиаденилирования, применяемый по меньшей мере в одной мРНК, предлагаемой в изобретении, не соответствует мРНК U3, U5, сигналу процессинга полиаденилирования из человеческого гена G-CSF, или последовательностям сигналов полиаденилирования из SV40. В частности, указанные выше сигналы полиаденилирования не объединяют с каким-либо геном, обуславливающим устойчивость к антибиотикам (или любым другим репортерным, маркерным или селектирующим геном), в частности, не объединяют с обуславливающим устойчивость геном *neo* (неомицинофосфотрансфераза). Кроме того, по меньшей

мере в одной мРНК, предлагаемой в изобретении, не объединяют любой из указанных выше сигналов полиаденилирования предпочтительно с гистоновой структурой типа «стебель-петля» или с сигналом процессинга гистоновой структуры типа «стебель-петля» из мышинового гена гистона H2A614.

5 Согласно другому варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может быть модифицирована и тем самым стабилизирована путем модификации содержания G/C в мРНК, предпочтительно в кодирующей области по меньшей мере одной мРНК.

10 В наиболее предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения содержание G/C в кодирующей области по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, модифицируют, прежде всего, повышают, по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области соответствующей ей мРНК дикого типа, т.е. немодифицированной мРНК.

15 Аминокислотную последовательность, кодируемую по меньшей мере одной мРНК, предпочтительно не модифицируют по сравнению с аминокислотной последовательностью, кодируемой конкретной мРНК дикого типа. Указанная модификация по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, основана на том факте, что

20 последовательность любой области мРНК, подлежащей трансляции, является важной для эффективной трансляции указанной мРНК. Таким образом, важными являются состав и последовательность различных нуклеотидов. В частности, последовательности, имеющие повышенное содержание G (гуанозин)/C (цитозин), являются более стабильными, чем последовательности, имеющие

25 повышенное содержание A (аденозин)/U (урацил). Согласно изобретению кодоны мРНК изменяют по сравнению с соответствующей ей мРНК дикого типа таким образом, чтобы они содержали большее количество G/C-нуклеотидов, с сохранением транслируемой аминокислотной последовательности. Учитывая тот факт, что несколько кодонов кодируют одну и ту же аминокислоту (так

30 называемая вырожденность генетического кода), можно определять наиболее предпочтительные с точки зрения стабильности кодоны (так называемые альтернативные наиболее часто встречающиеся кодоны). В зависимости от аминокислоты, кодируемой по меньшей мере одной мРНК, существуют

различные возможности модификации последовательности мРНК по сравнению с ее последовательностью дикого типа. В случае аминокислот, которые кодируются кодонами, содержащими исключительно нуклеотиды G или C, никакая модификация кодона не является необходимой. Так, кодоны Pro (CCC или CCG), Arg (CGC или CGG), Ala (GCC или GCG) и Gly (GGC или GGG) не
5 нуждаются в модификации, поскольку в них не присутствует A или U. В противоположность этому, кодоны, которые содержат нуклеотиды A и/или U, можно модифицировать путем замены на другие кодоны, которые кодируют эти же аминокислоты, но не содержат A и/или U. Примерами таких замен являются:
10 кодоны CCU или CCA, кодирующие Pro, заменяют на CCC или CCG, кодоны CGU или CGA или AGA или AGG, кодирующие Arg, заменяют на CGC или CGG, кодоны GCU или GCA, кодирующие Ala, заменяют на GCC или GCG, кодоны GGU или GGA, кодирующие Gly, заменяют на GGC или GGG. В других
15 случаях, когда нуклеотиды A или U нельзя элиминировать из кодонов, можно снижать содержание A и U с использованием кодонов, которые содержат нуклеотиды A и/или U в более низком количестве. Примерами указанных
20 кодонов являются: кодон UUU, кодирующий Phe, заменяют на UUC, кодоны UUA, UUG, CUU или CUA, кодирующие Leu, заменяют на CUC или CUG, кодоны UCU или UCA или AGU, кодирующие Ser, заменяют на UCC, UCG или
25 AGC, кодон UAU, кодирующий Tyr, заменяют на UAC, кодон UGU, кодирующий Cys, заменяют на UGC, кодон CAU, кодирующий His, заменяют на CAC, кодон CAA, кодирующий Gln, заменяют на CAG, кодоны AUU или AUA, кодирующие Ile, заменяют на AUC, кодоны ACU или ACA, кодирующие Thr, заменяют на ACC или ACG, кодон AAU, кодирующий Asp, заменяют на AAC,
30 кодон AAA, кодирующий Lys, заменяют на AAG, кодоны GUU или GUA, кодирующие Val, заменяют на GUC или GUG, кодон GAU, кодирующий Asp, заменяют на GAC, кодон GAA, кодирующий Glu, заменяют на GAG, кодон UAA (стоп-кодон) заменяют на UAG или UGA. С другой стороны, в случае кодонов Met (AUG) и Trp (UGG), отсутствует возможность модификации
последовательности. Перечисленные выше замены можно использовать либо
индивидуально, либо в любых возможных комбинациях для повышения
содержания G/C в по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в
настоящем изобретении, по сравнению с конкретной мРНК дикого типа (т.е.

исходной последовательности). Так, например, все кодоны Thr, встречающиеся в последовательности дикого типа, можно модифицировать на ACC (или ACG). Однако предпочтительно, например, использовать комбинации указанных выше возможных замен:

- 5 замена всех кодонов, кодирующих Thr в исходной последовательности (мРНК дикого типа), на ACC (или ACG) и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Ser, на UCC (или UCG или AGC); замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Pe, на AUC, и
- 10 замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Lys, на AAG, и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Tyr, на UAC; замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Val, на GUC (или GUG), и
- 15 замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Glu, на GAG, и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Ala, на GCC (или GCG), и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Arg, на
- 20 CGC (или CGG); замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Val, на GUC (или GUG), и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Glu, на GAG, и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Ala, на
- 25 GCC (или GCG), и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Gly, на GGC (или GGG), и
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Asn, на AAC; замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Val, на
- 30 GUC (или GUG),
- замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Phe, на UUC, и

замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Cys, на UGC, и

замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Leu, на CUG (или CUC), и

5 замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Gln, на CAG, и

замена всех кодонов, кодирующих в исходной последовательности Pro, на CCC (или CCG) и т.д.

Предпочтительно содержание G/C в кодирующей области по меньшей мере
10 одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, повышают по меньшей мере на 7%, более предпочтительно по меньшей мере на 15%, наиболее предпочтительно по меньшей мере на 20%, по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа, которая кодирует антиген, антигенный белок или антигенный пептид, указанный в настоящем
15 описании, или его фрагмент или вариант. В конкретном варианте осуществления изобретения заменяют по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90%, 95% или даже 100% пригодных для замены кодонов в области, кодирующей антиген,
20 антигенный белок или антигенный пептид, указанный в настоящем описании, или его фрагмент или вариант или всю последовательность мРНК дикого типа, повышая тем самым содержание G/C в указанной последовательности. В этом контексте наиболее предпочтительно повышать содержание G/C по меньшей мере в одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, до
25 максимума (т.е. до 100% пригодных для замещения кодонов), прежде всего в области, кодирующей белок, по сравнению с последовательностью дикого типа. Согласно изобретению дополнительная предпочтительная модификация по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, основана на открытии того факта, что эффективность трансляции определяется также различной частотой встречаемости тРНК в клетках. Таким образом, если по меньшей мере в одной мРНК, которая входит в композицию, предлагаемую в настоящем изобретении, присутствуют в повышенном
30 количестве так называемые «редкие кодоны», то уровень трансляции

соответствующей модифицированной по меньшей мере одной мРНК является значимо более низким, чем в том случае, когда присутствуют кодоны, кодирующие относительно «часто встречающуюся» тРНК. Согласно изобретению в модифицированной по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, область, которая кодирует по меньшей мере один из указанных антигенов, модифицируют по сравнению с соответствующей областью мРНК дикого типа так, что по меньшей мере один кодон последовательности дикого типа, который кодирует тРНК, которая является относительно редкой в клетке, заменяют на кодон, который кодирует тРНК, которая относительно часто встречается в клетке и «несет» такую же аминокислоту, что и относительно редко встречающаяся тРНК. Посредством такой модификации последовательности по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, модифицируют таким образом, чтобы встраивать кодоны, для которых доступны часто встречающиеся тРНК. Другими словами, согласно изобретению с помощью такой модификации все кодоны последовательности дикого типа, которые кодируют тРНК, являющуюся относительно редкой в клетке, в каждом случае можно заменять на кодоны, которые кодируют тРНК, относительно часто встречающуюся в клетке, и которая в каждом случае «несет» такую же аминокислоту, что и относительно редкая тРНК. тРНК, встречающиеся относительно часто в клетке, и наоборот, встречающиеся относительно редко, известны специалистам в данной области, см., например, Akashi, Curr. Opin. Genet. Dev., 11(6), 2001, сс. 660-666. Наиболее предпочтительными являются кодоны, которые применяют для наиболее часто встречающейся тРНК конкретной аминокислоты, например кодон Gly, который использует тРНК, наиболее часто встречающуюся в (человеческой) клетке. Согласно изобретению наиболее предпочтительным является объединение повышения, предпочтительно до максимума, содержания G/C в последовательности модифицированной по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, с помощью «часто встречающихся» кодонов без модификации аминокислотой последовательности белка, кодируемого кодирующей областью мРНК. Этот предпочтительный вариант осуществления изобретения позволяет наиболее эффективно транслировать и стабилизировать (модифицированную) по меньшей мере одну

мРНК в композиции предлагаемой в настоящем изобретении. Определение модифицированной по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, описанной выше (повышенное содержание G/C; замена тРНК), можно осуществлять с использованием компьютерной программы, описанной в WO 02/098443, содержание которой включено в полном объеме в настоящее изобретение. С использованием указанной компьютерной программы нуклеотидную последовательность любой требуемой мРНК можно модифицировать с помощью генетического кода или его вырожденной природы так, чтобы получать максимальное содержание G/C, в сочетании с применением кодонов, которые кодируют тРНК, встречающуюся по возможности наиболее часто в клетке, аминокислотная последовательность, кодируемая модифицированной по меньшей мере одной мРНК, предпочтительно не является модифицированной по сравнению с немодифицированной последовательностью. В альтернативном варианте можно также модифицировать только содержание G/C или только наиболее часто встречающиеся кодоны по сравнению с исходной последовательностью. Исходный код в Visual Basic 6.0 (используемая операционная среда разработки: Microsoft Visual Studio Enterprise 6.0 с Servicepack 3) также описан в WO 02/098443. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения содержание A/U в окружении сайта связывания рибосом по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, повышают по сравнению с содержанием A/U в окружении сайта связывания рибосом соответствующей ей мРНК дикого типа. Указанная модификация (повышенное содержание A/U вокруг сайта связывания рибосом) повышает эффективность связывания рибосом по меньшей мере с одной мРНК. Эффективность связывания рибосом с сайтом связывания рибосом (последовательность Козака: GCCGCCACCAUGG (SEQ ID NO: 68), AUG образует стартовый кодон) в свою очередь влияет на эффективность трансляции по меньшей мере одной мРНК. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одну мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно модифицировать в отношении потенциально дестабилизирующих элементов последовательности. В частности, кодирующую область и/или 5'- и/или 3'-нетранслируемую область указанной по меньшей мере одной мРНК можно модифицировать по сравнению

с конкретной мРНК дикого типа так, чтобы она не содержала дестабилизирующие элементы последовательности, при этом кодируемую аминокислотную последовательность модифицированной по меньшей мере одной мРНК предпочтительно не изменяют по сравнению с соответствующей последовательностью мРНК дикого типа. Известно, что, например, в последовательностях РНК эукариотических организмов присутствуют дестабилизирующие элементы последовательности (ДЭП), с которыми связываются сигнальные белки и регулируют ферментативное расщепление РНК *in vivo*. Следовательно, для дополнительной стабилизации по меньшей мере одной модифицированной мРНК можно осуществлять одну или несколько указанных модификаций, необязательно в области, которая кодирует антиген, антигенный белок или антигенный пептид, указанный в настоящем описании, по сравнению с соответствующей областью мРНК дикого типа таким образом, чтобы полностью или в значительной степени удалять дестабилизирующие элементы последовательности. Согласно изобретению с использованием указанных модификаций по меньшей мере из одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно также удалять ДЭП, присутствующие в нетранслируемых областях (3'UTR и/или 5'UTR). Указанные дестабилизирующие последовательности представляют собой, например, богатые AU последовательности (AURES), которые присутствуют в областях 3'UTR многочисленных нестабильных РНК (Caput и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 1986, сс. 1670-1674). Поэтому по меньшей мере одну мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, предпочтительно модифицируют по сравнению с мРНК дикого типа, так, чтобы по меньшей мере одна мРНК не содержала указанных дестабилизирующих последовательностей. Указанное также относится к тем мотивам последовательностей, которые распознаются возможными эндонуклеазами, например, к последовательности GAACAAG, которая присутствует в сегменте 3'UTR гена, который кодирует рецептор трансферина (Binder и др., EMBO J., 13, 1994, сс. 1969-1980). Указанные мотивы последовательности также предпочтительно удаляют по меньшей мере из одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении.

Согласно изобретению предпочтительно также, чтобы по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, включала по меньшей мере одну модифицированную IRES, как указано выше, и/или включала по меньшей мере одну стабилизирующую 5'- и/или 3'-

5 последовательность в модифицированной форме, например, для повышения эффективности связывания с рибосомами или для обеспечения экспрессии различных кодируемых антигенов, локализованных по меньшей мере в одной (би- или даже полицистронной) РНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении.

10 Согласно изобретению по меньшей мере одна мРНК в композиции предпочтительно включает, кроме того, по меньшей мере одну стабилизирующую 5'- и/или 3'-последовательность. Указанные стабилизирующие последовательности в нетранслируемых 5'- и/или 3'-областях удлиняют время полужизни по меньшей мере одной мРНК в цитозоле.

15 Указанные стабилизирующие последовательности характеризуются 100% гомологией последовательности с встречающимися в естественных условиях последовательностями, т.е. встречаются в вирусах, бактериях и эукариотических организмах, а также указанные последовательности можно использовать в виде частично или полностью синтетических последовательностей. Примером

20 стабилизирующих последовательностей, которые можно использовать в настоящем изобретении для стабилизации мРНК, являются нетранслируемые последовательности (UTR) гена β -глобина, например, *Homo sapiens* или *Xenopus laevis*. Другой пример стабилизирующей последовательности характеризуется

25 общей формулой (C/U)CCAN_xCCC(U/A)Py_xUC(C/U)CC (SEQ ID NO: 69), которая присутствует в 3'UTR чрезвычайно стабильной мРНК, которая кодирует α -глобин, α -коллаген-(I), 15-липоксигеназу или тирозингидроксилазу (см. Holcik и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 1997, сс. 2410-2414). Указанные

30 стабилизирующие последовательности, естественно, можно использовать по отдельности или в комбинации друг с другом, а также в комбинации с другими стабилизирующими последовательностями, которые известны специалисту в данной области. Таким образом, по меньшей мере одна мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, предпочтительно присутствует в виде мРНК, стабилизированной нетранслируемыми областями (UTR) глобина, прежде

всего, в виде мРНК, стабилизированной UTR α -глобина. Предпочтительно по меньшей мере одна мРНК в композиции содержит стабилизирующую последовательность в 3'UTR, происходящую из центральной, связывающей α -комплекс области 3'UTR гена α -глобина, такого как ген человеческого α -глобина, предпочтительно имеющий SEQ ID NO: 70:

центральная связывающая α -комплекс область 3'UTR гена α -глобина, которую в контексте настоящего описания обозначают также как «*tuag*»):

GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCCUCCUUGCACCG (SEQ ID NO: 70).

Тем не менее, можно осуществлять замены, добавления или элиминации оснований по меньшей мере в одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, предпочтительно с использованием матрицы ДНК для получения по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, с помощью хорошо известного метода сайтнаправленного мутагенеза или с использованием стратегии лигирования олигонуклеотидов (см., например, Maniatis и др., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3-е изд., изд-во Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001). В указанном процессе для получения по меньшей мере одной мРНК можно транскрибировать *in vitro* соответствующую молекулу ДНК. Указанная матрица ДНК предпочтительно включает пригодный промотор, например, промотор T7 или SP6, для транскрипции *in vitro*, за которым располагается требуемая нуклеотидная последовательность по меньшей мере одной мРНК, которую требуется получать, и сигнал терминации для транскрипции *in vitro*. Молекулу ДНК, которая образует матрицу по меньшей мере одной представляющей интерес РНК, получают ферментативной пролиферацией с последующим выделением в качестве части плазмиды, которую можно реплицировать в бактериях. Плазмиды, которые можно упомянуть в качестве пригодных согласно настоящему изобретению, включают, например, плазмиды pT7T (код доступа GenBank U26404, Lai и др., *Development*, 121, 1995, сс. 2349-2360), плазмиды серий pGEM®, например, pGEM®-1 (код доступа GenBank X65300, фирма Promega) и pSP64 (код доступа GenBank X65327), см. также Mezei и Storts, *Purification of PCR Products*, под ред. Griffin и Griffin, *PCR Technology, Current Innovation*, изд-во CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.

По меньшей мере, одну мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно стабилизировать также путем ассоциации или образования комплексов или связывания по меньшей мере одной мРНК с катионным соединением, прежде всего, с поликатионным соединением, например, с

5 поликатионным пептидом или белком. Прежде всего, эффективным является применение протамина, нуклеолина, спермина или спермидина в качестве связывающегося с нуклеиновой кислотой (мРНК) поликатионного белка. Кроме того, аналогичным образом можно использовать другие катионные пептиды или белки, такие как поли-L-лизин или гистоны. Указанная методика стабилизации

10 мРНК описана в EP-A-1083232, содержание которой в полном объеме включено в настоящее описание в качестве ссылки. Другие предпочтительные катионные соединения, которые можно использовать для стабилизации мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, включают катионные полисахариды, например, хитозан, полибрэн, полиэтиленимин (ПЭИ) или поли-

15 L-лизин (ПЛЛ) и т.п. Ассоциация или образование комплексов по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, с катионными соединениями, например, с катионными белками или катионными липидами, например, с олигофактамином (в качестве комплексообразователя на основе липида) предпочтительно повышает перенос по меньшей мере одной

20 мРНК, присутствующей в качестве фармацевтического действующего вещества, в клетки, подлежащие обработке, или в организм, нуждающийся в лечении. В данном контексте указанное также относится к стабилизирующему действию комплексообразования в отношении по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, что также поддерживает

25 стабилизацию мРНК.

Согласно другому особенно предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции в дополнительном или в альтернативном варианте может кодировать секреторный сигнальный пептид. Указанные сигнальные пептиды представляют собой (но, не ограничиваясь

30 только ими) последовательности, длина которых обычно составляет приблизительно 15-30 аминокислот, и которые предпочтительно расположены на N-конце кодируемого пептида. Сигнальные пептиды, указанные в настоящем описании, предпочтительно обеспечивают перенос антигена, антигенного белка

или антигенного пептида, кодируемого по меньшей мере одной мРНК, которая входит в композицию, в определенный компартмент клетки, предпочтительно на клеточную поверхность, в эндоплазматический ретикулум (ЭР) или в эндосомальный-липосомальный компартмент. Примеры последовательностей секреторных сигнальных пептидов, указанных в настоящем описании, включают (но, не ограничиваясь только ими), сигнальные последовательности классических или не классических молекул ГКГС (например, сигнальные последовательности молекул ГКГС I и ГКГС II, например, HLA-A*0201 ГКГ класса I), сигнальные последовательности цитокинов или иммуноглобулинов, указанных в настоящем описании, сигнальные последовательности инвариантной цепи иммуноглобулинов или антител, указанных в настоящем описании, сигнальные последовательности Lamp1, тапазина, Egp57, калретикулина, калнексина и других мембранно-ассоциированных белков или белков, ассоциированных с эндоплазматическим ретикулумом (ЭР) или с эндосомальным-лизосомальным компартментом. В настоящем изобретении наиболее предпочтительно можно использовать сигнальные последовательности молекулы HLA-A*0201 ГКГС класса I.

Любую из указанных выше модификаций можно применять в отношении по меньшей мере одной мРНК в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, и, кроме того, в отношении любой РНК, применяемой в настоящем изобретении, и можно, если это возможно или необходимо, объединять друг с другом в любой комбинации при условии, что указанные комбинации модификаций не оказывают отрицательного действия друг на друга в отношении по меньшей мере одной мРНК. Соответствующий выбор может сделать специалист в данной области.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, которая модифицирована согласно указанному в настоящем описании, содержащую по меньшей мере одну кодирующую последовательность, которая выбрана из последовательностей РНК, идентичных или идентичных по меньшей мере на 80% РНК-последовательности SEQ ID NO: 3, 6, 9, 12, 15, 18 или 25. Еще более предпочтительно композиция содержит шесть мРНК, при этом кодирующая последовательность каждой мРНК идентична или по меньшей мере на 80%

идентична одной из РНК-последовательностей SEQ ID NO: 3, 6, 9, 12, 15, 18 или 25.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения каждый из шести антигенов в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, может кодироваться одной (моноцистронной) мРНК. Другими словами, композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, может содержать шесть (моноцистронных) мРНК, при этом каждая из указанных шести (моноцистронных) мРНК может кодировать только один антиген, указанный выше.

В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, каждая из которых модифицирована согласно указанному в настоящем описании, при этом одна мРНК кодирует 5T4, одна мРНК кодирует сурвивин, одна мРНК кодирует NY-ESO-1, одна мРНК кодирует MAGE-C1, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и одна мРНК кодирует MUC1 или их фрагменты или варианты соответственно.

В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, при этом одна мРНК кодирует 5T4 и содержит кодирующую последовательность, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 3, одна мРНК кодирует сурвивин и содержит кодирующую последовательность, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 6, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и содержит кодирующую последовательность, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 9, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и содержит кодирующую последовательность, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 12 или 25, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и содержит кодирующую последовательность, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 15, и одна мРНК кодирует MUC1 и содержит кодирующую последовательность, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 18 (или фрагменты или варианты каждой из указанных последовательностей), и необязательно также содержит эксципиенты.

В одном из вариантов осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична РНК-последовательности SEQ ID NO: 1, 4, 7, 10, 13 или 16. Еще более

предпочтительно композиция содержит шесть мРНК, при этом каждая мРНК идентична или по меньшей мере на 80% идентична одной из РНК-последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 1, 4, 7, 10, 13 или 16.

5 В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, при этом одна мРНК кодирует 5T4 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 1, одна мРНК кодирует сурвивин и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 4, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 7, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и идентична или по
10 меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 10, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 13, и одна мРНК кодирует MUC1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 16 (или фрагменты или варианты каждой из указанных последовательностей), и необязательно также содержит эксципиенты.

15 Согласно изобретению по меньшей мере одна мРНК в композициях, описанных выше, содержит гистоновую структуру типа «стебель-петля» в 3'UTR-области. Предпочтительно композиция содержит шесть мРНК, причем каждая из мРНК содержит гистоновую структуру типа «стебель-петля», указанную в настоящем описании.

20 В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит шесть мРНК, при этом одна мРНК кодирует 5T4 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 19, одна мРНК кодирует сурвивин и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 20, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ
25 ID NO: 21, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 22, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 23, и одна мРНК кодирует MUC1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 24 (или фрагменты или варианты каждой из указанных последовательностей), и
30 необязательно также содержит эксципиенты.

Согласно другому варианту осуществления изобретения композиция, предлагаемая в изобретении, может содержать адьювант для усиления иммуностимулирующих свойств композиции. В данном контексте адьювант

обозначает любое соединение, которое можно использовать для облегчения введения и доставки композиции, предлагаемой в настоящем изобретении. Кроме того, указанный адъювант может (но, не ограничиваясь только ими) инициировать или усиливать иммунный ответ врожденной иммунной системы, т.е. неспецифический иммунный ответ. Другими словами, после введения композиции, предлагаемая в настоящем изобретении, как правило, инициирует адаптивный иммунный ответ, благодаря наличию по меньшей мере шести антигенов, кодируемых по меньшей мере одной мРНК, содержащейся в композиции, предлагаемой в настоящем изобретении. Кроме того, композиция, предлагаемая в настоящем изобретении, может индуцировать (поддерживающий) врожденный иммунный ответ благодаря добавлению адъюванта, указанного в настоящем описании, в композицию, предлагаемую в настоящем изобретении.

Указанный адъювант можно выбирать из любого известного специалисту в данной области, пригодного в данном случае адъюванта, т.е. адъюванта, поддерживающего индукцию иммунного ответа у млекопитающего. Предпочтительно адъювант выбирают из группы, включающей (но, не ограничиваясь только ими) TDM, MDP, мурамилдипептид, плуроники, раствор квасцов, гидроксид алюминия, ADJUMER (полифосфазен); алюмофосфатный гель; глюканы из водорослей; альгамулин; гель гидроксида алюминия (квасцы); гель гидроксида алюминия с высокой степенью адсорбции белка; гель гидроксида алюминия с низкой вязкостью; AF или SPT (эмульсия, включающая 5% сквалана, 0,2% Твин 80, 1,25% плуроника L121, забуференный фосфатом физиологический раствор, pH 7,4); AVRIDINE™ (пропандиамин); BAY R1005™ (гидроацетат (N-(2-дезоксидеокси-2-L-лейциламино-β-D-глюкопиранозил)-N-октадецилдодеканоиламида); CALCITRIOL™ (1α,25-дигидроксивитамин D3); кальцийфосфатный гель; CAPTM (кальцийфосфатные наночастицы); холерный холотоксин; слитый белок холерный токсин-A1-белок-A-D-фрагмент, субъединицу В холерного токсина; CRL 1005 (блоксополимер P1205); цитокинсодержащие липосомы; DDA (бромид диметилдиоктадециламмония); DHEA (дегидроэпиандростерон); DMPC (димиристоилфосфатидилхолин); DMPG (димиристоилфосфатидилглицерин); комплекс ДОС/квасцы (натриевая соль дезоксихолевой кислоты); полный адъювант Фрейнда; неполный адъювант

Фрейнда; γ -инулин; адьювант Гербу (смесь, включающая: I) N-ацетилглюкозаминил-(P1-4)-N-ацетилмурамил-L-аланил-D-глутамин (GMDP), II) хлорид диметилдиоктадециламмония (DDA), III) комплекс цинковая соль L-пролина (ZnPro-8), GM-CSF); GMDP (N-ацетилглюкозаминил-(β 1-4)-N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамин); имиквимод (1-(2-метилпропил)-1H-имидазо[4,5-с]хинолин-4-амин); ImmTher™ (дипальмитат N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-Ala-D-изоGlu-L-Ala-глицерина); DRV (иммунолипосомы, полученные путем дегидратации-регидратации везикул); интерферон- γ ; интерлейкин-1 β ; интерлейкин-2; интерлейкин-7; интерлейкин-12; ISCOMS™; ISCOPREP 7.0.3.™; липосомы; LOXORIBINE™ (7-аллил-8-оксогуанозин); оральная адьювант LT (лабильный энтеротоксин-протоксин из *E. coli*); микросферы и микрочастицы любого состава; MF59™ (водная эмульсия сквалена); MONTANIDE ISA 51™ (очищенный неполный адьювант Фрейнда); MONTANIDE ISA 720™ (метаболизируемый масляный адьювант); MPL™ (3-Q-дезацил-4'-монофосфорил липид A); липосомы MTP-PE и MTP-PE (однатриевая соль (N-ацетил-L-аланил-D-изоглутаминил-L-аланин-2-(1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-(гидроксифосфорилокси))этиламида); MURAMETIDE™ (Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃); MURAPALMITINE™ и D-MURAPALMITINE™ (Nac-Mur-L-Thr-D-изоGln-sn-глицериндипальмитоил); NAGO (нейраминидаза-галактозоксидаза); наносферы или наночастицы любого состава; NISV (везикулы из неионогенного поверхностно-активного вещества); PLEURAN™ (β -глюкан); PLGA, PGA и PLA (гомо- и сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, микро/наносферы); ПЛЮРОНИК L121™, ПММА (полиметилметакрилат); PODDS™ (протеиноидные микросферы); производные полиэтиленкарбамата; поли-rA/поли-rU (комплекс полиадениловая кислота/полиуридиловая кислота); полисорбат 80 (Твин 80); белковые кохлеаты (фирма Avanti Polar Lipids, Inc., Алабастер, шт. Алабама), STIMULON™ (OS-21); Quil-A (сапонин Quil-A); S-28463 (4-аминотекдиметил-2-этоксиметил-1H-имидазо[4,5-с]хинолин-1-этанол); SAF-1™ («композиция адьювантов фирмы Syntex»); протеолипосомы вируса Сендаи и липидные матрицы, содержащие белки вируса Сендаи; Спан-85 (сорбитантриолеат); Спекол (эмульсия, содержащая Маркол (Marcol) 52, Спан 85 и Твин 85); сквален или Robane® (2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракозан и 2,6,10,15,19,23-гексаметил-

2,6,10,14,18,22-тетракозагексан); стеарилтирозин (гидрохлорид
октадецилтирозина), Theramid® (N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-
Ala-D-изоGlu-L-Ala-дипальмитоксипропиламид); Theronyl-MDP (Termurtide™
или [thr 1]-MDP, N-ацетилмурамил-L-треонил-D-изоглютамин); Ту-частицы
5 (частицы Ту-ВПЧ или вирусоподобные частицы); липосомы Уолтера-Рида
(липосомы, содержащие липид А, адсорбированный на гидроксиде алюминия) и
липopeпиды, включая Pam3Cys, прежде всего, соли алюминия, такие как адью-
фос (Adju-phos), алгидролгель, регидрогель; эмульсии, включая CFA, SAF, IFA,
MF59, провакс, титермакс (TiterMax), монтанид, ваксфектин, сополимеры,
10 включая Optivax (CRL1005), L121, полоксамер 4010 и т.п., липосомы, включая
липосомы-невидимки (Stealth), кохлеаты, включая BIORAL; адьюванты
растительного происхождения, включая QS21, Quil A, Iscomatrix, ISCOM;
адьюванты, пригодные для совместной стимуляции, включая томатин,
биополимеры, включая PLG, PMM, инулин; адьюванты микробного
15 происхождения, включая ромуртид, детокс (DETOX), MPL, CWS, маннозу,
нуклеотидные последовательности CpG, CpG7909, лиганды TLR 1-10 человека,
лиганды TLR 1-13 мыши, ISS-1018, IC31, имидазохинолины, амплиген, Ribis29,
IMOXine, IRIV, ВПЧ, холерный токсин, термолабильный токсин, Pam3Cys,
флагеллин, GPI (гликозилфосфатидинозитол)-якорь), LNFPIII/Льюис X,
20 противомикробные пептиды, UC-1V150, слитый белок RSV, cdiGMP, а также
адьюванты, пригодные в качестве антагонистов, включая нейропептид CGRP.

Пригодные адьюванты можно выбирать также из катионных или
поликатионных соединений, при этом адьювант предпочтительно получают
путем образования комплексов по меньшей мере одной мРНК, которая входит в
25 композицию, предлагаемой в настоящем изобретении, с катионным или
поликатионным соединением. Ассоциация или образование комплексов по
меньше мере одной мРНК, которая входит в композицию, с катионными или
поликатионными соединениями, указанными в настоящем описании,
предпочтительно придает по меньшей мере одной мРНК в композиции свойства
30 адьюванта и оказывает стабилизирующее действие на мРНК в композиции.
Прежде всего, предпочтительные катионные или поликатионные соединения
выбирают из катионных или поликатионных пептидов или белков, включая
протамин, нуклеолин, спермин или спермидин, или других катионных пептидов

или белков, таких как поли-L-лизин (ПЛЛ), полиаргинин, основные полипептиды, проникающие в клетки пептиды (ПКП), включая ВИЧ-связывающие пептиды, Tat, ВИЧ-1 Tat (ВИЧ), полученные из Tat пептиды, пенетратин, полученные из VP22 пептиды или аналогичные пептиды, VP22 HSV (вирус герпеса простого),

5 MAP, KALA или домены белковой трансдукции (PTD), PpT620, богатые пролином пептиды, богатые аргинином пептиды, богатые лизином пептиды, MPG-пептид(ы), Per-1, L-олигомеры, пептид(ы) кальцитонина, пептиды, полученные из Antennapedia (прежде всего, из *Drosophila antennapedia*), pAntp, pIsl, FGF, лактоферрин, транспортан, буфорин-2, Vac715-24, SynB, SynB(1),

10 pVEC, полученные из CT пептиды, SAP, протамин, спермин, спермидин или гистоны. Кроме того, предпочтительные катионные или поликатионные соединения включают катионные полисахариды, например, хитозан, полибрен, катионные полимеры, например, полиэтиленимин (ПЭИ), катионные липиды, например, DOTMA: хлорид [1-(2,3-сиолеилокси)пропил]-N,N,N-

15 триметиламмония, DMRIE, ди-C14-амидин, DOTIM, SAINT, DC-Chol, BGTC, СТАР, DOPC, DODAP, DOPE: диолеилфосфатидилэтаноламин, DOSPA, DODAB, DOIC, DMEPC, DOGS: диоктадециламидоглицилспермин, DIMRI: бромид димиристооксипропилдиметилгидроксиэтиламмония, DOTAP: диолеилокси-3-

20 (триметиламмоний)пропан, DC-6-14: хлорид O,O-дитетрадеканойл-N-(α -триметиламмонийацетил)диэтанолamina, CLIP1: хлорид *rac*[(2,3-диоктадецилоксипропил)(2-гидроксиэтил)]диметиламмония, CLIP6: *rac*[2(2,3-дигексадецилоксипропил)оксиметилокси]этил]триметиламмоний, CLIP9: *rac*[2(2,3-дигексадецилоксипропил)оксисукцинилокси]этил]триметиламмоний, олигофектамин, или катионные или поликатионные полимеры, например,

25 модифицированные полиаминокислоты, такие как полимеры β -аминокислот или обращенные полиамиды и т.п., модифицированные полиэтилены, такие как ПВП (поли(N-этил-4-винилпириднийбромид)) и т.п., модифицированные акрилаты, такие как пДМАЭМА (поли(диметиламиноэтилметилакрилат)) и т.п., модифицированные амидоамины, такие как ПАМАМ (поли(амидоамин)) и т.п.,

30 модифицированные сложные поли- β -аминоэфир(ы) (ПБАЭ), такие как модифицированные в диаминоконцевом фрагменте сополимеры 1,4-бутандиолдиакрилата и 5-амино-1-пентанола и т.п., дендримеры, такие как дендримеры полипропиламина или дендримеры на основе ПАМАМ и т.п.,

полиимин(ы), такие как полиэтиленимин (ПЭИ), полипропиленимин и т.п., полиаллиламин, полимеры на основе сахарного каркаса, такие как полимеры на основе циклодекстрина, полимеры на основе декстрана, хитозан и т.п., силановые полимеры, такие как сополимеры PMOXA-PDMS и т.п.,

5 блокполимеры, включающие комбинацию одного или более катионных блоков (например, выбранных из катионных полимеров, указанных выше) и одного или нескольких гидрофильных или гидрофобных блоков (таких, например, как полиэтиленгликоль) и т.п.

Кроме того, предпочтительные катионные или поликатионные белки или

10 пептиды, которые можно использовать в качестве адъюванта посредством образования комплексов по меньшей мере с одной мРНК, входящей в композицию, можно выбирать из следующих белков или пептидов общей формулы (III): $(Arg)_l(Lys)_m(His)_n(Orn)_o(Xaa)_x$, где $l+m+n+o+x=8-15$, а l, m, n или o каждый независимо друг от друга может обозначать любое число,

15 выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15, при условии, что общее содержание Arg, Lys, His и Orn составляет по меньшей мере 50% в пересчете на все аминокислоты олигопептида, а Xaa может обозначать любую аминокислоту, выбранную из нативных (встречающихся в естественных условиях) или ненативных аминокислот, за исключением Arg, Lys, His или Orn,

20 и x может обозначать любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3 или 4, при условии, что общее содержание Xaa не превышает 50% в пересчете на все аминокислоты олигопептида. В этом контексте наиболее предпочтительными олигопептидами аргинина являются, например, Arg₇, Arg₈, Arg₉, Arg₇, H₃R₉, R₉H₃, H₃R₉H₃, YSSR₉SSY, (RKH)₄, Y(RKH)₂R и т.п.

25 Соотношение мРНК и катионного или поликатионного соединения в адъювантном компоненте можно рассчитывать на основе отношения азота/фосфата (N/P-отношение) всего содержащего мРНК комплекса, т.е. отношение положительно заряженных атомов (азот) катионного или

30 поликатионного соединения и отрицательно заряженных атомов фосфата нуклеиновых кислот. Например, 1 мкг РНК, как правило, содержит примерно 3 нмоля остатков фосфата, при условии, что для РНК характерно статистическое распределение оснований. Кроме того, 1 мкг пептида, как правило, содержит примерно x нмоль остатков азота в зависимости от молекулярной массы и

количества основных аминокислот. Например, при расчете для (Arg)₉ (молекулярная масса 1424 г/моль, 9 атомов азота) 1 мкг(Arg)₉ содержит примерно 700 пмоль (Arg)₉ и, таким образом, $700 \times 9 = 6300$ пмоль основных аминокислот = 6,3 нмоля атомов азота. Для массового соотношения РНК/(Arg)₉, составляющего примерно 1:1, можно рассчитать, что отношение N/P составляет примерно 2. Например, при расчете для протамина (молекулярная масса примерно 4250 г/моль, 21 атом азота, когда применяют протамин лосося) с массовым соотношением примерно 2:1 и 2 мкг РНК, можно рассчитать наличие в РНК 6 нмоль фосфата; 1 мкг протамина содержит примерно 235 пмоль молекул протамина и, таким образом, $235 \times 21 = 4935$ пмоль основных атомов азота = 4,9 нмоля атомов азота. Для массового соотношения РНК/протамин, составляющего примерно 2:1, можно рассчитать, что отношение N/P составляет примерно 0,81. Для массового соотношения РНК/протамин, составляющего примерно 8:1, можно рассчитать, что отношение N/P составляет примерно 0,2. В контексте настоящего изобретения отношение N/P предпочтительно находится в диапазоне примерно 0,1-10, предпочтительно в диапазоне примерно 0,3-4 и наиболее предпочтительно в диапазоне примерно 0,5-2 или 0,7-2, в зависимости от отношения РНК:пептид в комплексе, и наиболее предпочтительно в диапазоне примерно 0,7-1,5.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию получают с использованием двух отдельных стадий для достижения, как эффективного иммуностимулирующего действия, так и эффективной трансляции по меньшей мере одной мРНК, предлагаемой в изобретении. При этом получают так называемый «адьювантный компонент» путем образования комплекса – на первой стадии - по меньшей мере одной мРНК адьювантного компонента с катионным или поликатионным соединением в специфическом соотношении для формирования стабильного комплекса. В этом контексте важно, чтобы в адьювантном компоненте отсутствовало или сохранялось лишь в ничтожно малых количествах свободное катионное или поликатионное соединение после образования комплекса с мРНК. Таким образом, отношение мРНК и катионного или поликатионного соединения в адьювантном компоненте, как правило, выбирают в таком диапазоне, чтобы в композиции мРНК полностью была включена в комплекс и отсутствовало или сохранялось лишь в ничтожно малых

количествах свободное катионное или поликатионное соединение.

Предпочтительно отношение в адьювантном компоненте, т.е. отношение мРНК и катионного или поликатионного соединения, выбирают из диапазона, составляющего примерно 6:1 (мас./мас.) до примерно 0,25:1 (мас./мас.), более предпочтительно от примерно 5:1 (мас./мас.) до примерно 0,5:1 (мас./мас.), еще более предпочтительно от примерно 4:1 (мас./мас.) до примерно 1:1 (мас./мас.) или от примерно 3:1 (мас./мас.) до примерно 1:1 (мас./мас.) и наиболее предпочтительно от примерно 3:1 (мас./мас.) до примерно 2:1 (мас./мас.).

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения по меньшей мере одну мРНК, кодирующую антигены, предлагаемые в изобретении, добавляют на второй стадии к входящей в комплекс мРНК адьювантного компонента для получения (иммуностимулирующей) композиции, предлагаемой в изобретении. При этом по меньшей мере одну мРНК, предлагаемую в изобретении, добавляют в виде свободной мРНК, т.е. мРНК, которая не входит в комплекс с другими соединениями. Перед добавлением по меньшей мере одну свободную мРНК не включают в комплекс и предпочтительно после добавления адьювантного компонента она не должна подвергаться какой-либо поддающейся обнаружению или существенной реакции комплексообразования. Это является следствием сильного связывания катионного или поликатионного соединения с указанной выше по меньшей мере одной мРНК в адьювантном компоненте. Другими словами, когда по меньшей мере одну свободную мРНК, кодирующую по меньшей мере один из антигенов, предлагаемых в изобретении, добавляют к «адьювантному компоненту», то предпочтительно в нем отсутствует соединение, которое может образовывать комплекс по меньшей мере с одной свободной мРНК. Таким образом, становится возможной эффективная трансляция *in vivo* по меньшей мере одной свободной мРНК в композиции, предлагаемой в изобретении. При этом по меньшей мере одна свободная мРНК может присутствовать в виде моно-, би- или полицистронной мРНК, т.е. РНК, которая несет кодирующие последовательности одного или нескольких белков. Указанные кодирующие последовательности в би- или даже полицистронной мРНК могут разделяться по меньшей мере одной IRES-последовательностью, например, представленной в настоящем описании.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения по меньшей мере одна свободная мРНК, которая входит в предлагаемую в изобретении композицию, может быть такой же или отличаться от по меньшей мере одной мРНК адъювантного компонента предлагаемой в изобретении композиции, в зависимости от конкретных требований к терапии. Еще более предпочтительно по меньшей мере одна свободная мРНК, которая входит в предлагаемую в изобретении композицию, идентична по меньшей мере одной мРНК адъювантного компонента в предлагаемой в изобретении композиции.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, где по меньшей мере одна мРНК кодирует указанные выше антигены и где указанная мРНК присутствует в композиции частично в виде свободной мРНК и частично в виде входящей в комплекс мРНК. Предпочтительно по меньшей мере одна мРНК, кодирующая один или несколько антигенов, указанных выше, входит в описанный выше комплекс, и такую же по меньшей мере одну мРНК затем добавляют в виде свободной мРНК, при этом предпочтительно соединение, которое применяют для образования комплекса с мРНК, не присутствует в свободной форме в композиции в момент добавления компонента в виде свободной мРНК.

Отношение первого компонента (т.е. адъювантного компонента, содержащего или состоящего по меньшей мере из одной мРНК в комплексе с катионным или поликатионным соединением) ко второму компоненту (т.е. по меньшей мере одной свободной мРНК) в предлагаемой в изобретении композиции можно выбрать в зависимости от специфических требований к конкретной терапии. Как правило, отношение мРНК в адъювантном компоненте к по меньшей мере одной свободной мРНК (мРНК в адъювантном компоненте: свободная мРНК) в предлагаемой в изобретении композиции выбирают таким образом, чтобы вызывать выраженную стимуляцию врожденной иммунной системы с помощью адъювантного компонента. Независимо от этого отношение выбирают таким образом, чтобы можно было получать значительное количество по меньшей мере одной свободной мРНК *in vivo*, обеспечивающее эффективную трансляцию и концентрацию экспрессируемого белка *in vivo*, например, шести указанных выше антигенов и т.п. Предпочтительно отношение мРНК в адъювантном компоненте: свободная мРНК в предлагаемой в изобретении

композиции выбирают из диапазона, составляющего от примерно 5:1 (мас./мас.) до примерно 1:10 (мас./мас.), более предпочтительно от примерно 4:1 (мас./мас.) до примерно 1:8 (мас./мас.), еще более предпочтительно из диапазона, составляющего от примерно 3:1 (мас./мас.) до примерно 1:5 (мас./мас.) или 1:3 (мас./мас.), и наиболее предпочтительно отношение мРНК в адьювантном компоненте: свободная мРНК в предлагаемой в изобретении композиции выбирают из отношения, составляющего примерно 1:1 (мас./мас.).

В дополнительном или альтернативном варианте отношение первого компонента (т.е. адьювантного компонента, содержащего или состоящего по меньшей мере из одной мРНК, входящей в комплекс с катионным или поликатионным соединением) и второго компонента (т.е. по меньшей мере одной свободной мРНК) можно рассчитывать на основе отношения азота/фосфата (N/P-отношение) всего комплекса мРНК. В контексте настоящего изобретения N/P-отношение предпочтительно находится в диапазоне, составляющем примерно 0,1-10, предпочтительно в диапазоне, составляющем примерно 0,3-4, и наиболее предпочтительно в диапазоне, составляющем примерно 0,5-2 или 0,7-2, касательно отношения мРНК:пептид в комплексе, и наиболее предпочтительно в диапазоне, составляющем примерно 0,7-1,5.

В дополнительном или альтернативном варианте отношение первого компонента (т.е. адьювантного компонента, содержащего или состоящего по меньшей мере из одной мРНК, входящей в комплекс с катионным или поликатионным соединением) и второго компонента (т.е. по меньшей мере одной свободной мРНК) в предлагаемой в изобретении композиции можно выбирать также на основе молярного отношения обеих мРНК относительно друг друга, т.е. мРНК в адьювантном компоненте, образующей комплекс с катионным или поликатионным соединением, к по меньшей мере одной свободной мРНК второго компонента. Как правило, молярное отношение мРНК адьювантного компонента к по меньшей мере одной свободной мРНК второго компонента можно выбирать так, чтобы молярное отношение удовлетворяло указанным выше требованиям к массовым (мас./мас.) отношениям и/или отношениям N/P. Более предпочтительно молярное отношение мРНК адьювантного компонента к по меньшей мере одной свободной мРНК второго компонента можно выбирать, например, из молярных отношений, составляющих примерно 0,001:1, 0,01:1,

0,1:1, 0,2:1, 0,3:1, 0,4:1, 0,5:1, 0,6:1, 0,7:1, 0,8:1, 0,9:1, 1:1, 1:0,9, 1:0,8, 1:0,7, 1:0,6, 1:0,5, 1:0,4, 1:0,3, 1:0,2, 1:0,1, 1:0,01, 1:0,001 и т.д., или из любого диапазона, образованного любыми двумя из вышеуказанных величин, например, диапазона, выбранного из следующих диапазонов: примерно от 0,001:1 до 5 1:0,001, включая диапазоны примерно от 0,01:1 до 1:0,001, от 0,1:1 до 1:0,001, от 0,2:1 до 1:0,001, от 0,3:1 до 1:0,001, от 0,4:1 до 1:0,001, от 0,5:1 до 1:0,001, от 0,6:1 до 1:0,001, от 0,7:1 до 1:0,001, от 0,8:1 до 1:0,001, от 0,9:1 до 1:0,001, от 1:1 до 1:0,001, от 1:0,9 до 1:0,001, от 1:0,8 до 1:0,001, от 1:0,7 до 1:0,001, от 1:0,6 до 1:0,001, от 1:0,5 до 1:0,001, от 1:0,4 до 1:0,001, от 1:0,3 до 1:0,001, от 1:0,2 до 10 1:0,001, от 1:0,1 до 1:0,001, от 1:0,01 до 1:0,001, или диапазонов примерно от 0,01:1 до 1:0,01, от 0,1:1 до 1:0,01, от 0,2:1 до 1:0,01, от 0,3:1 до 1:0,01, от 0,4:1 до 1:0,01, от 0,5:1 до 1:0,01, от 0,6:1 до 1:0,01, от 0,7:1 до 1:0,01, от 0,8:1 до 1:0,01, от 0,9:1 до 1:0,01, от 1:1 до 1:0,01, от 1:0,9 до 1:0,01, от 1:0,8 до 1:0,01, от 1:0,7 до 1:0,01, от 1:0,6 до 1:0,01, от 1:0,5 до 1:0,01, от 1:0,4 до 1:0,01, от 1:0,3 до 15 1:0,01, от 1:0,2 до 1:0,01, от 1:0,1 до 1:0,01, от 1:0,01 до 1:0,01, включая диапазоны примерно от 0,001:1 до 1:0,01, от 0,001:1 до 1:0,1, от 0,001:1 до 1:0,2, от 0,001:1 до 1:0,3, от 0,001:1 до 1:0,4, от 0,001:1 до 1:0,5, от 0,001:1 до 1:0,6, от 0,001:1 до 1:0,7, от 0,001:1 до 1:0,8, от 0,001:1 до 1:0,9, от 0,001:1 до 1:1, от 0,001 до 0,9:1, от 0,001 до 0,8:1, от 0,001 до 0,7:1, от 0,001 до 0,6:1, от 0,001 до 0,5:1, 20 от 0,001 до 0,4:1, от 0,001 до 0,3:1, от 0,001 до 0,2:1, от 0,001 до 0,1:1, или диапазоны примерно от 0,01:1 до 1:0,01, от 0,01:1 до 1:0,1, от 0,01:1 до 1:0,2, от 0,01:1 до 1:0,3, от 0,01:1 до 1:0,4, от 0,01:1 до 1:0,5, от 0,01:1 до 1:0,6, от 0,01:1 до 1:0,7, от 0,01:1 до 1:0,8, от 0,01:1 до 1:0,9, от 0,01:1 до 1:1, от 0,001 до 0,9:1, от 0,001 до 0,8:1, от 0,001 до 0,7:1, от 0,001 до 0,6:1, от 0,001 до 0,5:1, от 0,001 до 0,4:1, от 0,001 до 0,3:1, от 0,001 до 0,2:1, от 0,001 до 0,1:1 и т.д. 25

Еще более предпочтительно молярное отношение мРНК адьювантного компонента к по меньшей мере одной свободной мРНК второго компонента можно выбирать из отношения примерно от 0,01:1 до 1:0,01. Наиболее предпочтительно молярное отношение мРНК адьювантного компонента к по 30 меньшей мере одной свободной мРНК второго компонента можно выбирать, например, из молярного отношения, составляющего примерно 1:1. Можно применять любое из указанных выше определений касательно массового (мас./мас.) отношения и/или отношения N/P.

Приемлемые адъюванты можно выбирать также из нуклеиновых кислот, имеющих формулу (IV): $G_l X_m G_n$, в которой: G обозначает гуанозин, урацил или аналог гуанозина или урацила; X обозначает гуанозин, урацил, аденозин, тимидин, цитозин или аналог вышеуказанных нуклеотидов; l обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $l = 1$, то G представляет собой гуанозин или его аналог, когда $l > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог; m обозначает целое число и обозначает по меньшей мере 3; при этом, когда $m = 3$, то X представляет собой урацил или его аналог, когда $m > 3$, то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных урацилов или аналогов урацила; n обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $n = 1$, то G представляет собой гуанозин или его аналог, когда $n > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляет собой гуанозин или его аналог.

Другие приемлемые адъюванты можно выбирать также из нуклеиновых кислот, имеющих формулу (V): $C_l X_m C_n$, в которой: C обозначает цитозин, урацил или аналог цитозина или урацила; X обозначает гуанозин, урацил, аденозин, тимидин, цитозин или аналог вышеуказанных нуклеотидов; l обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $l = 1$, то C представляет собой цитозин или его аналог, когда $l > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или его аналог; m обозначает целое число и обозначает по меньшей мере 3; когда $m = 3$, X представляет собой урацил или его аналог, когда $m > 3$, то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных урацила или аналогов урацила; n обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $n = 1$, то C представляет собой цитозин или его аналог, когда $n > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или его аналог.

Еще одним объектом настоящего изобретения может служить вакцина, основой которой является по меньшей мере одна мРНК, предпочтительно по меньшей мере одна из шести различных видов мРНК, кодирующих по меньшей мере указанные выше антигены 5T4, сурвивин, NY-ESO-1, MAGE-C1, MAGE-C2 и MUC-1. Таким образом, основой предлагаемой в изобретении вакцины являются те же самые компоненты, что и в композиции, описанной выше. В такой же степени это можно отнести к представленным выше понятиям, относящимся к

предлагаемой в изобретении композиции. Однако предлагаемая в изобретении вакцина может находиться в физически другой форме и ее можно вводить с использованием других стадий введения. Предлагаемая в изобретении вакцина может соответствовать предлагаемой в изобретении композиции, если

5 представляющие собой мРНК компоненты находятся в виде одной индивидуальной композиции. Однако предлагаемая в изобретении вакцина может находиться, например, в виде физически отдельных форм. Например, виды мРНК можно включать в две различные композиции, каждая из которых может содержать по меньшей мере один из видов мРНК (например, три

10 различных вида мРНК), кодирующих три различных антигена, которые можно объединять или можно не объединять. Кроме того, предлагаемая в изобретении вакцина может представлять собой комбинацию трех различных композиций, при этом каждая композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует два из указанных выше шести антигенов. Или вакцина может

15 представлять собой комбинацию по меньшей мере одной мРНК, предпочтительно шести мРНК, каждая из которых кодирует один из указанных выше шести антигенов. Вакцину можно объединять с получением одной индивидуальной композиции перед ее применением или можно использовать таким путем, при котором требуется осуществлять более одной обработки для

20 введения различных видов мРНК, которые кодируют шесть указанных видов антигенов. Если вакцина содержит по меньшей мере одну молекулу мРНК, как правило, по меньшей мере две молекулы мРНК, которые кодируют указанные выше шесть антигенов, то ее можно, например, применять с использованием одного индивидуального введения (объединяющего все виды мРНК), с

25 использованием двух различных введений (например, при каждой обработке осуществляют введение молекул мРНК, которые кодируют три из указанных выше шести антигенов), трех, четырех, пяти или шести введений (в случае, когда все виды мРНК кодируют один из указанных выше шести антигенов, и они являются физически разделенными). Таким образом, под вакциной,

30 предлагаемой в настоящем изобретении, подразумевают любую комбинацию моно-, би- или полицистронных мРНК, кодирующих указанные выше шесть антигенов (и необязательно дополнительные антигены), в виде отдельных субстанций (содержащих один из видов мРНК) или в виде объединенной

субстанции (содержащей более одного из видов мРНК). Таким образом, в конкретном предпочтительном варианте вакцины, предлагаемой в изобретении, каждый из антигенов, предлагаемых в изобретении, кодируется индивидуальной (моноцистронной) мРНК, которую вводят отдельно от других.

5 Также как в случае композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, компоненты вакцины могут находиться в жидкой или сухой (лиофилизированной) форме. Они могут содержать дополнительные компоненты, прежде всего дополнительные компоненты, способствующие ее фармацевтическому применению. Предлагаемая в изобретении вакцина или
10 предлагаемая в изобретении композиция может содержать дополнительно, например, фармацевтически приемлемый носитель и/или дополнительные вспомогательные субстанции и добавки и/или адъюванты.

Предлагаемая в изобретении вакцина или композиция, как правило, содержит в «безопасном и эффективном количестве» по меньшей мере одну
15 мРНК указанной выше композиции, которая кодирует указанные выше антигены. В контексте настоящего описания под «безопасным и эффективным количеством» предпочтительно подразумевается количество по меньшей мере одной мРНК композиции или вакцины, указанной выше, которое является достаточным для оказания значительного положительного действия на
20 состояния, подлежащие лечению, при раке легких, предпочтительно немелкоклеточном раке легких (NSCLC), более предпочтительно на состояния при трех основных подтипах NSCLC, включая (но, не ограничиваясь только ими) плоскоклеточную карциному легких, аденокарциному и крупноклеточную карциному легких. Однако в то же время «безопасное и эффективное
25 количество» является достаточно небольшим, чтобы избежать серьезных побочных действий, другими словами, обеспечивать разумное соотношение между преимуществом и риском. Определение этих пределов, как правило, находится в компетенции осуществляющего лечение врача. Касательно предлагаемой в изобретении вакцины или композиции понятие «безопасное и
30 эффективное количество» предпочтительно означает количество мРНК (и, как следствие, кодируемых антигенов), которое можно применять для стимуляции приобретенного иммунитета и при этом не должны развиваться избыточные или повреждающие иммунные ответные реакции, но предпочтительно указанные

ответные реакции не должны быть ниже поддающегося измерению уровня. Кроме того, такое «безопасное и эффективное количество» по меньшей мере одной мРНК, входящей в состав композиции или вакцины, указанной выше, можно выбрать в зависимости от типа мРНК, например, в зависимости от

5 использования моноцистронной, би- или даже полицистронной мРНК, так как би- или даже полицистронная мРНК вызывает более эффективную экспрессию кодируемого(ых) антигена(ов) по сравнению с таким же количеством моноцистронной мРНК. Более того, понятие «безопасное и эффективное количество» по меньшей мере одной мРНК в составе композиции или вакцины,

10 описанной выше, может изменяться в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, а также от возраста и физического состояния пациента, нуждающегося в лечении, от тяжести состояния, продолжительности лечения, конкретного фармацевтически приемлемого носителя и аналогичных факторов, которые находятся в компетенции лечащего врача. Вакцину или композицию,

15 предлагаемую в изобретении, можно применять в медицине и в ветеринарии в виде фармацевтической композиции и в виде вакцины.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения по меньшей мере одна мРНК в композиции, вакцине или составе из компонентов набора, предлагаемом в изобретении, находится в лиофилизированной форме.

20 Предпочтительно по меньшей мере одну лиофилизированную мРНК перед введением восстанавливают в приемлемом буфере, предпочтительно на основе водного носителя, например, в лактированном растворе Рингера, который является предпочтительным, растворе Рингера, забуференном фосфатом

25 растворе. В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция, вакцина или набор компонентов, предлагаемая/предлагаемый в изобретении, содержит шесть мРНК, которые присутствуют по отдельности в лиофилизированной форме (необязательно в сочетании по меньшей мере с одной дополнительной добавкой) и которые предпочтительно перед применением восстанавливают по отдельности в приемлемом буфере (таком как

30 лактированный раствор Рингера), что позволяет осуществлять индивидуальное введение каждой из шести (моноцистронных) мРНК.

Вакцина или композиция, предлагаемая в изобретении, как правило, может содержать фармацевтически приемлемый носитель. В контексте настоящего

описания понятие «фармацевтически приемлемый носитель» предпочтительно обозначает жидкие или нежидкие основы для предлагаемой в изобретении вакцины. Если вакцина, предлагаемая в изобретении, представлена в жидкой форме, носителем обычно является вода, как правило, апирогенная вода;

5 изотонические солевые или забуференные (водные) растворы, например фосфатные, цитратные буферные растворы и т.д. Предпочтительно для инъекции предлагаемой в изобретении вакцины, прежде всего, используют воду или предпочтительно буферный раствор, более предпочтительно водный буфер, содержащий соль натрия, предпочтительно по меньшей мере 50мМ соль натрия,

10 соль кальция, предпочтительно по меньшей мере 0,01мМ соль кальция, и необязательно соль калия, предпочтительно по меньшей мере 3мМ соль калия. Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения в качестве солей натрия, кальция и необязательно калия используют галогениды, например хлориды, иодиды или бромиды, гидроксиды, карбонаты, гидрокарбонаты или

15 сульфаты указанных металлов и т.д. Примеры солей (но, не ограничиваясь только ими) включают, например, NaCl, NaI, NaBr, Na₂CO₃, NaHCO₃, Na₂SO₄, примеры необязательных солей калия включают, например, KCl, KI, KBr, K₂CO₃, KHCO₃, K₂SO₄, и примеры солей кальция включают, например, CaCl₂, CaI₂, CaBr₂, CaCO₃, CaSO₄, Ca(OH)₂. Кроме того, буфер может содержать

20 органические соли указанных выше катионов. Согласно более предпочтительному варианту осуществления изобретения буфер, пригодный для указанных выше инъекций, может содержать соли, выбранные из хлорида натрия (NaCl), хлорида кальция (CaCl₂) и необязательно хлорида калия (KCl), при этом могут присутствовать также другие анионы, отличные от хлоридов. CaCl₂ можно

25 заменять на другую соль, например KCl. Как правило, соли в составе буфера для инъекций присутствуют в следующей концентрации: по меньшей мере 50мМ хлорид натрия (NaCl), по меньшей мере 3мМ хлорид калия (KCl) и по меньшей мере 0,01мМ хлорид кальция (CaCl₂). Буфер для инъекций может представлять собой гипертонический, изотонический или гипотонический раствор по

30 отношению к конкретной применяемой для сравнения среде, т.е. буфер может иметь повышенное, аналогичное или пониженное количество соли по отношению к конкретной применяемой для сравнения среде, при этом

предпочтительно использовать такие концентрации указанных выше солей, которые не приводят к повреждению клеток за счет осмоса или других концентрационных эффектов. В качестве конкретной применяемой для сравнения среды можно рассматривать, например, жидкости, используемые в методах «*in vivo*», такие как кровь, лимфа, цитозоль и другие физиологические жидкости, или, например, жидкости, которые можно использовать в методах «*in vitro*», такие как стандартные буферы или жидкости. Указанные стандартные буферы или жидкости известны специалисту в данной области. Наиболее предпочтительной жидкой основой является лактированный раствор Рингера.

Однако можно использовать также один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей или разбавителей или капсулирующих соединений, пригодных для введения индивидууму. Понятие «совместимые» в контексте настоящего описания означает, что компоненты предлагаемой в изобретении вакцины можно смешивать по меньшей мере с одной мРНК из композиции, кодирующей по меньшей мере шесть антигенов, описанных выше, и при этом не происходит каких-либо взаимодействий между указанными компонентами, значительно снижающих фармацевтическую эффективность вакцины, предлагаемой в изобретении, в стандартных условиях применения. Фармацевтически приемлемые носители, наполнители или разбавители, естественно, должны характеризоваться достаточно высокой степенью чистоты и достаточно низкой токсичностью, т.е. являться приемлемыми для введения индивидууму, который нуждается в лечении. Некоторые примеры соединений, которые можно использовать в качестве фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей или компонентов, включают сахара, такие, например, как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие, например, как кукурузный крахмал или картофельный крахмал; декстозу; целлюлозу и ее производные, такие, например, как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы; порошкообразную трагантовую камедь; солод; желатин; твердые жиры; твердые обеспечивающие скольжение вещества, такие, например, как стеариновая кислота, стеарат магния; сульфат кальция; растительные масла, такие, например, как арахисовое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и масло ши (каритэ); полиолы, такие,

например, как полипропиленгликоль, глицерин, сорбит, манит и полиэтиленгликоль; альгиновую кислоту.

В целом, выбор фармацевтически приемлемого носителя определяется путем введения вакцины, предлагаемой в изобретении. Вакцину, предлагаемую в изобретении, можно вводить, например, системно или местно. Пути системного введения, как правило, включают, например, чрескожный, оральный, парентеральный путь введения, включая подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, внутрикожные и внутрибрюшинные инъекции и/или интраназальные пути введения. Пути местного применения, как правило, включают, например, местное нанесение, но также внутрикожные, чрескожные, подкожные или внутримышечные инъекции или инъекции, вводимые непосредственно в область поражения, внутричерепные, внутрилегочные, внутрисердечные и подъязычные инъекции. Более предпочтительно вакцины можно вводить внутрикожно, подкожно или внутримышечно, предпочтительно путем инъекции, которая может представлять собой безыгольную и/или игольную инъекцию. Таким образом, композиции/вакцины предпочтительно приготавливают в виде жидкой или твердой формы. Пригодное количество вводимой вакцины, предлагаемой в изобретении, можно определить в стандартных экспериментах на созданных на животных моделях. Указанные модели включают (но, не ограничиваясь только ими) модели, созданные на кроликах, овцах, мышах, крысах, собаках и приматах кроме человека. Предпочтительные стандартные лекарственные формы для инъекций включают стерильные водные растворы, физиологический раствор или их смеси. Значение pH указанных растворов следует регулировать до приблизительно 7,4. Пригодные носители для инъекций включают гидрогели, устройства для контролируемого или замедленного высвобождения, полимолочную кислоту и коллагеновые матрицы. Пригодные фармацевтически приемлемые носители для местного применения включают носители, пригодные для применения в составе лосьонов, кремов, гелей и т.п. Если вакцину, предлагаемую в изобретении, вводят оральным путем, то предпочтительными стандартными лекарственными формами являются таблетки, капсулы и т.п. Из существующего уровня техники известны фармацевтически приемлемые носители для получения стандартных лекарственных форм, которые можно

применять для орального введения. Выбор указанных носителей зависит от вторичных факторов, таких как вкус, стоимость и стабильность при хранении, и такие носители может без усилий выбрать специалист в данной области, и они не являются решающими для целей настоящего изобретения.

5 Предлагаемая в изобретении вакцина или композиция может содержать также одно или несколько вспомогательных веществ, предназначенных для повышения иммуногенности. При этом предпочтительно достигается синергетическое действие по меньшей мере одной указанной выше мРНК, входящей в композицию или вакцину, и вспомогательного вещества, которое
10 необязательно также включено в состав (или не включено в состав) указанной выше вакцины или композиции, предлагаемой в изобретении. В зависимости от типа используемых вспомогательных веществ можно рассматривать различные механизмы действия. Например, соединения, ускоряющие созревание дендритных клеток (ДК), например липополисахариды, TNF-альфа или лиганд
15 CD40, образуют первый класс пригодных вспомогательных веществ. В целом, в качестве вспомогательного вещества можно использовать любой агент, который оказывает влияние на иммунную систему, по механизму «сигнала опасности» (LPS, GP96, и т.п.), или можно использовать цитокины, такие как GM-CSF, которые позволяют целенаправленно усиливать иммунный ответ, вызываемый
20 иммуностимулирующим адьювантом, предлагаемым в изобретении, или целенаправленно влиять на него. Наиболее предпочтительными вспомогательными веществами являются цитокины, такие как монокины, лимфокины, интерлейкины или хемокины, которые кроме индукции приобретенного иммунитета, обусловленного по меньшей мере шестью
25 антигенами, активируют врожденный иммунитет, такие как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, INF-альфа, IFN-бета, INF-гамма, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-бета или TNF-альфа, факторы роста, такие как hGH. Предпочтительно
30 указанные повышающие иммуногенность агенты или соединения находятся в отдельной форме (не входят в состав вакцины или композиции, предлагаемой в изобретении) и их применяют индивидуально.

Другими добавками, которые можно включать в состав вакцины или композиции, предлагаемой в изобретении, являются эмульгаторы, такие, например, как твин; смачивающие вещества, такие, например, как лаурилсульфат натрия; красители; улучшающие вкусовые вещества;

5 фармацевтические носители; наполнители для приготовления таблеток; стабилизаторы; антиоксиданты; консерванты.

Предлагаемая в изобретении вакцина или композиция может содержать также любое дополнительное соединение, у которого известна способность оказывать иммуностимулирующее действие в результате его аффинности связывания (в качестве лиганда) с человеческими Толл-подобными рецепторами TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 или в результате его аффинности связывания (в качестве лиганда) с мышинными Толл-подобными рецепторами TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 или TLR13.

15 В этом контексте другим классом соединений, которые можно добавлять к предлагаемой в изобретении вакцине или композиции, могут являться CpG-нуклеиновые кислоты, в частности CpG-РНК или CpG-ДНК. CpG-РНК или CpG-ДНК могут представлять собой одноцепочечную CpG-ДНК (ssCpG-ДНК), двухцепочечную CpG-ДНК (dsДНК), одноцепочечную CpG-РНК (ssCpG-РНК) или двухцепочечную CpG-РНК (dsCpG-РНК). CpG-нуклеиновая кислота предпочтительно находится в форме CpG-РНК, более предпочтительно в форме одноцепочечной CpG-РНК (ssCpG-РНК). CpG-нуклеиновая кислота предпочтительно содержит по меньшей мере одну или несколько (митогенную(ых)) цитозин/гуаниндинуклеотидную(ых) последовательность(ей) (CpG-мотив(ы)). Согласно первому предпочтительному варианту по меньшей мере один CpG-мотив, содержащийся в указанных последовательностях, иными словами С (цитозин) и G (гуанин) в составе CpG-мотива, является неметилированным. Все другие остатки цитозина или гуанина, необязательно содержащиеся в указанных последовательностях, являются метилированными или неметилированными. Однако согласно другому предпочтительному варианту С (цитозин) и G (гуанин) в составе CpG-мотива могут присутствовать также и в метилированной форме.

Предпочтительно указанные выше соединения включают в состав препаративной формы и вводят отдельно от указанной выше композиции или вакцины (предлагаемой в изобретении), которая содержит по меньшей мере одну мРНК, кодирующую по меньшей мере шесть указанных выше антигенов.

5 Согласно другому предпочтительному объекту настоящего изобретения предлагаемую в изобретении композицию или вакцину можно применять согласно изобретению (для приготовления лекарственного средства) для лечения рака легких или заболеваний или нарушений связанных с ним, предпочтительно состояний, которые связаны с немелкоклеточным раком легких (NSCLC),
10 подлежащим лечению, более предпочтительно состояний, связанных с тремя основными подтипами NSCLC, включая (но, не ограничиваясь только ими) плоскоклеточную карциному легких, аденокарциному и крупноклеточную карциному легких.

Согласно следующему предпочтительному объекту настоящего
15 изобретения предлагаемую в изобретении вакцину или предлагаемую в изобретении композицию, содержащую по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует антигены, указанные в настоящем описании, можно применять для лечения рака легких или заболеваний или нарушений связанных с ним,
предпочтительно состояний, которые связаны с немелкоклеточным раком легких
20 (NSCLC), подлежащим лечению, более предпочтительно состояний, связанных с тремя основными подтипами NSCLC, включая (но не ограничиваясь только ими) плоскоклеточную карциному легких, аденокарциному и крупноклеточную карциному легких.

В этом контексте настоящее изобретение относится также к способам
25 лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и заболеваний или нарушений связанных с ним, предпочтительно состояний, связанных с немелкоклеточным раком легких (NSCLC), подлежащим лечению, более предпочтительно состояний, связанных с тремя основными подтипами NSCLC, включая (но, не ограничиваясь только ими) плоскоклеточную
30 карциному легких, аденокарциному и крупноклеточную карциному легких, заключающимся в том, что вводят индивидууму, который нуждается в этом, в фармацевтически эффективном количестве предлагаемую в изобретении вакцину или в фармацевтически эффективном количестве предлагаемую в изобретении

композицию. Указанный способ, как правило, заключается в том, что необязательно на первой стадии приготавливают композицию, предлагаемую в изобретении, или вакцину, предлагаемую в изобретении, и на второй стадии пациенту, нуждающемуся в таком лечении, вводят (в фармацевтически эффективном количестве) указанную композицию, предлагаемую в изобретении, или указанную вакцину, предлагаемую в изобретении. Пациента, который нуждается в таком лечении, как правило, выбирают из любых млекопитающих. В контексте настоящего изобретения млекопитающего предпочтительно выбирают из группы, включающей (но, не ограничиваясь только ими), например, коз, крупный рогатый скот, свиней, собак, кошек, ослов, обезьян, человекоподобных обезьян, грызунов, таких как мыши, хомяки, кролики, и прежде всего человека, при этом млекопитающее, как правило, страдает от рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и заболеваний или нарушений связанных с ним, предпочтительно состояний, связанных с немелкоклеточным раком легких (NSCLC), подлежащим лечению, более предпочтительно состояний, связанных с тремя основными подтипами NSCLC, включая (но, не ограничиваясь только ими) плоскоклеточную карциному легких, аденокарциному и крупноклеточную карциному легких.

В настоящем изобретении предлагается также применение композиции, предлагаемой в изобретении, или по меньшей мере одной мРНК, кодирующей антигена, указанные в настоящем описании (для приготовления предлагаемой в изобретении вакцины), предпочтительно для индукции иммунного ответа у млекопитающего, предпочтительно для лечения рака легких, более предпочтительно для лечения состояния, связанного с NSCLC, указанного в настоящем описании.

Предпочтительно индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией 0, I (IA и/или IB), II (IIA и/или IIB), III (IIIA и/или IIIB) или стадией IV немелкоклеточного рака легких.

В конкретном варианте осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких.

Кроме того, индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, может представлять собой пациента с немелкоклеточным раком легких, которого лечат с помощью химиотерапии (например, химиотерапии первой линии или второй линии), лучевой терапии, химиорадиации (сочетание химиотерапии и лучевой терапии), ингибиторов тирозинкиназ (например, ингибиторов тирозинкиназ EGFR), терапии на основе антител и/или ингибиторов пути PD1 (белок программированной клеточной смерти), или пациенту, у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания после применения одного или нескольких указанных выше вариантов лечения.

В этом контексте ингибитор пути PD-1 предпочтительно в настоящем описании представляет собой соединение, которое нарушает путь передачи сигнала PD-1, предпочтительно передачи сигнала, опосредуемого рецептором PD-1. Таким образом, ингибитор пути PD-1 может представлять собой любой ингибитор, направленный против любого представителя пути PD-1, который может оказывать антагонистическое действие на путь передачи сигнала PD-1. В этом контексте ингибитор может представлять собой антагонистическое антитело, мишенью которого является любой представитель пути PD-1, предпочтительно направленное против рецептора PD-1, PD-L1 (лиганд PD) или PD-L2. Указанное антагонистическое антитело может кодироваться также нуклеиновой кислотой. Кроме того, ингибитор пути PD-1 может представлять собой фрагмент рецептора PD-1 или лиганды PD1, блокирующие активность PD1-рецептора. B7-1 или его фрагменты могут действовать также в качестве ингибирующих PD1 лигандов. Кроме того, ингибитор пути PD-1 может представлять собой siРНК (малая интерферирующая РНК) или антисмысловую РНК, направленную против представителя пути PD-1, предпочтительно PD-1, PD-L1 или PD-L2. Кроме того, ингибитор пути PD-1 может представлять собой белок, содержащий аминокислотную последовательность (или нуклеиновую кислоту, кодирующую ее), которая обладает способностью связываться с PD-1, но препятствует передаче сигнала PD-1, например, путем ингибирования взаимодействия PD-1 и B7-H1 или B7-DL. Кроме того, ингибитор PD-1-пути может представлять собой низкомолекулярный ингибитор, обладающий

способностью ингибировать путь передачи сигнала PD-1, например, PD-1-связывающий пептид или малую органическую молекулу.

Кроме того, в этом контексте ингибитор тирозинкиназы в настоящем описании предпочтительно представляет собой соединение, которое обладает

5 способностью нарушать передачу сигнала одной или нескольких тирозинкиназ, предпочтительно одной или нескольких тирозинкиназ факторов роста.

Предпочтительно применяемый в данном контексте ингибитор тирозинкиназы представляет собой ингибитор тирозинкиназного рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В предпочтительном варианте осуществления

10 изобретения ингибитор тирозинкиназы, применяемый согласно настоящему описанию, представляет собой предназначенный для орального применения ингибитор тирозинкиназы EGFR. В следующем предпочтительном варианте осуществления изобретения ингибитор тирозинкиназы выбирают из группы, включающей эрлотиниб, gefитиниб или афатиниб. В другом варианте

15 осуществления изобретения ингибитор тирозинкиназы, применяемый в данном контексте, представляет собой ингибитор ALK (киназа анапластической лимфомы), предпочтительно кризотиниб или церитиниб.

В контексте настоящего описания антитело, которое применяют в терапии на основе антител, предпочтительно направлено против фактора роста или

20 рецептора фактора роста, который предпочтительно функционально связан с тирозинкиназой. В этом контексте предпочтительно антитело направлено против сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) или против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В предпочтительном варианте осуществления изобретения в терапии на основе антитела используют

25 бевацизумаб. В другом варианте осуществления изобретения в терапии на основе антитела используют цетуксимаб.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента до или после хирургического вмешательства

30 (например, лобэктомии), где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии I или II.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией

или вакциной, представляет собой пациента, получающего лучевую терапию, или пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после лучевой терапии, где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии I или II.

5 Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, получающего химиотерапию, предпочтительно химиотерапию на основе препаратов платины или комбинированную химиотерапию, включающую препараты платины
10 (например, цисплатин, карбоплатин, цисплатин в сочетании с винорелбином, цисплатин в сочетании с этопозидом, цисплатин в сочетании с гемцитабином, цисплатин в сочетании с таксанами, цисплатин или карбоплатин в сочетании с преметрекседом, или карбоплатин в сочетании с паклитакселом), или пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация
15 заболевания (SD) после химиотерапии, где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии III или IV.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, получающего
20 химиотерапию, предпочтительно химиотерапию на основе препаратов платины или комбинированную химиотерапию, включающую препараты платины (например, цисплатин, карбоплатин, цисплатин в сочетании с винорелбином, цисплатин в сочетании с этопозидом, цисплатин в сочетании с гемцитабином, цисплатин в сочетании с таксанами, цисплатин или карбоплатин в сочетании с
25 преметрекседом, или карбоплатин в сочетании с паклитакселом), в сочетании с лучевой терапией (хеморадиация), или пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после хеморадиации, где пациент предпочтительно страдает NSCLC на стадии III (предпочтительно местнораспространенным) или на стадии IV.

30 Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, получающего только одну химиотерапию, предпочтительно гемцитабином, таксанами,

преметрекседом, паклитакселом, винорелбином или этопозидом, предпочтительно в качестве лечения второй линии или третьей линии, или пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после указанного лечения второй линии или третьей линии.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) после химиотерапии первой линии и необязательно второй линии (например, химиотерапии на основе препаратов платины или комбинированной терапии, включающей препараты платины (комбинация химиотерапии на основе препаратов платины по меньшей мере с одним дополнительным химиотерапевтическим средством)) или хеморадиации первой линии и необязательно второй линии, где у пациента достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после химиотерапии первой линии и необязательно второй линии.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с неплоскоклеточной гистологией с мутациями, активирующими рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), или без указанных мутаций.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с плоскоклеточной гистологией с мутациями, активирующими рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), или без указанных мутаций.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с неплоскоклеточной гистологией, предпочтительно без мутаций, активирующих рецептор

эпидермального фактора роста (EGFR), у которого предпочтительно достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после химиотерапии первой линии с применением химиотерапии на основе препаратов платины или комбинации, включающей препараты платины (например, платину и пеметрексед).

Согласно другому варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с плоскоклеточной гистологией, у которого предпочтительно достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после химиотерапии первой линии с применением химиотерапии на основе препаратов платины или комбинации, включающей препараты платины (например, платину и пеметрексед).

Еще более предпочтительно индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, который страдает метастатическим раком легких, предпочтительно метастатическим немелкоклеточным раком легких.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III местнораспространенного NSCLC, предпочтительно получающего сопутствующее лечение хеморадиацией (например, описанное выше), или у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания (отсутствие прогрессирования) после хеморадиации (указанной в настоящем описании).

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или IV NSCLC, вне зависимости от гистологического или молекулярного подтипа, и предпочтительно получающего сопутствующее лечение ингибитором пути PD-1, и у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания (отсутствие прогрессирования) после лечения ингибитором пути PD-1.

Кроме того, согласно конкретному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, получающего антитело или комбинацию химиотерапии и антитела, предпочтительно бевацизумаб или комбинацию бевацизумаба с химиотерапией, предпочтительно химиотерапией на основе платины, или пациента, у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания после указанного лечения.

Согласно другому особенно предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, получающего ингибитор тирозинкиназы, предпочтительно ингибитор тирозинкиназы EGFR (например, эрлотиниб, gefitinib или afatinib) и предпочтительно в виде лечения второй линии после химиотерапии первой линии, или пациента, у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания после терапии с использованием ингибитора тирозинкиназы EGFR.

Согласно другому особенно предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, который несет активирующую EGFR мутацию и который получает ингибитор тирозинкиназы, предпочтительно ингибитор тирозинкиназы EGFR (например, эрлотиниб, gefitinib или afatinib), или пациента, у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания после терапии с использованием ингибитора тирозинкиназы EGFR.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента со стадией III или IV NSCLC и предпочтительно с немелкоклеточной гистологией, предпочтительно несущий активирующую EGFR мутацию, и который предпочтительно получает сопутствующее лечение ингибитором тирозинкиназы EGFR, или пациента, у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания после терапии с использованием ингибитора тирозинкиназы EGFR (например, эрлотиниба, gefitinиба или afatinиба или других ингибиторов тирозинкиназы EGFR).

Согласно другому варианту осуществления изобретения индивидуум, которого обрабатывают предлагаемой в изобретении композицией или вакциной, представляет собой пациента, который получает ингибитор тирозинкиназы кризотиниб или церитиниб или другие ингибиторы ALK.

5 Аналогично этому изобретение относится также к применению предлагаемой в изобретении вакцины *per se* или по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует антигены, указанные в настоящем описании, для индукции адаптивного иммунного ответа у млекопитающего, предпочтительно для лечения рака легких, более предпочтительно для лечения состояния, связанного с
10 немелкоклеточным раком легких (NSCLC), указанного в настоящем описании.

Профилактику или лечение рака легких у пациента, нуждающегося в таком лечении, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний и нарушений, можно осуществлять путем введения предлагаемой в изобретении композиции и/или предлагаемой в изобретении вакцины
15 одновременно или поочередно, например, в виде набора компонентов, где каждый компонент содержит по меньшей мере один из предпочтительно различных антигенов. Предпочтительно каждый антиген вводят по отдельности, т.е. каждый антиген вводят в отличную от других часть или область организма индивидуума, подлежащего лечению, предпочтительно одновременно или в
20 пределах одинаковых коротких временных рамок соответственно. В предпочтительном варианте осуществления изобретения введение индивидуальных мРНК распределяют по четырем конечностям индивидуума (т.е. левые/правые верхние и нижние конечности). Предпочтительно введение (всех из по меньшей мере одной мРНК) осуществляют в пределах 1 часа, более
25 предпочтительно 30 мин, еще более предпочтительно 15, 10, 5, 4, 3 или 2 мин или даже 1 мин.

Для введения предпочтительно можно использовать любой из указанных выше путей введения, который можно применять для лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним
30 заболеваний или нарушений, путем индукции или усиления адаптивного иммунного ответа на основе антигенов, кодируемых по меньшей мере одной мРНК, входящей в предлагаемую в изобретении композицию. Введению предлагаемой в изобретении композиции и/или вакцины можно осуществлять до,

одновременно и/или последовательно с введением другой предлагаемой в изобретении композиции и/или вакцины, указанной в настоящем описании, которая может дополнительно содержать другую комбинацию мРНК, кодирующих различные антигены, где каждый антиген, кодируемый по меньшей мере одной мРНК, входящей в предлагаемую в изобретении композицию, предпочтительно можно применять для терапии рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений. В этом контексте терапия согласно настоящему описанию может включать также модуляцию заболевания, ассоциированного с раком легких, предпочтительно немелкоклеточным раком легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений.

Одним из следующих объектов настоящего изобретения является также применение предлагаемой в изобретении композиции или по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует антигены, указанные в настоящем описании (для приготовления (предлагаемой в изобретении) вакцины), для модуляции, предпочтительно для индукции или усиления иммунного ответа у млекопитающего, указанного выше, более предпочтительно для лечения и/или поддержания лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений. В этом контексте поддержание лечения рака легких может представлять собой любую комбинацию общепринятых методов лечения рака легких, таких как хирургия, лучевая терапия, химиотерапия (например, химиотерапия первой линии или второй линии), хеморадиация, лечение с использованием ингибиторов тирозинкиназ, лечение с использованием ингибиторов пути PD-1, терапия на основе антител или определенная их комбинация, и терапия с применением предлагаемой в изобретении композиции, указанной в настоящем описании. Поддержание лечения рака легких может также подпадать под любой другой вариант осуществления изобретения, указанный в настоящем описании. Таким образом, любое применение предлагаемой в изобретении композиции или вакцины для совместной терапии с использованием любого из вышеуказанных терапевтических подходов, прежде всего в сочетании с хирургией, лучевой терапией, химиотерапией, хеморадиацией и/или с лечение ингибиторами киназ или антителами, подпадает под объем настоящего изобретения.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких, которое включает также химиотерапию (например, химиотерапию первой линии или второй линии), лучевую терапию, хеморадиацию (сочетание химиотерапии и
5 лучевой терапии), применение ингибиторов тирозинкиназ (например, ингибиторов тирозинкиназы EGFR), терапию на основе антител и/или применение ингибиторов пути PD1, или для лечения пациента, у которого достигнут частичный ответ или достигнута стабилизация заболевания после получения одного или нескольких вариантов лечения, указанных выше.

10 В этом контексте ингибитор пути PD-1 предпочтительно в настоящем описании представляет собой соединение, которое может нарушать путь передачи сигнала PD-1, предпочтительно передачи сигнала, опосредуемого рецептором PD-1. Таким образом, ингибитор пути PD-1 может представлять собой любой ингибитор, направленный против любого представителя пути PD-1,
15 который может оказывать антагонистическое действие на путь передачи сигнала PD-1. В этом контексте ингибитор может представлять собой антагонистическое антитело, мишенью которого является любой представитель пути PD-1, предпочтительно направленное против рецептора PD-1, PD-L1 или PD-L2. Указанное антагонистическое антитело может кодироваться также нуклеиновой
20 кислотой. Кроме того, ингибитор пути PD-1 может представлять собой фрагмент рецептора PD-1 или лиганды PD1, блокирующие активность PD1-рецептора. B7-1 или его фрагменты могут действовать также в качестве ингибирующих PD1 лигандов. Кроме того, ингибитор пути PD-1 может представлять собой siРНК (малая интерферирующая РНК) или антисмысловую РНК, направленную против
25 представителя пути PD-1, предпочтительно PD-1, PD-L1 или PD-L2. Кроме того, ингибитор пути PD-1 может представлять собой белок, содержащий (или нуклеиновую кислоту, кодирующий) аминокислотную последовательность, которая обладает способностью связываться с PD-1, но препятствует передаче сигнала PD-1, например, путем ингибирования взаимодействия PD-1 и B7-H1
30 или B7-DL. Кроме того, ингибитор PD-1-пути может представлять собой низкомолекулярный ингибитор, обладающий способностью ингибировать путь передачи сигнала PD-1, например, PD-1-связывающий пептид или малую органическую молекулу.

В контексте настоящего описания антитело, которое применяют в терапии на основе антител, предпочтительно направлено против фактора роста или рецептора фактора роста, который предпочтительно функционально связан с тирозинкиназой. В этом контексте предпочтительно антитело направлено против

5 сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) или против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В предпочтительно варианте осуществления изобретения в терапии на основе антитела используют бевацизумаб. В другом варианте осуществления изобретения в терапии на основе антитела используют цетуксимаб.

10 Предпочтительно композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких, которое включает также лучевую терапию, если по меньшей мере один пораженный опухолью участок доступен для облучения. Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения пораженный опухолью участок, доступный для облучения, выбирают из группы,

15 включающий метастазы в кость, лимфатические узлы, прежде всего надключичные, подмышечные или в шейной области, кожные или подкожные метастазы и повреждения грудной области (опухоль легкого центральной локализации, лимфатические узлы в воротах легких или в средостении). Предпочтительно излучение применяют в виде 4-дневных серий по 5 Гр каждая

20 в течение 1 недели, предпочтительно в дни 9–12.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких, которое включает также применение ингибитора киназы. При этом, ингибитор киназы предпочтительно представляет собой ингибитор тирозинкиназы, еще

25 более предпочтительно ингибитор тирозинкиназы фактора роста, наиболее предпочтительно применяемого оральный путем ингибитора тирозинкиназы EGFR, такого, например, как gefitinib, erlotinib или afatinib. Кроме того, в этом контексте предпочтительно в настоящем описании под ингибитором тирозинкиназы предпочтительно подразумевается соединение, обладающее

30 способностью нарушать передачу сигнала одной или нескольких тирозинкиназ, предпочтительно одной или нескольких тирозинкиназ факторов роста. В другом варианте осуществления изобретения ингибитор тирозинкиназы в контексте

настоящего описания представляет собой ингибитор ALK, предпочтительно кризотиниб или церитиниб.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких, которое включает также применение химиотерапевтического средства, такого как соединение на основе платины (например, карбоплатина, цисплатина), пеметрекседа, гемцитабина, таксана, винорелбина, этопозида, доцетаксела или паклитакселом. Еще более предпочтительно композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения пациента, который получает химиотерапию, предпочтительно комбинированную химиотерапию, включающую препараты платины, предпочтительно, указанную выше, которую предпочтительно объединяют с лучевой терапией (хеморадиация).

Предпочтительно композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют в комбинированной терапии рака легких, если пациент имеет стадию 0, I (IA и/или IB), II (IIA и/или IIB), III (IIIA и/или IIIB) или стадию IV немелкоклеточного рака легких.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента до или после хирургического вмешательства (например, лобэктомии), где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии I или II.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, получающего лучевую терапию, или у пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после лучевой терапии, где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии I или II.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, получающего химиотерапию, предпочтительно химиотерапию на основе препаратов платины или комбинированную химиотерапию, включающую препараты платины (например, цисплатин, карбоплатин, цисплатин в сочетании с винорелбином, цисплатин в

сочетании с этопозидом, цисплатин в сочетании с гемцитабином, цисплатин в сочетании с таксанами, цисплатин или карбоплатин в сочетании с преметрекседом, или карбоплатин в сочетании с паклитакселом), или у пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или стабильное состояние болезни (SD) после химиотерапии, где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии III или IV.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, получающего химиотерапию, предпочтительно химиотерапию на основе препаратов платины или комбинированную химиотерапию, включающую препараты платины (например, цисплатин, карбоплатин, цисплатин в сочетании с винорелбином, цисплатин в сочетании с этопозидом, цисплатин в сочетании с гемцитабином, цисплатин в сочетании с таксанами, цисплатин или карбоплатин в сочетании с преметрекседом, или карбоплатин в сочетании с паклитакселом), в сочетании с лучевой терапией (хеморадиация), или пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после хеморадиации, где пациент предпочтительно страдает NSCLC стадии III (предпочтительно местнораспространенный) или IV.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, получающего только одну химиотерапию, предпочтительно гемцитабином, таксанами, преметрекседом, паклитакселом, винорелбином или этопозидом, предпочтительно в качестве лечения второй линии или третьей линии, или пациента, у которого достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после указанного лечения второй линии или третьей линии.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) после химиотерапии первой линии и необязательно второй линии (например, химиотерапии на основе препаратов платины или комбинированной терапии, включающей препараты платины (комбинация

химиотерапии на основе препаратов платины по меньшей мере с одним дополнительным химиотерапевтическим средством)) или хеморадиации первой линии и необязательно второй линии, где у пациента предпочтительно достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после химиотерапии первой линии и необязательно второй линии.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с неплоскоклеточной гистологией с мутациями, активирующими рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) или без указанных мутаций.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с плоскоклеточной гистологией с мутациями, активирующими рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), или без указанных мутаций.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с неплоскоклеточной гистологией, предпочтительно без мутаций, активирующих рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), у которого предпочтительно достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после химиотерапии первой линии с применением химиотерапии на основе платины или комбинированной химиотерапии, включающей платину (например, платину и пеметрексед).

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и с плоскоклеточной гистологией, у которого предпочтительно достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после химиотерапии первой линии с

применением химиотерапии на основе платины или комбинированной химиотерапии, включающей платину (например, платину и пеметрексед).

5 Еще более предпочтительно композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, который страдает метастатическим раком легких, предпочтительно метастатическим немелкоклеточным раком легких.

10 Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III местнораспространенного NSCLC, где пациент предпочтительно получает сопутствующее лечение хеморадиацией (например, описанное выше), или у пациента достигнут ответ или достигнута стабилизация заболевания (отсутствие прогрессирования) после хеморадиации (указанной в настоящем описании).

15 Согласно другому варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или IV NSCLC, вне зависимости от гистологического или молекулярного подтипа, и предпочтительно получающего сопутствующее лечение ингибитором пути PD-1, и у которого достигнут ответ или достигнута стабилизация заболевания (отсутствие прогрессирования) после лечения ингибитором пути PD-1.

20 Кроме того, согласно конкретному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, получающего антитело или комбинацию химиотерапии и антитела, предпочтительно бевацизумаб или комбинацию бевацизумаба с химиотерапией, предпочтительно химиотерапией на основе платины, или пациента, у которого достигнут ответ или достигнута стабилизация заболевания после указанного лечения.

30 Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, получающего ингибитор тирозинкиназы, предпочтительно ингибитор тирозинкиназы EGFR (например, эрлотиниб, гефитиниб или афатиниб) и предпочтительно в виде лечения второй линии после химиотерапии первой линии, или пациента, у которого достигнут ответ или

стабильное состояние болезни после терапии с использованием ингибитора тирозинкиназы EGFR.

Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, который несет активирующую EGFR мутацию и который получает ингибитор тирозинкиназы, предпочтительно ингибитор тирозинкиназы EGFR (например, эрлотиниб, gefитиниб или афатиниб), или пациента, у которого достигнут ответ или достигнута стабилизация заболевания после терапии с использованием ингибитора тирозинкиназы EGFR.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента со стадией III или IV NSCLC и предпочтительно с немелкоклеточной гистологией, предпочтительно несущего активирующую EGFR мутацию, и который предпочтительно получает сопутствующее лечение ингибитором тирозинкиназы EGFR, или пациента, у которого достигнут ответ или достигнута стабилизация заболевания после терапии с использованием ингибитора тирозинкиназы EGFR (например, эрлотиниба, gefитиниба или афатиниба или других ингибиторов тирозинкиназы EGFR).

Согласно другому варианту осуществления изобретения композицию или вакцину, предлагаемую в изобретении, применяют для лечения рака легких у пациента, который получает ингибитор тирозинкиназы кризотиниб или церитиниб или другие ингибиторы ALK.

Протокол иммунизации для иммунизации индивидуума против комбинации по меньшей мере шести антигенов, указанных в настоящем описании, как правило, включает серии разовых доз или системы доз предлагаемой в изобретении композиции или предлагаемой в изобретении вакцины. В контексте настоящего описания понятие разовая доза относится к начальной/первой дозе, второй дозе или любым следующим дозам соответственно, которые предпочтительно вводят для того, чтобы «активировать» иммунную реакцию. В этом контексте каждая разовая система дозирования включает введение всех из по меньшей мере шести антигенов, предлагаемых в изобретении, при этом

интервал между введением двух разовых доз может варьироваться от по
меньшей мере одного дня, предпочтительно 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней, до по
меньшей мере одной недели, предпочтительно 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.
Интервалы между разовыми дозами могут быть постоянным или могут
5 изменяться в процессе протокола иммунизации, например, интервалы могут
быть короче в начале и удлиняться к концу осуществления протокола. В
зависимости от общего количества разовых доз и интервалов между разовыми
дозами протокол иммунизации можно осуществлять в течение периода времени,
который предпочтительно составляет по меньшей мере одну неделю, более
10 предпочтительно несколько недель (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12
недель), еще более предпочтительно несколько месяцев (например, 3, 4, 5, 6, 7,
8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяца). Каждая разовая система дозирования
включает введение всех из по меньшей мере шести антигенов, указанных в
настоящем описании, и поэтому может включать по меньшей мере одну,
15 предпочтительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 инъекций. В случае, когда
применяют композицию, предлагаемую в изобретении, разовая доза, как
правило, предусматривает одну инъекцию. В случае, когда вакцина содержит
различные препаративные формы мРНК, которые кодируют соответствующие
антигены, предлагаемые в изобретении, минимальное количество инъекций,
20 осуществляемых при разовой системе введения, соответствует количеству
отдельных компонентов в вакцине. В некоторых вариантах осуществления
изобретения введение разовой дозы может включать более одной инъекции
каждого компонента вакцины (например, конкретной препаративной формы
мРНК, содержащей мРНК, которая, например, кодирует один из шести
25 антигенов, предлагаемых в изобретении). Например, части общего объема
индивидуального компонента вакцины можно инъецировать в различные
области организма, что предусматривает осуществлении более одной инъекции.
В более конкретном примере разовая доза вакцины, содержащей шесть
различных препаративных форм мРНК, каждую из которых вводят в две
30 различные области организма, предусматривает 12 инъекций. Как правило,
разовая доза включает все инъекции, необходимые для введения всех
компонентов вакцины, при этом для введения индивидуального компонента
можно осуществлять более одной инъекции, как изложено выше. В случае, когда

введение разовой дозы вакцины, предлагаемой в изобретении, предусматривает осуществление более одной инъекции, инъекции осуществляют практически одновременно или совместно, т.е., как правило, поочередно во временной рамке, которая требуется специалисту для осуществления стадий разовой инъекции, друг за другом. Таким образом, введение разовой системы доз предпочтительно требует периода времени, составляющего несколько минут, например, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 30 или 60 мин.

Введение предлагаемой в изобретении композиции или по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует указанные в настоящем описании антигены, или предлагаемой в изобретении вакцины можно осуществлять поочередно. Поочередная обработка может представлять собой, например, введение предлагаемой в изобретении композиции или по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует указанные в настоящем описании антигены, или предлагаемой в изобретении вакцины до, одновременно и/или последовательно с общепринятой терапией рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений, например, путем введения предлагаемого в изобретении лекарственного средства или предлагаемой в изобретении композиции или вакцины до, одновременно и/или последовательно с терапией или обработкой, терапевтически приемлемой для лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений. Указанную поочередную обработку можно осуществлять, используя, например, набор, предпочтительно набор компонентов, описанный ниже.

В дополнительном или альтернативном варианте поочередная обработка может включать также введение предлагаемой в изобретении композиции или вакцины, предпочтительно по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует антигены, указанные выше, в форме, когда по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует указанные выше антигены, предпочтительно образующую часть предлагаемой в изобретении композиции или вакцины, вводят параллельно, до или последовательно с другой по меньшей мере одной мРНК, которая кодирует антигены, указанные выше, предпочтительно образующей часть этой же предлагаемой в изобретении композиции или вакцины. Предпочтительно введение (всех из по меньшей мере одной мРНК) осуществляют в течение 1 ч,

более предпочтительно в пределах 30 мин, еще более предпочтительно 15, 10, 5, 4, 3 или 2 мин или даже 1 мин. Такую поочередную обработку можно осуществлять, например, с использованием набора, предпочтительно набора компонентов, описанного ниже.

5 В предпочтительном варианте осуществления изобретения композицию или вакцину вводят повторно, при этом каждое введение предпочтительно предусматривает индивидуальное введение по меньшей мере одной мРНК, предлагаемой в изобретении. В каждый момент введения по меньшей мере одну мРНК можно вводить более одного раза (например, 2 или 3 раза). В наиболее
10 предпочтительном варианте осуществления изобретения шесть мРНК (каждая из которых кодирует один из указанных выше антигенов) вводят в каждый момент времени, при этом каждую мРНК вводят дважды путем инъекции, осуществляя тем самым 12 инъекций, распределенных по четырем конечностям.

15 Последним вариантом осуществления настоящего изобретения являются также наборы, прежде всего наборы компонентов, которые содержат активную (иммуностимулирующую) композицию и/или предлагаемую в изобретении вакцину необязательно в жидком наполнителе для сольubilизации, и необязательно технические инструкции с информацией о введении и дозировке предлагаемой в изобретении композиции и/или предлагаемой в изобретении
20 вакцины. Технические инструкции могут включать информацию о введении и дозировке предлагаемой в изобретении композиции и/или предлагаемой в изобретении вакцины. Указанные наборы, предпочтительно наборы компонентов можно применять, например, для любых указанных выше вариантов обработок и применения, предпочтительно для применения по меньшей мере одной
25 предлагаемой в изобретении композиция (для приготовления предлагаемого в изобретении лекарственного средства, предпочтительно вакцины) для лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений. Наборы можно использовать также для применения по меньшей мере одной предлагаемой в изобретении композиция
30 (для приготовления предлагаемого в изобретении лекарственного средства, предпочтительно вакцины) для лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним заболеваний или нарушений, в котором предлагаемая в изобретении композиция и/или вакцина, поскольку

она кодирует по меньшей мере шесть антигенов, может обладать способностью индуцировать или усиливать иммунный ответ у млекопитающего, указанного выше. Указанные наборы можно использовать также для применения по меньшей мере одной предлагаемой в изобретении композиции (для

5 приготовления предлагаемого в изобретении лекарственного средства, предпочтительно вакцины) для модуляции, предпочтительно для вызывания, например для индукции или усиления иммунного ответа у млекопитающего, указанного выше, и предпочтительно для поддерживающего лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких, и связанных с ним

10 заболеваний или нарушений. Наборы компонентов, как специальная форма наборов, могут содержать одну или несколько одинаковых или различных активных (иммуностимулирующих) композиций, предлагаемых в изобретении, и/или одну или несколько одинаковых или различных вакцин, предлагаемых в изобретении, в различных компонентах, входящих в состав набора. Наборы

15 компонентов могут содержать также (например, одну) активную (иммуностимулирующую) композицию, предлагаемую в изобретении, (например, одну) вакцину, предлагаемую в изобретении, и/или по меньшей мере одну РНК, кодирующую по меньшей мере один антиген, описанный выше, в различных компонентах набора, например, каждый компонент набора включает

20 по меньшей мере одну РНК, кодирующую предпочтительно отличный от других антиген. Кроме того, можно использовать комбинацию обоих типов наборов. Наборы компонентов можно использовать, например, при проведении поочередного лечения, например, используя различные составы и/или

25 возрастающие концентрации композиции, предлагаемой в изобретении, вакцины, предлагаемой в изобретении, и/или по меньшей мере одной РНК, кодирующей по меньшей мере один антиген, указанный выше, в процессе одного и того же курса лечения *in vivo*. При необходимости (по техническим причинам) наборы компонентов можно использовать для введения индивидуальной препаративной формы или для введения по меньшей мере

30 одного из антигенов, входящих в состав композиции, предлагаемой в изобретении (т.е. в составе различных компонентов), но при условии, что при этом все еще достигается совместное присутствие различных агентов *in vivo*. Можно использовать, прежде всего, наборы компонентов в качестве

специальной формы наборов, в которых каждый компонент содержит по меньшей мере один, предпочтительно отличный от других антиген, указанный выше, при этом все компоненты набора образуют композицию, предлагаемую в изобретении, или вакцину, предлагаемую в изобретении, указанную в настоящем описании. Указанные специфические наборы компонентов предпочтительно можно использовать, например, если различные антигены приготавливают по отдельности в виде различных компонентов набора, но затем их вводят одновременно или поочередно млекопитающему, нуждающемуся в этом. В последнем случае все различные компоненты указанного набора, как правило, вводят в течение короткого промежутка времени, чтобы все антигены присутствовали в организме млекопитающего приблизительно в одно и то же время после введения последнего компонента набора. В предпочтительном варианте осуществления изобретения набор содержит по меньшей мере два компонента, которые содержат шесть мРНК, предлагаемых в изобретении. Предпочтительно все шесть мРНК присутствуют в различных компонентах набора, при этом мРНК предпочтительно являются лиофилизированными. Более предпочтительно набор содержит дополнительно в качестве компонента наполнитель для сольубилизации по меньшей мере одной мРНК, наполнитель предпочтительно представляет собой лактированный раствор Рингера. Любой из наборов, описанных выше, можно использовать для лечения, как описано выше.

Преимущества настоящего изобретения

В настоящем изобретении предложена композиция для лечения рака легких, где композиция содержит по меньшей мере одну мРНК, которая кодирует по меньшей мере шесть антигенов, обладающих способностью вызывать (адаптивный) иммунный ответ у млекопитающего, в которой антигены выбраны из группы, включающей 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивин (белок, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов 5; BIRC5), NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1)). Указанную композицию можно использовать для эффективного лечения рака легких или в качестве поддерживающей терапии в процессе стандартных курсов лечения. Она также позволяет исключать проблемы

неконтролируемого производства введенных последовательностей ДНК при применении РНК в таком подходе к путям лечения. мРНК, применяемые в композиции, предлагаемой в изобретении, характеризуются дополнительными существенными преимуществами по сравнению с экспрессирующими системами на основе ДНК, например, в отношении иммунного ответа, иммунизации или вакцинации. Указанные преимущества включают среди прочего, тот факт, что РНК, интродуцированная в клетку, не интегрируется в ее геном. Это позволяет исключать риск мутации указанного гена, которая может приводить к полной или частичной сго инактивации или приводить к ошибочной информации. Кроме того, это позволяет снижать другие риски, связанные с применением ДНК в качестве агента, индуцирующего иммунный ответ, (например, в качестве вакцины), такие как индукция патогенных антител к ДНК у пациента, которому вводят чужеродную ДНК, что может приводить к (возможно, фатальному) иммунному ответу. В противоположность этому, образование каких-либо антител к РНК к настоящему времени не установлено.

Чертежи

Представленные ниже чертежи предназначены для дополнительной иллюстрации изобретения. Они не направлены на ограничение сущности и объема изобретения.

На чертежах показано:

на фиг. 1 – последовательность мРНК 5T4 (GC)-*muag*-A64-C30 (SEQ ID NO: 1), кодирующая 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG). мРНК содержит следующие элементы:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодоном, кодирующим 5T4, представленная в SEQ ID NO: 3, стабилизирующая последовательность «*muag*» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост);

на фиг. 2 - последовательность мРНК 5T4 (GC)-*muag*-A64-C30-гистонSL (гистоновая структура типа «стебель-петля»)(SEQ ID NO: 19), кодирующая 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG). мРНК содержит следующие элементы:

5' -кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодонам, кодирующим 5T4, представленная в SEQ ID NO: 3, стабилизирующая последовательность «*muag*» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатков аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозинов на 3'-конце (поли-С-хвост); и последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», представленная в SEQ ID NO: 72;

на фиг. 3 – кодирующая последовательность дикого типа, которая кодирует 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), представленная в SEQ ID NO: 2, т.е. кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), без кодирующей последовательности с оптимизированным содержанием GC;

на фиг. 4 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), представленная в SEQ ID NO: 3;

на фиг. 5 – последовательность мРНК сурвивина (GC)-*muag*-A64-C30 (SEQ ID NO: 4), кодирующая сурвивин (белок 5, содержащий бакуловирусный IAP повторов; BIRC5). мРНК содержит следующие элементы:

5' -кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодонам, кодирующим сурвивин, представленная в SEQ ID NO: 6, стабилизирующая последовательность «*muag*» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозинов на 3'-конце (поли-С-хвост):

на фиг. 6 - последовательность мРНК сурвивина (GC)-*muag*-A64-C30-гистонSL (SEQ ID NO: 20), кодирующая сурвивин (белок 5, содержащий бакуловирусный IAP повторов; BIRC5). мРНК содержит следующие элементы:

5' -кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодонам, кодирующим сурвивин, представленная в SEQ ID NO: 6, стабилизирующая последовательность «*muag*» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков

цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост); и последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», представленная в SEQ ID NO: 72;

на фиг. 7 – кодирующая последовательность дикого типа, которая кодирует сурвивин, представленная в SEQ ID NO: 5, т.е. кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует сурвивин, без кодирующей последовательности с оптимизированным содержанием GC;

на фиг. 8 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая сурвивин, представленная в SEQ ID NO: 6;

на фиг. 9 – последовательность мРНК NY-ESO-1 (GC)-muag-A64-C30 (SEQ ID NO: 7), кодирующая NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B). мРНК содержит следующие элементы:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодоном, кодирующим NY-ESO-1, представленная в SEQ ID NO: 9, стабилизирующая последовательность «muag» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост);

на фиг. 10 – последовательность мРНК NY-ESO-1 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL (SEQ ID NO: 21), кодирующая NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B). мРНК содержит следующие элементы:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодоном, кодирующим NY-ESO-1, представленная в SEQ ID NO: 9, стабилизирующая последовательность «muag» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозин на 3'-конце (поли-С-хвост); последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», представленная в SEQ ID NO: 72;

на фиг. 11 – кодирующая последовательность дикого типа, которая кодирует NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B), представленная в SEQ ID NO: 8, т.е. кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует NY-ESO-1, без кодирующей последовательности с оптимизированным содержанием GC;

на фиг. 12 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B), представленная в SEQ ID NO: 9;

5 на фиг. 13 – последовательность мРНК MAGE-C1 (ак 613-1142) (GC)-muag-A64-C30 (SEQ ID NO: 10), которая кодирует MAGE-C1, содержащий аминокислотную последовательность, которая содержит ак 613-1142 белка MAGE-C1 дикого типа. мРНК содержит следующие элементы последовательности:

10 5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодоном, кодирующим MAGE-C1 (ак 613-1142), представленная в SEQ ID NO: 25, стабилизирующая последовательность «muag» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост);

15 на фиг. 14 - последовательность мРНК MAGE-C1 (ак 613-1142) (GC)-muag-A64-C30-гистонSL (SEQ ID NO: 22), которая кодирует MAGE-C1 (ак 613-1142). мРНК содержит следующие элементы последовательности:

20 5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодоном, кодирующим MAGE-C1 (ак 613-1142) представленная в SEQ ID NO: 25, стабилизирующая последовательность «muag» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост); и последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», представленная в SEQ ID NO: 72;

25 на фиг. 15 - кодирующая последовательность дикого типа, которая кодирует полноразмерный белок MAGE-C1, представленная в SEQ ID NO: 11, т.е. кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует MAGE-C1 без кодирующей последовательности с оптимизированным содержанием GC;

30 на фиг. 16 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая полноразмерный белок MAGE-C1, представленная в SEQ ID NO: 12;

на фиг. 17 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая MAGE-C1 (ак 613-1142), представленная в SEQ ID NO: 25;

на фиг. 18 – последовательность мРНК MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30 (SEQ ID NO: 13), которая кодирует MAGE-C2. мРНК содержит следующие элементы последовательности:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодонам, кодирующим MAGE-C2, представленная в SEQ ID NO: 15, стабилизирующая последовательность «muag» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост);

на фиг. 19 - последовательность мРНК MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL (SEQ ID NO: 21), которая кодирует MAGE-C2. мРНК содержит следующие элементы последовательности:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодонам, кодирующим MAGE-C2, представленная в SEQ ID NO: 9, стабилизирующая последовательность «muag» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост); последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», представленная в SEQ ID NO: 72;

на фиг. 20 - кодирующая последовательность дикого типа, которая MAGE-C2, представленная в SEQ ID NO: 14, т.е. кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует MAGE-C2, но не представляет собой кодирующую последовательность с оптимизированным содержанием GC;

на фиг. 21 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая MAGE-C2, представленная в SEQ ID NO: 15;

на фиг. 22 - последовательность мРНК MUC1 5×VNTR (GC)-muag-A64-C30 (SEQ ID NO: 16), кодирующая MUC1 (муцин 1), которая содержит 5 тандемных повторов. мРНК содержит следующие элементы последовательности:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся

кодонам, кодирующим MUC1 5×VNTR (GC)-*muag*-A64-C30, представленная в SEQ ID NO: 18, стабилизирующая последовательность «*muag*» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост);

5 на фиг. 23 - последовательность мРНК MUC1 5×VNTR (GC)-*muag*-A64-C30-гистонSL (SEQ ID NO: 24), кодирующая MUC1 (муцин 1), которая содержит 5 тандемных повторов. мРНК содержит следующие элементы последовательности:

5'-кэп, кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC для стабилизации и лучшего соответствия наиболее часто встречающимся кодонам, кодирующим MUC1 5×VNTR (GC)-*muag*-A64-C30, представленная в SEQ ID NO: 18, стабилизирующая последовательность «*muag*» в 3'UTR, кодирующая SEQ ID NO: 70, ~ 64 остатка аденозина на 3'-конце (поли-А-хвост), ~ 30 остатков цитозина на 3'-конце (поли-С-хвост); и последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», представленная в SEQ ID NO: 72;

15 на фиг. 24 - кодирующая последовательность дикого типа, которая кодирует MUC1 5×VNTR, представленная в SEQ ID NO: 17, т.е. кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует MUC1, но не представляет собой кодирующую последовательность с оптимизированным содержанием GC;

на фиг. 25 - кодирующая последовательность с оптимизированным содержанием GC, кодирующая MUC1 5×VNTR, представленная в SEQ ID NO: 18;

на фиг. 26 – результаты определения MUC1-специфического клеточного иммунного ответа, полученные с помощью метода ELISpot (элиспот). Мышей линии C57BL/6 вакцинировали с использованием 32 мкг MUC1-RNActive® (SEQ ID NO: 16) в дни 1, 5, 8, 12 и 15. Осуществляли *ex vivo* ELISpot-анализ секретов IFN-гамма в спленоцитах вакцинированных и контрольных мышей в день 6 после последней вакцинации. Клетки стимулировали на планшете с использованием либо полученного из MUC1 пептида (прогнозируемый эпитоп ГКГС-класса I), либо контрольного пептида. На графике представлены индивидуальные экспериментальные точки для отдельных мышей;

на фиг. 27 – данные о воздействии комбинации иммунотерапии на основе мРНК и лучевой терапии при ее применении для лечения низкоиммуногенной и радиорезистентной карциномы легких Льюиса (LLC):

на фиг. 28 - белковая последовательность 5T4 NP_001159864.1,
представленная в SEQ ID NO: 75;

на фиг. 29 - белковая последовательность сурвивина (BIRC5) O15392
according to SEQ ID NO: 76;

5 на фиг. 30 - белковая последовательность сурвивина (BIRC5) NP_001159.2,
представленная в SEQ ID NO: 77;

на фиг. 31 - белковая последовательность NY-ESO-1 NP_001318.1,
представленная в SEQ ID NO: 78;

10 на фиг. 32 - белковая последовательность MAGE-C1 NP_005453.2,
представленная в SEQ ID NO: 79;

на фиг. 33 - белковая последовательность MAGE-C2 NP_057333.1,
представленная в SEQ ID NO: 80;

на фиг. 34 - белковая последовательность MUC1, белок J05582.1,
представленная в SEQ ID NO: 81;

15 на фиг. 35 - белковая последовательность белка MUC1 5×VNTR,
представленная в SEQ ID NO: 82;

на фиг. 36 - кодирующая последовательность дикого типа, которая
кодирует MUC1, представленный в SEQ ID NO: 83, т.е. полноразмерная
кодирующая последовательность (CDS), которая кодирует MUC1, но не
20 представляет собой кодирующую последовательность с оптимизированным
содержанием GC.

Примеры

Приведенные ниже примеры служат для дополнительной иллюстрации
изобретения. Они не направлены на ограничение сущности и объема
25 изобретения.

1. Получение вакцины на основе мРНК MUC1 и индукция
антигенспецифических цитотоксических Т-клеток:

1.1 Получение вакцины на основе мРНК MUC1:

30 мРНК-вакцина состояла из мРНК с оптимизированным содержанием GC,
которая кодирует MUC1 (SEQ ID NO: 16). мРНК включали в комплекс с
протамином путем добавления протамина к мРНК в соотношении (1:2)
(мас./мас.) (адьювантный компонент). После инкубации в течение 10 мин

добавляли в таком же количестве свободную мРНК, которую применяли в качестве кодирующей антиген мРНК.

Полученную композицию растворяли в 80 об.% лактированном растворе Рингера.

5 1.2 Вакцинация

Мышей линии C57BL/6 вакцинировали путем внутрикожного введения 32 мкг одной из мРНК-вакцин, описанных выше в подпункте 1.1. Контрольных мышей обрабатывали путем внутрикожной инъекции буфера (лактат Рингера). Вакцинация включала пять иммунизаций, которые осуществляли по 2
10 иммунизации в неделю. Иммуный ответ анализировали через 5 или 6 дней после завершения цикла вакцинации.

1.3 Метод ELISpot – детекция ответа цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ)

15 Для детекции ответа цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) можно визуализировать данные о секреции IFN-гамма в ответ на специфический стимул на уровне единичной клетки, используя метод ELISpot.

20 Спленциты мышей, вакцинированных мРНК-вакциной, описанной выше в подпункте 1.1, и контрольных мышей выделяли через 5 или 6 дней после последней вакцинации и затем переносили в 96-луночные ELISpot-планшеты, сенсibilизированные захватывающим антителом к IFN-гамма. Затем клетки стимулировали в течение 24 ч при 37°C, применяя следующие пептиды:

Происходящий из MUC1 пептид (SEQ ID NO:73)	Происходящий из коннексина пептид (контроль) (SEQ ID NO: 74)
SAPDNRPAL	FEQNTAQP

25 После периода инкубации клетки вымывали из планшета и выявляли IFN-гамма, секретируемый клетками, с использованием биотинилированного вторичного антитела к мышиному IFN-гамма, а затем комплекса стрептавидин-АКР (щелочная фосфатаза). Для визуализации пятен применяли субстрат BCIP/NBT и осуществляли количественную оценку с помощью автоматического ELISpot-ридера (анализатор типа Immunospot, ЦТЛ-анализаторы LLC).

30 Внутрикожная вакцинация с использованием кодирующей MUC1 мРНК приводила к активации антигенспецифических CD8⁺-Т-клеток, что продемонстрировано на основе секреции IFN-гамма с помощью ELISpot-анализа.

2. Комбинация вакцинации с использованием мРНК и облучения мышей, несущих низкоиммуногенные (LLC) опухоли

В этом опыте оценивали эффективность комбинации вакцинации и облучения на мышах линии C57BL/6, несущих низкоиммуногенные (LLC) опухоли.

В день 0 осуществляли контрольное заражение мышей линии C57BL/6 (n = 10 на группу) путем подкожного введения сингенных 3LL-клеток (LLC-клетки, экспрессирующие опухолевые антигены EGFR и коннексин) в правую заднюю конечность. Лечение начинали, когда объем опухолей достигал 50 мм³. Мышей либо вакцинировали мРНК, кодирующими EGFR и коннексин (дважды в неделю), либо опухоли облучали 36 Гр, в виде 3 равных доз в 3 последовательных дня, либо мышей подвергали комбинированной терапии (при этом первую вакцинацию осуществляли за 6 ч до второго облучения), что продемонстрировано на фиг. 28. Необработанные мыши служили в качестве контроля. Мониторинг роста опухолей осуществляли, измеряя размер опухолей в трех направлениях с помощью кронциркуля.

Из-за отсутствия экспрессии молекул ГКГС класса I применение только одной иммунотерапии оказалось неэффективным в отношении ингибирования роста опухолей, а лучевая терапия приводила также лишь к кратковременному контролю опухолей. С другой стороны, объединение мРНК-вакцин с лучевой терапией приводило к сильному синергетическому противоопухолевому действию.

3. Клиническое испытание: полученная на основе мРНК противораковая вакцина и местное облучение в качестве средства лечения NSCLC

Исследуемое лекарственное средство:

В качестве вакцины применяли композицию, содержащую мРНК, которая кодирует 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), представленную в SEQ ID NO: 19, мРНК, которая кодирует сурвивин (белок, содержащий бакуловирусный IAP повторов 5; BIRC5), представленную в SEQ ID NO: 20, мРНК, которая кодирует NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1, STAG1B), представленную в SEQ ID NO: 21, мРНК, которая кодирует MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), представленную в SEQ ID NO: 22, мРНК, которая кодирует MAGE-C2 (меланомный антиген семейства

C2), представленную в SEQ ID NO: 23, и мРНК, которая кодирует MUC1 (муцин 1), представленную в SEQ ID NO: 24, включенную в комплекс с протаминам согласно описанному в примере 1.1. Каждую из кодирующих антиген мРНК приготавливали в виде стерильного лиофилизата. После восстановления в лактате Рингера получали раствор для внутривенной инъекции. Лекарственный продукт, применяемый в клиническом испытании, обозначали как CV9202. Он представлял собой вакцину, содержащую шесть компонентов лекарственного продукта, каждый из которых содержит отличную от других кодирующую антиген мРНК.

10 Исследуемая популяция:

• Группа 1: пациенты со стадией IV немелкоклеточного рака легких (NSCLC) и плоскоклеточной гистологией, без мутаций, активирующих рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), у которых достигнут частичный ответ (PR) или достигнута стабилизация заболевания (SD) после по меньшей мере 4 циклов химиотерапии первой линии на основе препаратов платины и пеметрекседа, и которым показана поддерживающая терапия пеметрекседом.

• Группа 2: пациенты со стадией IV NSCLC и плоскоклеточной гистологией, у которых достигнут PR или достигнута SD после по меньшей мере 4 циклов химиотерапии первой линии на основе препаратов платины и соединения, не включающего платину (комбинированная терапия с включением препаратов платины).

• Группа 3: пациенты со стадией IV NSCLC и плоскоклеточной гистологией, имеющие активирующую EGFR мутацию, у которых достигнут PR после 6-месячного лечения с использованием ингибитора тирозинкиназы (TKI) EGFR.

Исследуемая популяция: критерии включения

1. Пациенты: возраст > 18 лет, с гистологически или цитологически подтвержденной стадией IV NSCLC и с подтвержденным мутантным статусом EGFR в случае плоскоклеточной гистологии клеток.

- группа 1: плоскоклеточный NSCLC без активирующей мутации EGFR,
- группа 2: плоскоклеточный NSCLC,
- группа 3: плоскоклеточный NSCLC с активирующей мутацией EGFR.

2. PR или SD согласно RECIST, версия 1.1 после терапии первой линии, которая включала для:

группы 1: PR или SD после лечения цисплатином или карбоплатином и пеметрекседом (по меньшей мере 4 цикла),

5 группы 2: PR или SD после лечения цисплатином или карбоплатином и соединения, не включающего платину (по меньшей мере 4 цикла),

группы 3: PR после лечения гефитинибом, эрлотинибом или афатинибом в течение периода времени вплоть до 6 месяцев.

10 3. Для пациентов в группе 1 поддерживающая терапия пеметрекседом может быть показана по решению исследователя.

4. Присутствие по меньшей мере одного онкологического повреждения, доступного для излучения с использованием 4×5 Гр, и по меньшей мере одного дополнительного поддающегося измерению онкологического повреждения согласно RECIST, версия 1.1.

15 Онкологические повреждения, доступные для облучения, представляют собой:

метастазы в кость,

лимфатические узлы в надключичных, подмышечных или шейных областях,

20 кожные или подкожные метастазы.

Только для пациентов в группах 1 и 2: повреждения грудной области (опухоль легкого центральной локализации, лимфатические узлы в воротах легких или в средостении).

25 5. Общее состояние больного: согласно критериям западной кооперированной онкологической научно-исследовательской группы (ECOG): от 0 до 1.

6. Отвечающая требованиям функция органов:

30 Функция костного мозга: гематологические показатели в момент начала вакцинации: гемоглобин ≥ 95 г/л, количество тромбоцитов ≥ 75000 /мкл, лейкоцитов ≥ 2000 /мкл, абсолютное количество нейтрофилов ≥ 1000 /мкл, количество лимфоцитов $\geq 0,8 \times 10^9$ /л.

Функция печени: АЛТ и АСТ $\leq 2,5$ ВГН (верхняя граница нормы) у пациентов без метастазов в печень и ≤ 5 ВГН у пациентов с метастазами в печень.

5 Функция почек: сывороточный креатинин ≤ 2 мг/дл и клиренс креатинина ≥ 45 мл/мин согласно формуле MDRD.

7. Применение высокоэффективной контрацепции у пациентов с детородным потенциалом при включении в опыт и в течение 1 месяца после последней иммунизации.

10 8. Письменное информированное согласие до осуществления какой-либо связанной с опытом процедуры.

15 • Продолжительность лечения: каждому пациенту вакцину следует вводить вплоть до прогрессирования заболевания и следует вводить до возникновения потребности в последующем системном лечении второй линии или возникновения неприемлемой токсичности, в зависимости от того, что проявится первым.

• Время проведения скрининга: скрининг пациентов следует начинать через 2 недели после дня 1 последнего цикла химиотерапии первой линии (группы 1 и 2) или в пределах 6 месяцев после начала лечения TKI EGFR (эрлотиниб или гефитиниб) (группа 3).

20 Метод введения

Каждую кодирующую антиген мРНК вводили индивидуально в один и тот же день в виде двух внутрикожных инъекций по 200 мкл каждая, осуществляя в целом 12 инъекций.

25 Первые три вакцинации следует осуществлять с недельным интервалом (дни 1, 8, 15), а затем с интервалами в 2 или 3 недели вплоть до дня 57, с 3-недельными интервалами вплоть до месяца 6 и затем с 6-недельным интервалом согласно протоколу опыта. Вакцинации следует осуществлять вплоть до проявления неприемлемой токсичности или развития опухолей, требующего начала применения системной терапии второй линии.

30 В группах 1 и 3 CV9202 следует вводить сначала в дни 1, 8, 15, 36 и 57. При лечении пеметрекседом (группа 1) вакцинацию следует осуществлять за 4–7 дней до следующей предусмотренной схемой приема дозы пеметрекседа.

Указанную схему приема выбирают для того, чтобы избежать вакцинации при

самом низком уровне нейтрофилов и взаимодействия с противовоспалительными стероидами.

В группе 2 CV9202 следует вводить сначала в дни 1, 8, 15, 29, 43 и 57.

5 Указанную усиленную схему приема выбирают поскольку пациенты, как ожидается, имеют более короткий промежуток времени до прогрессирования заболевания, поскольку они не получают сопутствующее противораковое лечение.

10 Во всех группах пациентов можно продолжать вакцинировать после дня 57 в случае, если не удовлетворяются критерии прекращения лечения. После дня 57 вакцинации следует осуществлять каждые 3 недели вплоть до 6 месяцев со дня первой вакцинации. После 6-месячного периода вакцинации следует осуществлять каждые 6 недель вплоть до удовлетворения критериям прерывания лечения:

Критерии прерывания лечения:

15 1. Проявление токсичности, требующей длительного прерывания лечения.

2. Развитие заболевания, требующее начала проведения последующего системного лечения.

Введение

20 Вакцины: в каждый момент индивидуальной вакцинации каждый из 6 компонентов лекарственного средства следует вводить по отдельности в один и тот же день. Для каждого компонента следует осуществлять две внутрикожные (i.d.) инъекции по 200 мкл каждая, осуществляя в целом 12 инъекций.

25 Облучение: лучевую терапию следует осуществлять в виде 4-дневной схемы по 5 Гр каждый раз в течение одной недели, предпочтительно со дня 9 по день 12.

Выбор онкологических повреждений для облучения

30 Повреждения, выбранные для облучения, должны иметь наиболее длинный диаметр, составляющий по меньшей мере 2 см, и радиационный онколог в месте проведения испытания должен подтвердить, что соответствующее повреждение доступно для облучения согласно настоящему протоколу перед включением пациента в опыт.

Следующие повреждения являются потенциально доступными и их следует выбирать в соответствии со следующим иерархическим порядком:

первая преференция: метастазы в кость,

5 вторая преференция: лимфатические узлы в надключичных, подмышечных или шейных областях,

третья преференция: кожные или подкожные метастазы,

четвертая преференция: (только для пациентов в группах 1 и 2):

повреждения грудной области (опухоль легкого центральной локализации, лимфатические узлы в воротах легких или в средостении).

10 У пациентов в группе 3 никакие повреждения грудной области не могут быть выбраны для облучения, поскольку эти пациенты имеют более высокий риск лучевого пневмонита из-за сопутствующего лечения TKI EGFR.

15 Облучение более одного повреждения в соответствии с такой же схемой 4 × 5 Гр (например, несколько метастазов в кость) допускается, если клинически установлено, что поддающееся измерению повреждение сохранится для оценки ингибирующего ответа. Облучение более чем одного повреждения следует осуществлять в одном и том же временном окне.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

	<110>	КУРЕВАК ГМБХ	
5	<120>	КОМПОЗИЦИЯ И ВАКЦИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКИХ	
	<130>	CU01P148W01	
10	<160>	83	
	<170>	PatentIn, версия 3.5	
	<210>	1	
15	<211>	1467	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
20	<223>	5T4 (GC)-muag-A64-C30	
	<400>	1	
	gggagaaagc	uuassaugcc cggcgggugc agccggggcc cggccgcggg ggacggccgc	60
25	cugcggcucg	cgcgcucggc ccuggugcuc cugggguggg ucuccagcuc cagccccacc	120
	uccagcgcuu	ccagcuucuc cagcuccgcc cccuuccugg ccagcgcggg guccgcccag	180
	ccccgcucc	ccgaccagug cccgcgccug ugcgagugca gcgaggccgc gcggaccgug	240
30	aagugcguca	accgcaaccu gacggaggug cccaccgacc ucccgccua cgugcggaac	300
	cuguuccuga	ccggcaacca gcucgccguc cugcccgcgg gcgccuucgc gcgcggcccg	360
35	ccccuggccg	agcucgccgc ccugaaccug uccgggagcc gccucgacga ggugcgggcc	420
	ggcgcguucg	agcaccugcc gucccugcgc cagcucgacc ugagccacaа cccccuggcc	480
	gaccucucc	ccuucgccuu cagcgggagc aacgccuccg ugagcgcccc cuccccgucg	540
40	gucgagcuga	uccucaacca caucgugccc cccgaggagc agcggcagaa ccgcagcuc	600
	gagggcauug	ugguccgggc ccugcuggcc gggcgggccc uccagggccu gcgcggcug	660
45	gagcucgccu	ccaaccacuu ccuguaccug ccccgcgagc ugcucgcgca gcugccgagc	720
	cugcggcacc	ucgaccuguc caacaacagc cugguguccc ucaccuacgu cagcuuccgc	780
	aaccugacgc	accuggaguc ccuccaccug gaggacaacg cccugaaggu gcugcacaac	840
50	ggcaccucg	ccgagcugca gggcgucgcc cacauccggg uguuccucga caacaacccc	900
	ugggucgcg	acugccacau gggcgacaug gugaccuggc ugaaggagac cgaggugguc	960

	cagggcaagg accgccugac gugcgcguac cccgagaaga ugcggaaccg ggugcuccug	1020
5	gagcugaaca ggcgccaccu cgacugcgac ccgauccugc cccccuccu gcagaccagc	1080
	uacguguucc ucgggaucgu ccuggccccug aucggcgcca ucuuccuccu ggugcuguac	1140
	cusaaccgca agggcauca gaaguggaug cacacaucc gggacgcug ccgcgaccac	1200
10	auggaggggu accacuaccg guacgagauc aacgcggacc cccgccugac caaccugucc	1260
	agcaacuccg acgucugacc acuaguuaa agacugacua gcccgaugg ccucccaacg	1320
15	ggccccucc cccuccuugc accgagaua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1380
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaauuu ccccccccc ccccccccc	1440
	ccccccccu ucuagacaau uggaauu	1467
20	<210> 2	
	<211> 1263	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
25	<220>	
	<223> 5Т4 CDS дикого типа	
	<400> 2	
30	augccugggg ggugcucccg gggccccgc gccggggacc ggcgucugcg gcuggcgcga	60
	cuagcgcugg uaccuccggg cugggucucc ucguciuuc ccaccuccuc ggcauccucc	120
	uucuccuccu cggcgccguu ccuggcuucc gccgugucc cccagcccc gcugccggac	180
35	cagugccccg cgcugugcga gucuccgag gcagcgcgca cagucaagug cguuaccgc	240
	aaucugaccg aggugccac ggaccugccc gccuacgugc gcaaccucuu ccuuaccggc	300
40	aaccagcugg ccgucuccc ugccggcgcc uucgcccgcc gcccgccgu ggcgagcug	360
	gccgcgcua accucagcgg cagccgccug gacgaggugc gcgcgggcgc cuucgagcau	420
	cugcccagcc ugcgccagcu cgaccucagc cacaccac uggccgaccu caguccuuc	480
45	gcuuucucgg gcagcaaugc cagcgucug gcccccaguc cccuugugga acugaucug	540
	aaccacaucg ugccccuga agaugagcgg cagaaccgga gcuucgaggg caugguggug	600
50	gcggccccugc uggcggggcc ugcaucgag gggcuccgcc gcuuggagcu ggccagcaac	660
	cacuuccuu accugcccg ggaugugcug gcccaacug ccagccucag gcaccuggac	720

	uuaaguaaua auucgcuggu gagccugacc uacguguccu uccgcaaccu gacacaucua	780
5	gaaagccucc accuggagga caaugcccuc aaggucsuuc acaauggcac ccuggcugag	840
	uugcaagguc uacccsacau uaggguuuuc cuggacaaca aucccuuggu cugcgacugc	900
	cacauggcag acauggugac cuggcucaag gaaacagagg uagugcaggg caaagaccgg	960
10	cucaccugug cauaucgga aaaaugagg aaucgggucc ucuuggaacu caacagugcu	1020
	gaccuggacu gugaccgau ucuuccccc uccugcaaa ccucuuaugu cuuccuggu	1080
15	auuguuuuag ccugauagg cgcuauuuuc succugguuu uguuuuugaa ccgcaagggg	1140
	auaaaaaagu ggaugcauaa caucagagau gccugcaggg aucacaugga aggguaucuu	1200
	uacagauaug aaaucaaugc ggacccsaga uuaacgaacc ucaguucuaa cugcgaugc	1260
20	uga	1263
	<210> 3	
	<211> 1263	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> 5T4 CDS GC-оптимизированная	
30	<400> 3	
	augcccgccg gguccagccg gggcccgccg gccggggacc gccgscugcg gcucgcgcgc	60
	cuggcccgug ugscucuggg guggguiccc agcuccagcc ccaccuccag cgcuccagc	120
35	uucuccagcu ccgccccuu ccuggccagc gcgguguccg cccagcccc gcuccccgac	180
	cagugccccg ccugugcga gugcagcag gccgcgcgga ccgugaagug gcucaaccgc	240
40	aaccugaccg agguccccac cгaccucccg gccuaccguc ggaaccuguu ccugaccggc	300
	aaccagucug ccgucucgcc cgcggcgccc uucggcgccc gcccgccccu gcccgagcuc	360
	gccgccccga accuguccgg gagccgccuc gacgaggugc gggccggcgc guucgagcac	420
45	cugccguccc ugcgccagcu cгaccugagc cacaaccccc uggccgaccu ccccccuuc	480
	gccuucagcg ggagcaaccg cuccgugagc gccccuccc cgcuggucga gcugaucuc	540
50	aaccacaucg ugcccccgga ggaccgagcg cagaaccgca gcuucgaggg cauggugguc	600
	gcggccccugc uggccggggc ggcscuccag gccucgcgcc gccuggagcu cgcuccaac	660

	cacuuccugu accugccccg cgacgugcuc ggcgagcugc cgagccugcg gcaccucgac	720
5	cuguccaaca acagccuggu guccucacc uacgucagcu uccgcaaccu gacgcaccug	780
	gagucccucc accuggagga caacgcccug aaggugcugc acaacggcac ccucgccgag	840
	cugcaggggc ugccccacau ccggguguuc cuggacaaca accccugggu cugcgacugc	900
10	cacauggccg acauggugac cuggcugaag gagaccgagg ugguccaggg caaggaccgc	960
	cugacquccq cquacccca qaadauqcqg aaccgggugc uccuggagcu gaacagcgc	1020
15	gaccucgacu ggcacccgau ccugccccc uccugcaga ccagcuacgu guccucggg	1080
	aucguccugg cccugaucgg cgcacucuc succuggugc uguaccuca ccgcaaggc	1140
	aucaagaagu ggaugcaca cauccgggac gccugcccg accacaugga gggguaccac	1200
20	uaccgguacg acaucaaccg gcacccccgc cugaccaacc uguccagca succgacguc	1260
	uga	1263
25	<210> 4 <211> 633 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
30	<220> <223> Сурвивина (GC)-muag-A64-C30	
	<400> 4	
35	gggagaaagc uacccauggg cgcacccacc cugccgcccg ccuggcagcc guuccucaag	60
	gaccaccgca ucucgaccuu caagaacugg ccguuccugg agggcugcgc gugcaccgcc	120
	gagcggauug ccgagggccg cuucauccac ugccccaccg agaacgagcc ggaccuggcc	180
40	cagugcuucu ucugcuuca ggagcuggag ggcugggagc cggacgacga cccgaucgag	240
	gagcacaaga agcacagcag cggcugcgc uccugagcg ugaagaagca guucgaggag	300
	cugacgcucg gggaguuccu gaagcuggac cgggagcggg ccaagaaca gaucgcgaag	360
45	gagaccaaca acaagaaga ggaguucgag gagaccgcca agaaggugcg gcgggccauc	420
	gagcagcugg ccgccaugga cugaccacua guuaaagac ugacuagccc gaugggccuc	480
50	ccaacgggcc succucuccu ccuugcaccg agauuaaua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	540
	aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaauuccccc ccccccccc	600

cccccccccc cccccccua gacaauugga auu 633

5	<210> 5		
	<211> 429		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная последовательность		
10	<220>		
	<223> Сурвивина CDS дикого типа		
	<400> 5		
15	augggugccc cгacгuugccc cccugcccugг cagcccuuuc ucaaggacca ccгcaucucu	60	
	acauucaaga acugгcccuu cuugгagggc ucгccugca ccccгagгcг gaugгccгag	120	
	гcuггcuuca uccacugccc caccгagaac гagccгacc ucгcccagug uuucuucugc	180	
20	uucaaggagc ugгaaggгcug ггagccгacu гaccacccca uagaggaaca uaaaaгcau	240	
	ucгuccгguu гггcuuuccu uuсugucaag aagcaguuug aagaauaac ccuugгuca	300	
	uuuuucaaac ugгacagaga aagagccaaг aacaaaaug caaaggaaac caacaauaag	360	
25	aagaagaau uugaggaaac ucгcaagaaa guгccггcug ccaucгacc гcuггccugcc	420	
	augгauuca	429	
30	<210> 6		
	<211> 429		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная последовательность		
35	<220>		
	<223> Сурвивина CDS GC-оптимизированная		
	<400> 6		
40	augggгccc ccacccugcc гccггcccugг cagcccuucc ucaaggacca ccгcaucucг	60	
	accuucaaga acugгccguu ccugгagggc ucгccugca ccccгagгcг gaugгccгag	120	
	гccггcuuca uccacugccc caaccгagaac гagccгgacc ugгcccagug cuucuucugc	180	
45	uucaaggagc ugгaaggгcug ггagccгgac гaccaccгca ucгaggagca caagaagc	240	
	agcagггcu гггcuuuccu гagггucaag aagcaguuг agгagгucac гcuггггag	300	
50	uuccugaagc ugгaccггga гггггccaag aacaagauc гaaggгagc caacaacaag	360	
	aagaaggagu ucгaggгagc ггccaagaag guгccггггг ccaucгacc гcuггcccгc	420	

auggacuga 429

- 5 <210> 7
- <211> 747
- <212> РНК
- <213> Искусственная последовательность

- 10 <220>
- <223> NY-ESO-1 (GC)-MUAG-A64-C30

<400> 7

15 gggagaaaagc uuassaugca gggcggagggc cgcggcaccg gcggcucgac cggcgacggc 60
gacggggcccg gcggcccggg caucccggac gggccgggcg ggaacgcggg cggcccgggc 120
gaggccggcg ccaccggcg gcggggcccg cggggcgccg gcggcccccg ggcgagcggc 180
20 cccggcgggg gcggcccgcg gggcccgcac ggcggcgccg ccagcgggcu gaacgggugc 240
ugccggugcg gcggcccgcg cccggagagc cggcuccugg aguucuaacc ggccaugccg 300
uucgcgacc cgauggaggc ctagcuggcc cggcggagcc uggcccagga cggcccggcg 360
25 cugcccgugc cgggcgugcu ccugaaggag uucacgguga gcggcaacau ccugaccauc 420
cggcugaccg ccgcggacca ccggcagcug cagcugucga ucagcagcug ccuccagcag 480
30 cugagccugc ugauguggau caccagugc uuccugccgg uguuccuggc ccagccggcc 540
agcggccagc gccggugacc асиагииаиа агасигасиа gcccgauagg ccuccaacc 600
ggccsiccс ссссссугс ассгагаииа аиааааааа ааааааааа ааааааааа 660
35 ааааааааа ааааааааа ааааааааа ааааааааа ссссссссс ссссссссс 720
ссссссссс ссиагасааи уггааиу 747

- 40 <210> 8
- <211> 543
- <212> РНК
- <213> Искусственная последовательность

- 45 <220>
- <223> NY-ESO-1 CDS дикого типа

<400> 8

50 augcaggccg aaggccgggg cacaaggggg ucgacgggcg augcigaugg cccaggaggc 60
ccuggcauuc cigauggccc agggggcaau gcggcgggcc caggagaggc gggugccacc 120

	ggcggcagag guccccgggg cgcaggggca gcaagggccu cggggccggg aggaggcgcc	180
5	ccgcggggguc cgcauggcgg cgcggcuuca gggcugaaug gaugcugcag augcggggcc	240
	agggggccgg agagccgccu gcuugaguuc uaccucgcca ugccuuucgc gacaccaug	300
	gaagcagagc uggcccgcag gagccuggcc caggaugccc caccgcuicc cgugccaggg	360
10	gugcuucuga aggaguucac uguguccggc aacaucuga cuauccgacu gacugcugca	420
	gaccaccgcc aacugcagcu succaucagc uccugucucc agcagcuuuc ccuguugaug	480
15	uggaucacgc agugcuuucu gcccuguuu uggcucagc succucagg gcagaggcgc	540
	uaa	543
20	<210> 9 <211> 543 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
25	<220> <223> NY-ESO-1 CDS GC-оптимизированная	
	<400> 9 augcaggccg agggccggg caccggcggc ucgaccggcg acgcccagcg gcccggcggc	60
30	ccgggcaucc cgdacggccc gggcgggaac gcggcggccc cgggcgaggg cggcggccacc	120
	ggcgggcccgg gcccgcgggg cgcggcggcc gcccgggcga gcggccccgg cgggggcggc	180
35	ccgcggggcc cgcacggcgg cgcggccagc ggccugaacg ggugcugccc gugcggcggc	240
	cgcggccccg agagccggcu ccuggaguuc uaccuggcca ugccuuucgc gacccccaug	300
	gaggccgagc uggcccggcg gagccuggcc caggacggcc cggcgcugcc cgugccgggc	360
40	gugcuucuga aggaguucac ggugagcggc aacaucuga ccauccggcu gaccgccggc	420
	gaccaccggc agcugcagcu gucgaucagc agcugccucc agcagcugcg ccugcugaug	480
45	uggaucaccc agugcuuucu gcccuguuu cuggccagc cggccagcgg ccagcggccc	540
	uga	543
50	<210> 10 <211> 1800 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	

<220>

<223> MAGE-C1 (ак 613-1142) (GC)-muag-A64-C30

5 <400> 10
gggagaaagc uuaccaugca guccccgcug cagggcgagg aguuccagag cuccugcag 60
agccccgugu ccaucugcag succagcacc ccuccagcc ucccgagag cuccccgag 120
10 uccagccagu cccccccga gggcccgguc cagagcccc ugcacucucc gcagagcccc 180
ccggagggga ugcacucucc gagccccug cagucucccg agagcgccc cgagggcgag 240
gacucccuca gcccgugca gauccccag uccccgugg agggggagga cagccucucc 300
15 agccugcau uccccaguc cccgcccag ugggaggaca gccugagccc ccuccacuuc 360
ccccaguucc cgccccagg cgaggacuuc caguccagcc ugcagucucc cgugagcauc 420
20 ugcuccagcu ccacgagccu guccucucc cagagcuucc cggagucucc ccagagcccg 480
cccgaggggc cggcgaguc ccccugcag cgccccguga gcuccuucu cagcuacacc 540
cuggccuccc uccugcagag cuccacgag agcccgcaga gcccgcccga gggccccgcc 600
25 cagucuccgc ugcagagccc cgucuccagc uccccucca gcaccuccag cuccucagc 660
caguccagcc ccguguccag cuccccgucc agcaccucca gcuccugag caagagcucc 720
30 cccgagagcc ccugcaguc ccccgugauc agcuucucca gcuccacgag ccucuccccg 780
uucagcgagg aguccagcuc ccccgucgac gaguacacca gcuccagcga caccugcug 840
gaguccgaca gccuaccga cuccgagagc cugaucgaga gcgagccccc gucaccuac 900
35 acgcucgacg agaaggugga cgagcuggcc cgguuccugc uccugaagua ccaggugaag 960
cagcccauca ccaaggccga gaugcugacc aacgucaucu cccgcuacac cggcuacuuc 1020
40 cccgugaucu uccggaaggc gcgcgaguuc aucgagauc ucuucggau cagccugcgg 1080
gagguggacc ccgacgacuc cuacgucuuc gugaacacgc uggaccuac cagcgagggc 1140
ugccuguccg acgagcaggg gaugagccag aaccgccugc ucauccugau ccuguccauc 1200
45 aucuaucau agggcaccua cgccagcgag gaggucaucu gggacgugcu cuccggggauc 1260
ggcgugcggg cccgcccga gcacuucgcc uucggggagc cccgggagcu gcugaccaag 1320
50 gucugggugc aggagcacia ccucgaguac cgcgaggugc ccaacagcuc cccgccccgg 1380
uacgaguucc uguggggccc ccgcccac agcgagguca ucaagcggaa ggugguggag 1440

	uuccuggcga ugcucaagaa cacggucicc aucaccuicc cguccagcua caaggacgcc	1500
5	cugaaggacg uggaggagcg ggcccaggcc aucaucgaca ccaccgacga succacggcc	1560
	accgagagcg cguccagcuc cgugaugagc cccagcuucu ccagcgagug accacuaguu	1620
	auaagacuga cuagcccgau gggccuccca acggggccuc succccuccu ugcaccgaga	1680
10	uuauuuuuuu aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1740
	aaaaaaaaau auuucccccc ccccccccc ccccccccc cccucuaagac auuugaaui	1800
15	<210> 11 <211> 3429 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
20	<220> <223> полноразмерного MAGE-C1 CDS дикого типа	
	<400> 11	
25	auggggggaca aggaauugcc uacugcuggg augccgaguc uucuccagag uuccucugag	60
	aguccucaga guugucuga gggggaggac uccagucuc cucuccaau uccccagagu	120
	uuccugaga gcgacgacac ccugauuccu succagaguc cucagagucg uucugagggg	180
30	gaggacucci cggauccucu ccagagaccu ccugagggga aggacuccca gucuccucuc	240
	cagaaucccc agaguucucc ugagggcgac gacaccaguu succucucca gaauucucag	300
35	aguucuccug aggggaagga succcugucu ccucuaagaga uuucucagag cccuccugag	360
	ggugaggaug uccagucucc ucugcagaau ccugcgaguu ccuucucuc cucugcuuuu	420
	uugaguauuu uccagaguuc cccugagagu acucaaaguc cuuuugaggg uuuucccag	480
40	ucuguucucc agauuccugu gagcgccgcc uccuccucca cuuuagugag uauuuuccag	540
	aguuccccug agaguacuca aaguccuuuu gaggguuuuu cccagucucc acuccagauu	600
45	ccugugagcc gcuccucuc succacuuua uugaguauuu uccagaguuc cccugagaga	660
	acucagagua cuuuugaggg uuuugcccag ucuccucucc agauuccugu gagccccucc	720
	uccuccucca cuuuacugag ucuuuuccag aguucucug agagaacuca gaguacuuuu	780
50	gaggguuuug cccagucuc ucuccagauu ccugugagcc ccucucuc succacuuua	840
	gugagucuuu uccagaguuc cccugagaga acucagagua cuuuugaggg uuuucccag	900

	ucuccucucc agauuccugu gagcuccucc uccuccucca cuuuauugag ucuuuuccag	960
5	aguuccccug agagaacuca caguacuuuu gaggguuuuc cccagucucu ucuccagauu	1020
	ccuauugaccu ccuccuucuc cucuacuuua uugaguauuu uccagaguuc uccugagagu	1080
	gcucaaaagua cuuuugaggg uuuuccccag ucuccucucc agauuccugg gagccccucc	1140
10	uucuccucca cuuuacugag ucuuuuccag aguuccccug agagaacuca caguacuuuu	1200
	gaggguuuuc cccagucucc ucuccagauu ccuauugaccu ccuccuucuc cucuacuuua	1260
15	uugaguauuu uacagaguuc uccugagaqu gcucaaaquq cuuuuqaqq uuuuccccag	1320
	ucuccucucc agauuccugu gagcuccucu uucuccuaca cuuuauugag ucuuuuccag	1380
	aguuccccug agagaacuca caguacuuuu gaggguuuuc cccagucucc ucuccagauu	1440
20	ccugugagcu ccuccuccuc cuccuccacu uuauugaguc uuuuccagag uuccccugag	1500
	uguacucaa guacuuuuga ggguuuucc cagucuccuc uccagauucc ucagaguccu	1560
25	ccugaagggg agaauaccu uucuccucuc cagauuguuc caagucucc ugagugggag	1620
	gacucccugu cuccucacua cuuuccucag agcccuccuc agggggagga cucccuacu	1680
	ccucacuacu uuccucagag cccuccucag ggggaggacu ccugucucc ucacuacuuu	1740
30	ccucagagcc cucaggggga ggacucccug ucuccucacu acuuuccuca gagcccuccu	1800
	cagggggagg acuccauguc uccucucuc uuuccucaga guccucuca gggggaggaa	1860
35	uuccagucuu cucuccagag cccugugagc aucuguccu ccuccacucc auccagucuu	1920
	ccccagagu uccugagag uucucagagu ccuccugagg ggccugucca guccucuc	1980
	cauaguccuc agagcccucc ugaggggag cacucccau cuccucucca gaguccugag	2040
40	agugcuccug agggggagga uuccugucu ccucuccaaa uuccucagag uccucuugag	2100
	ggagaggacu cccugucucc ucuccuuuu ccucagaguc cuccugagug ggaggaucc	2160
45	cucucuccuc uccacuucc ucaguuccu ccucagggg aggacuucca gucuucucuc	2220
	cagaguccug ugaguucug cuccuccuc acuuuuuga gucuuccca gaguuuccu	2280
	gagaguccuc agaguccucc ugaggggccc gcucagucuc cucuccagag accugucagc	2340
50	uccuucuuu ccuacacuu agcgagucuu cuccaaagu ccaugagag uccucagagu	2400
	ccuccugagg ggccugcca guccucuc cagaguccug ugaguccuu cccuccucc	2460

	acuucaucga gucuuucca gaguucuccu gugaguccu uccccuccc cacuucaucg	2520
5	agucuuucca agaguucccc ugagaguccu succagaguc cugugaucuc cuuccuccc	2580
	uccacuucau ugagcccauu cagugaagag uccagcagcc caguagauga auauacaagu	2640
	uccucagaca ccuugcuaga gagugauucc uugacagaca gcgaguccuu gauagagagc	2700
10	gagcccuugu ucacuuauac acuggaugaa aagguggacg aguuggcgcg guuucuuuc	2760
	cucaauauac aagugaagca gccuaucaca aaggcagaga ugcugacgaa ugucaucagc	2820
15	agguacacgg gcuaucuuucc ugugaucuuc aggaaagccc gugaguucau agagauacuu	2880
	uuuggcauuu cccugagaga aguggaccsu gaugacuccu augucuuugu aaacacauua	2940
	gaccucaccu cugaggggug ucugagugau gagcagggca ugucccaga a cccuccucg	3000
20	auucuuauuc ugaguaucau cuucaaaaag ggcaccuauug ccucugagga ggucaucugg	3060
	gaugugcuga guggaaauagg ggugcgugcu gggagggagc acuuugccuu uggggagccc	3120
	agggagcucc ucacuaaagu uugggugcag gaacauuacc uagaguaccg ggaggugccc	3180
25	aacucuuuc succucguua cgaauuccug ugggguccaa gagucuuuc agaagucuu	3240
	aagaggaaag uaguagaguu uuuggccauug cuaaagaaua ccgucssuau uaccuuucca	3300
30	uccucuuaca aggaugcuuu gaaagaugug gaagagagag cccaggccau aaugacacc	3360
	acagaugauu cgacugccac agaaagugca agcuccagug ucaugucsscc cagcuucucu	3420
35	ucugaguga	3429
	<210> 12	
	<211> 3429	
	<212> РНК	
40	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> полноразмерного MAGE-C1 CDS GC-оптимизированная	
45	<400> 12	
	augggcgaca aggacaugcc caccgcccggg augccgagcc ugcuccaguc cagcuccgag	60
	agcccccagu ccugcccccga gggcgaggac agccaguccc ccugcagau cccgcagagc	120
50	ucccccgaga gcgacgacac ccuguacccc succaguccc cgagagccc guccgagggg	180
	gaggacagcu ccgaccgcu gcagcgcscs cccgagggca aggacagcca gucccccug	240

	cagauccegc agagcuccecc cgaggggggac gacacgcaga gceccucca gaacagccag	300
5	uccagccccg agggcaagga cuccugagc ccgucggaga ucuccagag ccccccgag	360
	ggcgaggacg ugcaguccecc gcuccagaac ccggccagcu ccuucucag cuccgcgucg	420
	cugagcaucu uccaguccag ccccagagucc acccagagcc ccuucgaggg guccccccag	480
10	uccguccucc agaucccggg gagcgccgcc uccagcagca ccuggguguc caucuuccag	540
	agcucceccg agagcaccca gucccccuc gagggcuucc cccagagccc gcugcagauc	600
15	cccguguccc ggagcuucuc cagcacgcuc cuguccaucu uccagagcuc ccccagagcc	660
	accagagca ccuucgaggg guucgccag ucccgcguc agaucccggg gagccccucc	720
	agcagucca ccuuccugag ccuguuccag uccuucagcg agcggacgca guccaccuuc	780
20	gagggcuucg cccagagcuc ccuccagauc cccgugagcc cgucucucag cuccaccucg	840
	gucagccugu uccaguccag ccccagagcc acccagucca cguucgaggg guccccccag	900
25	agccccucc agaucccggg guccagcucc agcagucca ccugcugag ccucuuccag	960
	uccagccccg agcggaccca cuccaccuuc gagggcuucc cccagagccu gcugcagauc	1020
	cccaugacgu ccagcuucuc cagcaccuc cuguccaucu uccagagcuc cccggagagc	1080
30	gcgagucca ccuucgaggg cuccccccag agccccguc agaucccggg guccccgagc	1140
	uucuccagca ccuuccugag ccuguuccag uccagccccg agcgcacgca cuccaccuuc	1200
35	gagggcuucc cccagagccc ccuccagauc ccgaugaccu ccagcuucuc cagcaccucg	1260
	cuguccauc uccagagcuc ccccagagag gccaguccg ccuucgaggg guccccccag	1320
	agccccguc agaucccggg guccagcucc uucagcuaca cgcugcucuc ccuguuccag	1380
40	agcagccccg agcggaccca cuccaccuuc gagggcuucc cccagagccc gcugcagauc	1440
	cccgugucca gcuccagcuc cagcuccacc cuccugagcc uguuccaguc cagccccgag	1500
45	ugcacgcagu ccaccuucga gggcuuccecc cagagcccgc ugcagaucce ccaguccecc	1560
	cccagggggg agaacacca cagcccgcuc cagaucgugc ccuccucgccc cgagugggag	1620
	gacagccugu ccccgacua cuucccgag agccccccgc agggcgagga cagccucucc	1680
50	ccccacuacu ucccgcagag cccgccccag ggggaggacu ccugagccc ccacuacuuc	1740
	ccgaguccc cccagggcga ggacagccug ucccgcacu acuuccccca gagcccgcc	1800

	cagggggagg acuccaugag cccccucua c uccccagag ccccgugca gggcgaggag	1860
5	uuccagagcu cccugcagag ccccgugucc aucugcagcu ccagcaccoc succagccuc	1920
	ccgcagagcu uccccgaguc cagccagucc cccccgagg gcccggucca gagccccug	1980
	cacucocccgc agagccoccc ggaggggaug cacucocaga gccocccugca guccocccgag	2040
10	agcgcoccccg agggcgagga cuccucagc ccgcugcaga uccccaguc cccgcuggag	2100
	ggggaggaca gccucuccag ccugcacuuc cccaguccc cgcoccgagug ggaggacagc	2160
15	cugagccccc uccacuucc ccaguucccg cccagggcg aggacuucca guccagccug	2220
	cagucccccg ugagcaucug cuccagcucc acgagccugu cccucoccca gagcuucccg	2280
	gagucccccc agagcccgcc cagggggccg gcgcaguccc cccugcagcg ccccgugagc	2340
20	uccuucuua gcuacacccu ggccuccuc cugcagagcu cccacgagag cccgcagagc	2400
	ccgcccgagg gccccgccc guccccgcug cagagcccg uguccagcu cccuccagc	2460
25	accuccagcu cccucagcca guccagcccc guguccagcu ucccguccag caccuccagc	2520
	ucccugagca agagcucoccc cagagccccc cugcaguccc ccgugaucag cuuccuccagc	2580
	uccacgagcc ucucocccguu cagcgaggag uccagcuccc cccugcagca guacaccagc	2640
30	uccagcgaca cccugcugga guccgacagc cucaccgacu cccagagccu gaucgagagc	2700
	gagcccccugu ucaccuacac gcucgacgag aagguggagc agcuggcccg guuccugcuc	2760
35	cugaaguacc aggugaagca gcccaucacc aaggccgaga ugcugaccaa cgucaucucc	2820
	cgcuaacacc gcuacuucc ggugaucuuc cggaaaggcg gcgaguucau cgagaucucc	2880
	uucgggauca gccugcggga gguggacccc gacgacuccu acgucucgu gaacacgcug	2940
40	gaccucacca gcgagggcug ccuguccgac gagcagggga ugagccagaa cccccugcuc	3000
	auccugauc uguccaucau cuucaucaag ggcaccuacg cccagcgagga gguaucugg	3060
45	gacgugcucu cccggaucgg cugcggggcc gcccgcgagc acuucgccuu cggggagccc	3120
	cgggagcugc ugaccaaggu cugggugcag gagcacuacc ucgaguaccg ccaggugccc	3180
	aacagcuccc cgcocccgua cgaguuccug uggggccccc gcgcccacag ccaggucauc	3240
50	aagcggaaagc ugguggaguu ccuggcgaug cucaagaaca ccgucocccau caccuucccg	3300
	uccagcuaca aggacgcccu gaaggacgug gaggagcggg cccagccau caucgacacc	3360

	accgacgacu ccacggccac cgagagcgcg uccagcuccg ugaugagccc cagcuucucc	3420
5	agcgaguga	3429
	<210> 13	
	<211> 1326	
	<212> РНК	
10	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30	
15	<400> 13	
	gggagaaagc uuaccaugcc cccggugccc ggcguccccc uccggaaccgu ggacaaccgac	60
	agccccaccu ccguggagcu ggaggacugg gucgacgccc agcaccggac cgacgaggag	120
20	gaggaggagg ccagcuccgc gagcuccacg cucuaccugg uguucagccc succagcuuc	180
	uccaccagcu ccagccugau ccucgggggc cccgaggagg aggaggugcc succgggguc	240
	aucccgaacc ugaccgagag caucuccucc agcccccgcc agggcccgcc ccaggggccc	300
25	ucccagagcc cccuguccag cugcugcagc uccuucagcu gguccagcuu succgaggag	360
	agcuccagcc agaagggcga ggacaccggc acgugccagg ggcucccgga succgagagc	420
30	uccuucaccu acaccugga cgagaaggug gccgagcugg uggaguuccu ccugcugaag	480
	uacgaggccg aggagcccg uaccgagggc gagaugcuca ugaucgugau caaguacaag	540
	gacuacuucc ccgugauccu gaagcgcgcc cgggaguuca uggagcugcu cuucggccug	600
35	gcgcugaucg agguccggcc cgaccacuuc ugcguguucg ccaacacggu gggccucacc	660
	gacgagggga gcgacgacga gggcaugccg gagaacuccc ugcugaucau cauccucagc	720
40	gucaucuuca ucaagggcaa cugcgccucc gaggagguga ucugggaggu gcugaacgcc	780
	gucggggugu accggggccg cgagcacuuc guguacgggg agccccggga gcugcucacc	840
	aaggucuggg ugcagggcca cuaccuggag uaccgagag ugccgcacag ccccccccg	900
45	uacuacgagu uccugugggg cccccggcc cacagcgagu ccaucaaga gaagguccu	960
	gaguuccugg csaagcugaa caacaccgug cccagcagcu uccccuccug guacaaggac	1020
50	gcccucaagg acgucgagga ggcgugcag gccacgaucg acaccgcgga cgacgccacc	1080
	gugauggcca gcgauccu gagcgucaug uccagcaacg uguccuucag cgagugacca	1140

	cuaguuaaa gacugacuag cccgaugggc cusscaacgg gcccuccucc cuccuugca	1200
5	ccgagauuaa uaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1260
	aaaaaaaaa aaaaauuuc ccccccccc ccccccccc ccccccccu cuagacaauu	1320
	ggaauu	1326
10	<210> 14	
	<211> 1339	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
15	<220>	
	<223> MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL	
20	<400> 14	
	gggagaagc uaccsaugcc cccggugccc ggcuccccu uccggaacgu ggacaacgac	60
	agccccaccu ccguggagcu ggaggacugg gucgacgccc agcaccgac cagcagggag	120
25	gaggaggagg ccagcuccgc gagcuccacg cucuaccugg uguucagccc succagcuuc	180
	uccaccagcu ccagccugau ccucgggggc cccgaggagg aggaggugcc succgggguc	240
	aucscgaacc ugaccgagag cauccccucc agccccccgc agggcccgcc ccaggggcc	300
30	ucccagagcc ccuguccag cugcugcagc uccuucagcu gguccagcuu succgaggag	360
	agcuccagcc agaagggcga ggacaccggc acgugccagg ggcucccgga succgagagc	420
35	uccuicaccu acaccugga cgagaaggug gccgagcugg uggaguuccu ccugcugaag	480
	uacgaggccg aggagcccgu caccgaggcc gagaugcuca ugaucgugau caaguacaag	540
	gacuacuucc ccgugauccu gaagcgcgcc cgggaguuca uggagcugcu cuucggccug	600
40	gcgugaucg aggucgggcc cgaccacuuc ugcguguucg ccaacacggu gggccuacc	660
	gacgagggga gcgacgacga gggcaugccc gagaacuccc ugcugaucuu cauccucagc	720
45	gucaucuuca ucaagggcaa cugcgcuccc gaggagguga ucugggaggu gcugaacgcc	780
	gucggggugu acgcgggccc cgagcacuuc guguacgggg agccccggga gcugcucacc	840
	aaggucuggg ugcagggcca cuaccuggag uaccgagagg ugccgcacag ccccccccg	900
50	uacuacgagu uccugugggg cccccgggcc cacagcgagu ccaucaagaa gaagguccuc	960
	gaguuccugg ccaagcugaa caacaccgug cccagcagcu ucccuccug guacaaggac	1020

	gcccucaagg acgucgagga gcgcgugcag gccacgaucg acaccgcgga cgacgccacc	1080
5	gugauggcca gcgagucssu gagcgucaug uccagcaacg ugucsuucag cgagugacca	1140
	cuaguuaaaa gacugacuag cccgaugggc succcaacgg gccucucc ccuccuugca	1200
	ccgagauuaa uaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1260
10	aaaaaaaaaa aaaaauagcau cccccccccc cccccccccc cccccccccc caaaggcucu	1320
	uuucagagcc accagaauu	1339
15	<210> 15 <211> 1122 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
20	<220> <223> MAGE-C2 CDS дикого типа	
	<400> 15	
25	augccucccg uuaccaggcu uccaauccgc aacguugaca acgacucccc gaccucaguu	60
	gaguuaaag acuggguaga ugcacagcau cccacagaug aggaagagga ggaagccucc	120
	uccgccucuu ccacuuugua cuuaguauuu uccccucuu cuuucuccac auccucuuu	180
30	cugauucuuug guggucsigu ggaggaggag gugccucug gugugauacc aaaucuacc	240
	gagagcauuc ccaguagucc uccacagggg ccuccacagg guccuuccca gaguccucug	300
35	agcuccugcu gcuccucuuu uucauggagc ucauucagug aggaguccag cagccagaaa	360
	ggggaggaua caggcaccug ucagggccug ccagacagug aguccucuuu cacauuaca	420
	cuagaugaaa agguggccga guuaguggag uuccugucc ucaaaucga agcagaggag	480
40	ccuguaacag aggacagau gcugaugau gucaucaagu acaagauua cuuuccugug	540
	auacucaaga gagcccguu guucauggag cuucuuuuug gccuugcccu gauagaagug	600
45	ggcccugacc acuucugugu guuugcaaac acaguaggcc ucaccgauga gguagugau	660
	gaugagggca ugcccagaaa cagccuccug auuauuuuuc ugagugugau cuucauaag	720
	ggcaacugug ccucugagga ggucaucugg gaagugcuga augcaguagg gguauaugcu	780
50	gggagggagc acuucgucua uggggagccu agggagcucc ucacuaaagu uggggugcag	840
	ggacauuacc uggaguaucg ggaggugccc cacaguucuc succauauua ugaauuccug	900

	ugggguccaa gagcccauuc agaaagcauc aagaagaaag uacuagaguu uuuagccaag	960
5	cugaacaaca cuguuccuag uuccuuucca uccugguaca aggaugcuuu gaaagaugug	1020
	gaagagagag uccaggccac aaugauacc gcagaugaug ccacugucan ggccagugaa	1080
	agccucagug ucauguccag caacugucucc uuuucugagu ga	1122
10	<210> 16	
	<211> 1860	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
15	<220>	
	<223> MUC1 5 VNTR (GC)-muag-A64-C30	
20	<400> 16	
	gggagaaaagc uuaaccaugac ccccgccacc cagagcccg ucuuccugcu ccugcugcuc	60
	acggugcuga ccgucgugac cggguccggc cacgccagcu ccacccccgg gggcgagaag	120
25	gagacgagcg ccacccagcg guccagcgug cccuccagca ccgagaagaa cgcggucucc	180
	augaccagcu ccgucgugag cuccacagc cccggguccg gcagcuccac gaccagggc	240
	caggacguga ccucgcccc ggccaccgag cccgccagcg gguccgcccgc gacguggggc	300
30	caggacguca ccagcgugcc cgugacccgc cccgccucgg ggagcaccac gccgccgcc	360
	cacgacguca ccuccgcccc cgacaacaag cccgcccgg gcagcaccgc ccccccgcc	420
35	cacgggguga ccuccgcccc cgacacgcg cccggccccg gcagcaccgc gcccccgcc	480
	cacggcguga ccuccgcccc ggacacccgc cccggccccg ggagcacgjc cccgccggcg	540
	cacggcguga ccuccgcccc cgacacccgg cccggccccg ggagcaccgc cccgccgcc	600
40	cacggcguga cgucccgccc cgacacccgc cccggccccg gcagcaccgc ccccccgcc	660
	cacgggguga ccuccgcccc ggacacgcg cccgcccgg gcagcaccgc cccgccggcc	720
45	cacgggguga ccuccgccc cgacaaccgc cccgccucgg ggagcaccgc cccgcccgug	780
	cacaacguga ccuccgccc cggcuccgc agcggguccg ccagcaccu cguccacaac	840
	ggcacguccg cccgggccc caccacccc gccagcaagu ccacgcccuu cagcaucccg	900
50	ucccaccaca gcgacacccc caccacccug gcgucccaca gcacgaagac cgacgccucc	960
	agcaccacc acuccagcgu gccccgcug accagucca accacagcac guccccgag	1020

	cucagcaccg gggugucsuu cuuciuuccug agcuuccaca ucuccaaccu gcaguucaac	1080
5	agcuccucug aggaccccag caccgacuac uaccaggagc ugcagcggga caucuccgag	1140
	auguuccugc agaucuacaa gcagggcggc uuccucgggc ugagcaacau caaguuccgc	1200
	cccggcuccg ucguggugca gcugaccuc gccuuccggg aggggacgau caacguccac	1260
10	gacguggaga cccaguucaa ccaguacaag accgaggccg ccagccgcuu caaccugacc	1320
	aucuccgagc ugagcgucuc cgacgugccc uccccguuca gcgcgcaguc cggcgcggc	1380
15	gugcccgggu ggggcaucgc ccugcucguc cuggugugcg ugcuggucgc ccucgccauc	1440
	guguaccuga ucgcgcuggc cgugugccag ugccggcgca agaacuacgg gcagcucgac	1500
	auciuccccg cccgggacac guaccaccg augagcgagu acccgaccua ccacaccac	1560
20	ggccgcuaacg uccccccag cuccaccgac cggagcccuu acgagaaggu guccgcggg	1620
	aacggcggca gcuccugag cuacaccaac ccggcggugg ccgccgccuc cgccaaccug	1680
25	ugaccacuag uuauaagacu gacuagcccg augggccucc caacgggcc uccccccuc	1740
	cuugcaccga gauuaaiaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa auauuiccccc ccccccccc ccccccccc cccccucuag	1860
30	<210> 17	
	<211> 1885	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
35	<220>	
	<223> MUC1 5 VNTR (GC)-muag-A64-C30-гистонSL	
	<400> 17	
40	gggagaaagc uuaccaugac ccccggcacc cagagcccg ucuuccugcu ccugcugcuc	60
	acggugcuga ccgucgugac cggguccggc caccgccgcu ccacccccgg gggcgagaag	120
45	gagacgagcg ccacccagcg guccagcgug cccuccagca ccgagaagaa cgcggucucc	180
	augaccagcu ccgugcugag cuccacagc cccggguccg gcagcuccac gaccagggc	240
	caggacguga cccucgcccc ggccaccgag cccgccagcg gguccgccgc gacguggggc	300
50	caggacguca ccagcgugcc cgugaccgc cccgccugg ggagaccac gccgccgcc	360
	cacgacguca ccucgcccc cgacaacaag cccgcgccgg gcagaccgc cccccgcc	420

	cacgggguga ccuccgcccc cgacacggcg cgggcccccg gcagcaccgc gcccccgcc	480
	cacggcguga ccuccgcccc ggacacccgc cccgcccccg ggagcacggc cccgcccggc	540
5	cacggcguga ccuccgcccc cgacacccgg cccgcccccg ggagcaccgc cccgcccgcc	600
	cacggcguga cguccggccc cgacacccgc cgggcccccg gcagcaccgc ccccccgcc	660
10	cacgggguga ccuccgcccc ggacacggcg cccgcccggc gcagcaccgc cccgcccggc	720
	cacgggguga ccuccgccc cgacaaccgc cccgcccugg ggagcaccgc cccgcccggc	780
	cacaacguga ccuccgcccag cggcuccggc agcgggucgg ccagcaccgc cguccacaac	840
15	ggcacgucgg cccggggccac caccaccccc gccagcaagu ccacgcccuu cagcaucccg	900
	ucccaccaca ggcacacccc caccacccug gcuuccaca gcacgaagac cgacgccucc	960
20	agcaccacc acuccagcgu gcccccgug accagucca accacagcag guccccgag	1020
	cucagcaccg ggguguccuu cuucuuccug agcuuccaca ucuccaaccu gcaguucaac	1080
	agcuccucg aggaccccag caccgacuac uaccaggagc ugcagcggga caucuccgag	1140
25	auguuccugc agaucuacaa gcagggcggc uuccucgggc ugagcaacau caaguuccgc	1200
	cccggcuccg ucguggugca gcugaccuc gccuuccggg aggggacgau caacguccac	1260
30	gacguggaga cccaguucaa ccaguacaag accgaggccg ccagccgcu caaccugacc	1320
	aucuccgagc ugagcgucuc cgacgugccc ucccguuca gcgcgcaguc cggcggcggc	1380
	gugcccgggu ggggcaucgc ccugcucguc cuggugugcg ugcuggucgc ccucgccauc	1440
35	guguaccuga ucgcgucggc cgugugccag ugccggcgca agaacuacgg gcagcucgac	1500
	aucuucccg cccgggacac guaccaccg augagcgagu acccgaccua ccacaccac	1560
40	ggcgcuaag ucccccccag cuccaccgac cggagccccu acgagaaggu guccgcccgg	1620
	aacggcggca guuccugag cuacaccaac cgggoggugg ccgcccuc cgccaaccug	1680
	ugaccacuag uuauaagacu gacuagcccg augggccucc caacgggcc uccucccuc	1740
45	cuugcaccga gauuaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa auucauuccc ccccccccc ccccccccc cccccccaaa	1860
50	ggcucuuuc agagccacca gaau	1885

<210> 18
<211> 1668
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

5

<220>
<223> Muc1-5 VNTR CDS дикого типа

10

<400> 18
augacaccgg gcaccsaaguc uccuuucuuu cugcugcugc uccucacagu gcuuacaguu 60

guuacagguu cuggucaugc aagcucuacc ccagguggag aaaaggagac uucggcuacc 120

15

caagaaquu caquccsaq cucuacucaq aqaaucucg uaguaugac cagcagcqua 180

cucuccagcc acagccccgg uucaggcucc uccaccacuc agggacagga ugucacucug 240

gccccggcca cggaaaccagc uucagguuca gcugccaccu ggggacagga ugucaccucg 300

20

gucccaguca ccaggccagc ccugggcucc accaccccc cagcccacga ugucaccuca 360

gccccggaca acaagccagc cccgggcucc accgcccccc cagcccacgg ugucaccucg 420

25

gccccggaca ccaggccggc cccgggcucc accgcccccc cagcccacgg ugucaccucg 480

gccccggaca ccaggccggc cccgggcucc accgcccccc cagcccacgg ugucaccucg 540

gccccggaca ccaggccggc cccgggcucc accgcccccc cagcccacgg ugucaccucg 600

30

gccccggaca ccaggccggc cccgggcucc accgcccccc cagcccacgg ugucaccucg 660

gccccggaca ccaggccggc cccgggcucc accgcccccc cagcccacgg ugucaccucg 720

35

gccccggaca acaggcccgc cuugggcucc accgccccuc caguccaaca ugucaccucg 780

gccucaggcu cugcaucagg cucagcuuu acucuggugc acaacggcac cucugccagg 840

gcuaccaca cccagccag caagagcac ccauucuaa ucccagcca ccacucugau 900

40

acuccuacca cccuugccag ccauagcacc aagacugaug ccaguagcac ucaccuagc 960

ucgguaccuc cucucaccuc cuccaaucau agcacuuuc cccaguuguc uacugggguc 1020

45

uccuuuuuu uccugucuuu ucacuuuca aaccuccagu uuaauuccuc ucuggaagau 1080

cccagcaccg acucucacca agagcugcag agagacauuu cugaaauguu uuugcagauu 1140

uaaaacaag gggguuuuu gggccucucc aauuuuagu ucaggccagg aucuguggug 1200

50

guacaauuga cucuggccuu ccgagaaggu accaucaaug uccacgacgu ggagacacag 1260

uucuuuaguu auaaaacgga agcagccucu cgaauuaacc ugacgaucuc agacgucagc 1320

	gugagugaug ugccaauuucc uuucucugcc cagucugggg cuggggugcc aggcuggggc	1380
5	aucgcgcugc uggugcuggu cuguguucug guugcgcugg ccauugucua ucucauugcc	1440
	uuggcugucu gucagugccg ccgaaagaac uacgggcagc uggacaucuu uccagcccgg	1500
	gauaccuacc auccuaugag cgaguacccc accuaccaca cccauggggcg cuaugugccc	1560
10	ccuagcagua ccgaucguag ccccuauag aagguuucug cagguaacgg uggcagcagc	1620
	cucucuuaca caaaccsagc aguggcagcc gcuucugcca acuuquaс	1668
15	<210> 19 <211> 1480 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
20	<220> <223> 5T4 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL	
	<400> 19	
25	gggagaaagc uuассаugcc cggcgggugc agccggggcc cggccgcccgg ggacggcccgc	60
	cugcggcucg cgcgccuggc ccuggugcuc cugggguggg ucuccagcuc cagccccacc	120
	uccagcgcсu ccagcuucuc cagcuccgcc cccuuccugg ccagcgcggg guccgcccag	180
30	ccccgcucc ccgaccagug ccccgccсug ugcgagugca gcgaggccgc gcggaccgug	240
	aagugcgua accgcaaccu gacggaggug cccaccgacc ucccggccua cgugcggaac	300
	cuguuccuga ccggcaacca gcucgcсugc cugcccgcсg gcgccuucgc gcgcccggccg	360
35	ccccuggccg agcucgcсgc ccugaaccug uccgggagcc gccucgacga ggugcggggc	420
	ggcgcguucg agcaccugcc gucccugcgc cagcucgacc ugagccacaа cccccuggcc	480
40	gaccucuccc ccuucgcсuu cagcgggagc aacgccuccg ugagcgcсcc cuccccgcug	540
	gucgagcuga uccucaacca caucgugccc cccgaggacg agcggcagaa ccgcagcуuc	600
	gagggcaugg uggucgcсggc ccugcuggcc gggcggggcc uccagggccu gcgcccgcug	660
45	gagcucgcсu ccaaccacuu ccuguaccug ccccgcgacg ugcucgcсca gcugccgagc	720
	cugcggcacc ucgaccuguc caacaacagc cuggugucc ucaccuacgu cagcuuccgc	780
50	aaccugacgc accuggaguc ccuccaccug gaggacaacg ccсugaaggu gcugcacaac	840
	ggcaccсucg ccgagcugca ggggcugccc cacauccggg uguuccсga caacaacccc	900

	ugggucugcg acugccacau ggccgacaug gugaccuggc ugaaggagac cgaggugguc	960
5	cagggcaagg accgccugac gugcgcguac cccgagaaga ugcggaaccg ggugcuccug	1020
	gagcugaaca gcgccgaccu cgacugcgac ccgauccugc ccccccuccu gcagaccagc	1080
	uacguguucc ucgggaucgu ccuggcccug aucggcgcca ucuuccuccu ggugcuguac	1140
10	cucaaccgca agggcauca gaaguggaug cacacaaucc gggacgccug ccgcgaccac	1200
	auggaggggu accacuaccg guacgagauc aacgcggacc cccgccugac caaccugucc	1260
15	agcaacuccg acgucugacc acuaquuaa agacugacua gcccgauagg ccucccaacg	1320
	ggcccccuc cccuccuugc accgagauua auaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1380
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaugca uccccccccc ccccccccc	1440
20	ccccccccc ccaaaaggcuc uuuucagagc caccagaauu	1480
	<210> 20	
	<211> 646	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
30	<223> Сурвивин (GC)-шаг-А64-С30-гистонSL	
	<400> 20	
	gggagaaaagc uacccauggg cccccacc cugccgccgg ccuggcagcc гуиссусаг	60
35	гассассгса исисгасси саагаасугг ссгуиссугг агггсуггс гугсассссг	120
	gagcggaugg ccgaggccgg cuucauccac ugccccaccg agaacgagcc ggaccuggcc	180
	cagugcuucu ucugcuuca ggagcuggag ggcugggagc cggacgacga cccgaucgag	240
40	gagcacaaga agcacagcag cggcugcgcc uuccugagcg ugaagaagca гуисгaggag	300
	cugacgcugc gggaguuccu gaagcuggac cgggagcggg ccaagaaca гаисгсгаг	360
45	gagaccaaca acaagaaga ggaguucgag gagaccgcca agaaggugcg gcgggccauc	420
	gagcagcugg ccgccaugga cugaccacia гуааааагас угасуагссс гаugggccuc	480
	ccaacggggc ccccccccu ccuugcaccg agauuaaua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	540
50	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaugcaucc ccccccccc	600
	ccccccccc cccccccaa aggcucuuuu cagagccacc agaauu	646

<210> 21
<211> 760
5 <212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> NY-ESO-1 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

10 <400> 21
gggagaaaagc uuaassaugca gggcaggggc cgcggcaccg gcggcuccac cggcgacgccc 60
qacqqqccccc gcgcccccggg cauccccgac gggccgggcg ggaaccgccc cggcccccggc 120
15 gaggccggcg ccaccggcg gcggggcccc cggggcgccg gcgcccccg ggcgagcggc 180
ccccgggggg ggcccccgcg gggcccgac ggcggcgccg ccagcggccu gaaccggguc 240
20 ugcgggugcg ggcgccgcg cccggagagc cggcuccugg aguucuaacc ggccaugccc 300
uucgcgacc ccgauggagg cgagcuggcc cggcggagcc uggcccagga cggcccccg 360
cugccccguc cgggcgugcu ccugaaggag uucacgguga gcggaacau ccugaccauc 420
25 cggcugacc cgcggacca ccggcagcug cagcugucga ucagcagcug ccuccagcag 480
cugagccugc ugauguggau caccaguc uucccgccg uguuccuggc ccagccgccc 540
30 agcggccagc gccggugacc acuaguuaa agacugacua gcccgauggg ccucccaacg 600
ggccsuccuc cccuccuugc accgagaaua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaugca ucccccccc ccccccccc 720
35 ccccccccc ccaaaaggc uuuucagag caccagaauu 760

<210> 22
40 <211> 1813
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> MAGE-C1 (aa 613-1142) (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

<400> 22
gggagaaaagc uuaassaugca guccccguc cagggcgagg aguuccagag succcugcag 60
50 agccccgugu ccaucugcag succagacc cccuccagcc ucccgagag cuccccgag 120
uccagccagu cccccccga gggccgguc cagagcccc ucacucccc gcagagcccc 180

	ccggagggga ugcacuccca gagccccug cagucccccg agagcgcccc cgagggcgag	240
5	gacuccuca gcccgcugca gauccccag ucccgcugg agggggagga cagccucucc	300
	agccugcacu uccccaguc cccgcccag ugggaggaca gccugagccc ccuccacuuc	360
	ccccaguucc cgccccagg cgaggacuuc caguccagcc ugcagucucc cgugagcauc	420
10	ugcuccagcu ccacgagccu gucccucucc cagagcuucc cggagucucc ccagagcccg	480
	cccgaggggc cggcgcaguc ccccugcag cccccguga gcuccuucuu cagcuacacc	540
15	cuggccuccc uccugcagag cucccacgag agcccgcaga gcccgcccga gggccccgcc	600
	caguccegc ugcagagccc cgucuccagc uccccucca gcaccuccag cucccucagc	660
	caguccagcc ccguguccag cucccgucc agcaccucca gcuccucagc caagagcucc	720
20	cccgagagcc ccugcaguc ccccgugauc agcuucucca gcuccacgag ccucuccccg	780
	uucagcgagg aguccagcuc ccccgucgac gaguacacca gcuccagcga caccucguc	840
25	gaguccgaca gccucaccga cuccgagagc cugaucgaga gcgagccccc gucaccuac	900
	acgcucgacg agaaggugga cgagcuggcc cgguuccugc uccugaagua ccaggugaag	960
	cagcccauca ccaaggccga gaugcugacc aacgucaucu cccgcuacac cggcuacuuc	1020
30	ccggugaucu uccggaaggc gcgcgaguuc aucgagauc ucuucgggau cagccugcgg	1080
	gagguggacc ccgacgacuc cuacgucuuc gugaacacgc uggaccucac cagcgagggc	1140
35	ugccuguccg acgagcaggg gaugagccag aaccgccugc ucauccugau ccuguccauc	1200
	aucuucaca agggcaccua cgccagcgag gaggucaucu gggacgugcu cuccgggauc	1260
	ggcgugcggg cgggccgca gcacuucgcc uucggggagc cccgggagcu gcugaccaag	1320
40	gucugggugc aggagcacia ccucgaguac cgcgaggugc ccaacagcuc cccgccccgg	1380
	uacgaguucc uguggggccc ccgcgcccac agcgaggua ucaagcggaa ggugguggag	1440
45	uuccuggcga ugcucaagaa cacggucucc aucaccuucc cguccagcua caaggacgcc	1500
	cugaaggacg uggaggagcg ggcccaggcc aucaucgaca ccaccgacga cuccacggcc	1560
	accgagagcg cguccagcuc cgugaugagc cccagcuucu ccagcgagug accacuaguu	1620
50	auaagacuga cuagcccgau gggccuccca acgggcccuc cucccuccu ugcaccgaga	1680
	uuauaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1740

	aaaaaaaaau gcaucccccc ccccccccc ccccccccc cccccaaaagg cucuuuucag	1800
5	agccaccaga auu	1813
	<210> 23	
	<211> 1339	
	<212> РНК	
10	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL	
15	<400> 23	
	gggagaaagc uuaccaugcc cccggugccc ggcguccccc uccggaacgu ggacaaccac	60
	agccccaccu ccguggagcu ggaggacugg guccagcccc agcaccaccac ccagcaggag	120
20	gaggaggagg ccagcuccgc gacsuccacc cucuaccugg uguucagccc cuccagcuc	180
	uccaccagcu ccagccugau ccucgggggc cccgaggagg aggaggugcc cuccgggguc	240
	aucgccaaacc ugaccgagag caucuccucc agccccccgc agggcccgcc ccaggggccc	300
25	ucccagagcc cccuguccag cugcugcagc uccuucagcu gguccagcuu cuccgaggag	360
	agcuccagcc agaagggcga ggacaccggc acgugccagg ggcucccgga cuccgagagc	420
30	uccuucaccu acaccucgga ccgagaaggug gccgagcugg uggaguuccu ccugcugaag	480
	uacgaggccg aggagcccgu caccgaggcc gagaugcuca ugaucgugau caaguacaag	540
	gacuacuucc ccgugauccu gaagcgcgcc cgggaguuca uggagcugcu cuucggccug	600
35	gcgcugaucg agguccggcc ccaccacuuc ugcguguucg ccaacacggu gggccucacc	660
	gacgagggga gcgaccagca gggcaugccg gagaacuccc ugcugaucan cauccucagc	720
40	gucaucuuca ucaagggcaa cugcgcuccc gaggagguga ucugggaggu gcugaaccgc	780
	guccggggugu acccggggcc ccagcacuuc guguaacggg agccccggga gcugcucacc	840
	aaggucuggg ugcagggcca cuaccuggag uaccgcgagg ugcccacag ccccccccg	900
45	uacuaccgagu uccugugggg cccccggcc cacagcgagu ccaucaaga gaagguccuc	960
	gaguuccugg csaagsuga saacaccgug cccagcagcu ucccuccug guacaaggac	1020
50	gcccuaagg acgucgagga gcgcgugcag gccaccgauc acaccgcgga ccagcccacc	1080
	gugauggcca gcgaguuccu gagcgucaug uccagcaacg uguccuucag ccagugacca	1140

суагууааа гасугасуаг сссгаугггс сусссаасгг гсссуцсусс ссуссуугса 1200

5 ссггагууаа уаааааааа ааааааааа ааааааааа ааааааааа ааааааааа ааааааааа 1260

ааааааааа аааааугсау ссссссссс ссссссссс ссссссссс саааггсусу 1320

ууссагагсс ассагаауу 1339

10 <210> 24
<211> 1885
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

15 <220>
<223> MUC1 5 VNTR (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

20 <400> 24
ггггагааагс ууассаугас ссссггсасс сагагссссу усууссугсу ссугсугсус 60

асггугсуга ссгусгугас сгггуссггс сасгссасу ссассссгг гггсггаааг 120

25 гагасгасгс ссасссасгс гуссагсгуг ссуссагса ссггаагаагс гсггусусс 180

аугассасу ссгугсугаг суссаасгс ссгггуссг гсасуссас гасссгггс 240

сггасгуга ссуссгссс ггссасгас ссгссасгс ггуссгсгс гасгугггс 300

30 сггасгуга ссасгсгсгс сгугассгс ссгсссгг ггасгассас гссгссгс 360

сасгасгуга ссуссгссс сгасааааг ссгсгсггс гсасгассгс ссссссгс 420

35 сасггггуга ссуссгссс сгасасгсг ссггсссггс гсасгассгс гсссссгс 480

сасггсгуга ссуссгссс ггасассгс ссгсссггс ггасгасгс ссгсггсгс 540

сасггсгуга ссуссгссс сгасассгг ссгсссггс ггасгасгс ссгсссгс 600

40 сасггсгуга сгуссгсгс сгасассгс ссгсссггс гсасгасгс ссссссгс 660

сасггггуга ссуссгссс ггасасгсг ссгсгсггс гсасгасгс ссгсгггс 720

сасггггуга ссуссгсгс сгасаасгс ссгсссггс ггасгасгс ссгсссгс 780

45 сасаасгуга ссуссгсгс сггсуссгс агсгггусс ссасгассу сгуссааас 840

ггсасгуссг ссггггсас сассаасс гсасгсаагу ссасгсссу сасгуссгс 900

50 уссассаса гсгасассс сассасссг гсгусссаса гсасггаас сгасгсусс 960

агсасссас асуссасгс гсссссгс асасгсуса асасгасгс гуссссгсгс 1020

cucagcaccg gggugucsuu cuuciuuccug agcuuccaca ucuccaaccu gcaguucaac 1080
agcuccucg aggaccccag caccgacuac uaccaggagc ugcagcggga caucuccgag 1140
5 auguuccugc agaucuacaa gcagggcggc uuccucgggc ugagcaacau caaguuccgc 1200
cccggcuccg ucguggugca gcugaccuc gccuuccggg aggggacgau caacguccac 1260
10 gacguggaga cccaguucua ccaquacaag accgaggccg ccagccgcua caaccugacc 1320
aucuccgacg ugagcgucuc gcagcugccc uucccgucua ggcgcaguc cggcgcgggc 1380
gugcccgggu ggggcaucgc ccugcucguc cuggugugcg ugcugugcgc ccucgccauc 1440
15 guguaccuga ucgcgcuggc gcugugccag ugccggcgca agaacuaccg gcagcucgac 1500
aucuuccccg cccgggacac guaccaccgc augagcgagu acccgaccua ccacaccac 1560
20 ggcgcuaag uccccccag cuccaccgac cggagccscu accgagaaggu guccgcccgg 1620
aacggcggca gcuccugag cuacaccaac ccggcggugg ccgcccscuc cgcacaaccg 1680
ugaccacuag uuauaagacu gacuagcccg augggscusc caacgggccc uccuccscuc 1740
25 cuugcaccga gauuaauaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa augcaucscs cccccccscs cccccccscs ccccccaaaa 1860
30 ggcucuuuuc agagccacca gaauu 1885

<210> 25
<211> 1596
35 <212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
40 <223> MAGE-C1 (ак 613-1142) CDS GC-оптимизированная

<400> 25
augcaucscs cgcugcaggg cugaggaguc cagagcuscg ucagagccc cugucscac 60
ugcagucscs gcacccscuc cagcscscsg cagagcuscg ccagucscag ccaucscscs 120
45 cccgagggcc cggucsaag cccscugcac uccccgcaga gcccccgga ggggagcac 180
uccsaagacc cscugcaguc ccccgagagc gccccgagg gcgagcscuc scscagcccg 240
50 cugcagauc cccagucscs gcuggagggg gaggacagcc ucuccagccu gcacucscsc 300
cagucscscg ccgaguggga ggacagccug agccccscuc acucscscsa guucccgccc 360

	cagggcgagg acuuccaguc cagccugcag ucccccguga gcaucugcuc cagcuccacg	420
5	agccuguccc uccccagag cuccccggag ucccccaga gcccgcccga ggggccggcg	480
	cagucccccc ugcagcgccc cgugagcucc uucuucagcu acacccuggc succcuccug	540
	cagagcuccc acgagagccc gcagagcccg cccgagggcc ccgcccaguc cccgcugcag	600
10	agccccgugu ccagcuuccc succagcacc uccagcuccc ucagccaguc cagccccgug	660
	uccagcuucc cguccagcac succagcucc cugagcaaga gcucccccga gagccccug	720
15	caqucccccg ugaucagcu succagcucc acgagccucu ccccquucag cgaqqaqucc	780
	agcucccccc ugcagcagua caccagcucc agcgacacc ugcuggaguc cgacagccuc	840
	accgacuccg agagccugau cgagagcgag cccuguuca ccuacagcu cgacgagaag	900
20	guggacgagc uggccccguu ccugcuccug aaguaccagg ugaagcagcc cauccaccaag	960
	gccgagaugc ugaccaacgu caucucccgc uacaccggcu acuccccggu gaucuuccgg	1020
25	aaggcgcgcg aguucaucga gauccucucc gggauccagc ugcgggaggu ggacccccgac	1080
	gacuccuacg ucuucgugaa cagcuggac cucaccagcg agggcugccu guccgacgag	1140
	caggggauga gccagaaccg ccugcucauc cugauccugu ccaucaucuu caucaagggc	1200
30	accuacgcca gcgaggaggu caucugggac gugcucuccg ggauccggcu gcgggccggc	1260
	cgcgagcacu ucgccuucg ggagccccg gagcugcuga ccaaggucug ggugcaggag	1320
35	cacuaccucg aguaccgca ggugcccaac agcuccccgc cccgguacga guuccugugg	1380
	ggcccccgcg cccacagca ggucaucaag cggaaggugg uggaguuccu ggcgauccuc	1440
	aagaacacgg uccccaucac cuccccgucc agcuacaagg acgcccugaa ggacguggag	1500
40	gagcgggcc aggccaucuu cgacaccacc gacgacucca cggccaccga gagcgcgucc	1560
	agcuccuuga ugcagccccg cuccccagc gaguga	1596
45	<210> 26	
	<211> 16	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
50	<220>	
	<223> Последовательность формулы (Ic)	

- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(8)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(14)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <400> 26
ngnnnnnnun nnnncn 16
- 25 <210> 27
<211> 26
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 30 <220>
<223> Последовательность формулы (IIc)
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(6)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(13)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(19)

- <223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
- 5 <222> (21)..(24)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
- 10 <222> (25)..(26)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать.
- <400> 27
- 15 nnnnnngnnn pnnunnnnnnc pnnnnn 26
- <210> 28
<211> 16
- 20 <212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность формулы (Id)
- 25
- <220>
<221> misc_feature
- 30 <222> (1)..(1)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
- 35 <222> (3)..(8)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
- 40 <222> (10)..(14)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
- 45 <222> (16)..(16)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <400> 28
- ncnnnnnnun pnnngn 16
- 50 <210> 29
<211> 26

- <212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 5 <220>
<223> Последовательность формулы (IIId)
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать.
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(6)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(13)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(19)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(23)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 40 <400> 29
nnnnnnncnnn pnnunnnnnng nnnnnn 26
- 45 <210> 30
<211> 16
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 50 <220>
<223> Последовательность формулы (Ie)

- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(8)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(14)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <400> 30
dgnnnnnnnun pnnnch 16
- 15 <210> 31
<211> 26
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 20 <220>
<223> Последовательность формулы (IIe)
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(13)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(19)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(23)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)

<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать

<400> 31

5 nnnnndgnnn nnnunnnnnc hnnnnn

26

<210> 32

<211> 16

10 <212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

15 <223> Последовательность формулы (If)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

20 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

25 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(8)

30 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

35 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

40 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

45 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

50 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог

<400> 32

ngnbyynnun vndncn

16

- 5 <210> 33
<211> 26
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 10 <220>
<223> Последовательность формулы (IIf)
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(6)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(13)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(17)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(23)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог

- <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
5 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- <400> 33
10 nnnnnngnby ynnunvndnc nnnnnn 26
- <210> 34
<211> 16
<212> РНК
15 <213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность формулы (Ig)
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- 35 <400> 34
nghyyydnuh abrdcn 16
- 40 <210> 35
<211> 26
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 45 <220>
<223> Последовательность формулы (IIg)
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может

присутствовать или отсутствовать

- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(6)
<223> n обозначает a, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> n обозначает a, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(23)
<223> n обозначает a, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(25)
<223> n обозначает a, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 30 <400> 35
nnhnnnghyy ydnuhabrdc nnnnhh 26
- 35 <210> 36
<211> 16
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 40 <220>
<223> Последовательность формулы (Ih)

<400> 36
dghycudyuh asrrcc 16
- 45 <210> 37
<211> 26
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 50 <220>
<223> Последовательность формулы (IIh)

- <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
5 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- <220>
<221> misc_feature
10 <222> (2)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- <220>
<221> misc_feature
15 <222> (25)..(25)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- <220>
20 <221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- <400> 37
25 nhaahdghyc udyuhasrrc cvhbnh 26
- <210> 38
<211> 16
30 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность формулы (Ic)
35
<400> 38
vgyuyyhhth rvvrcb 16
- <210> 39
<211> 16
40 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность формулы (Ic)
45
<400> 39
sgyyttypm arrrcs 16
50
- <210> 40

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

5 <220>
<223> Последовательность формулы (Ic)

<400> 40
sgyyctttttm agrrcs

16

10

<210> 41
<211> 16
<212> ДНК
15 <213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность формулы (Ie)

20

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог

25

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(8)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог

30

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(14)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог

35

<400> 41
dgnnnbnnth vnnch

16

40 <210> 42
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

45 <220>
<223> Последовательность формулы (Ie)

50 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог

- <220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(14)
5 <223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- <400> 42
rgnnyhbth rdncy 16
- 10
<210> 43
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 15
<220>
<223> Последовательность формулы (Ie)
- 20
<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 25
<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 30
<400> 43
rgndbyhyth rdncy 16
- 35
<210> 44
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 40
<220>
<223> Последовательность формулы (If)
- <400> 44
vgyyytyhth rvrrcb 16
- 45
<210> 45
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 50
<220>
<223> Последовательность формулы (If)

	<400> 45 sgyycttytm agrrcs	16
5	<210> 46 <211> 16 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
10	<220> <223> Последовательность формулы (If)	
15	<400> 46 sgyycttttm agrrcs	16
20	<210> 47 <211> 16 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
25	<220> <223> Последовательность формулы (Ig)	
	<400> 47 ggyycttyth agrrcs	16
30	<210> 48 <211> 16 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
35	<220> <223> Последовательность формулы (Ig)	
40	<400> 48 ggcycttytm agrgcs	16
45	<210> 49 <211> 16 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
	<220> <223> Последовательность формулы (Ig)	
50	<400> 49 ggctcttttm agrgcs	16

- <210> 50
<211> 16
<212> ДНК
5 <213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность формулы (Ih)
- 10 <400> 50
dghyctdyth asrrcc 16
- <210> 51
15 <211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
20 <223> Последовательность формулы (Ih)
- <400> 51
ggcyctttth agrgcc 16
- 25 <210> 52
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 30 <220>
<223> Последовательность формулы (Ih)
- <400> 52
35 ggcycttttm agrgcc 16
- <210> 53
40 <211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
45 <223> Последовательность формулы (IIc)
- <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
50 <223> может присутствовать или отсутствовать
- <220>

- <221> misc_feature
<222> (25)..(26)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 5
<400> 53
hhhhvvguyy yhhthrvrc bvhhnn 26
- 10
<210> 54
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 15
<220>
<223> Последовательность формулы (IIC)
- 20
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 25
<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 30
<400> 54
mhmhmsguyy ttytmarrrc smchhh 26
- 35
<210> 55
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 40
<220>
<223> Последовательность формулы (IIC)
- 45
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 50
<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- <400> 55

mmmmmsggyyc tttttagrrc sachmh

26

- 5 <210> 56
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 10 <220>
<223> Последовательность формулы (IIe)
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(10)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(13)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(19)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 50 <400> 56
nnnnndgnnn bnnthvnnnc hnhnnn

26

- <210> 57
<211> 26
<212> ДНК
5 <213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность формулы (IIe)
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может
15 присутствовать или отсутствовать
- <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
20 <223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может
присутствовать или отсутствовать
- <220>
<221> misc_feature
25 <222> (5)..(5)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
30 <222> (8)..(10)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
35 <222> (18)..(19)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- <220>
<221> misc_feature
40 <222> (24)..(24)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- <220>
<221> misc_feature
45 <222> (25)..(26)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может
присутствовать или отсутствовать
- <400> 57
50 nnhhnrgnnn yhbthrdnnc ydhnnn

- <210> 58
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 5
<220>
<223> Последовательность формулы (IIe)
- 10
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 15
<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 20
<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- 25
<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог
- 30
<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 35
<400> 58
nhhhvrgndb yhythrdhnc yrhhhh 26
- 40
<210> 59
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 45
<220>
<223> Последовательность формулы (IIf)
- 50
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать

- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 15 <400> 59
hhmhmvggyy tyhthrvrrc bvmhhn 26
- 20 <210> 60
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 25 <220>
<223> Последовательность формулы (IIf)
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 40 <400> 60
mmmmmsggyyc ttytmagrrc smchhh 26
- 45 <210> 61
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 50 <220>
<223> Последовательность формулы (IIf)
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать

- <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
5 <223> может присутствовать или отсутствовать
- <400> 61
mmmmmmmsggyuc tttttagrrc sachmh 26
- 10 <210> 62
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 15 <220>
<223> Последовательность формулы (IIg)
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(25)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 35 <400> 62
hhmamggyuc ttythagrrc cvhnnm 26
- 40 <210> 63
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 45 <220>
<223> Последовательность формулы (IIg)
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать

- <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
5 <223> может присутствовать или отсутствовать
- <400> 63
hhaamgggсyc ttytmagrgс cvchhm 26
- 10
<210> 64
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 15
<220>
<223> Последовательность формулы (IIg)
- 20
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 25
<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 30
<400> 64
mmaamgggсtc ttttmagrgс смсymm 26
- 35
<210> 65
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 40
<220>
<223> Последовательность формулы (IIh)
- 45
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n обозначает а, u, t, g и с или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 50
<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать

- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 20 <400> 65
nhaahdghyc tdythasrrc cvhbnh 26
- 25 <210> 66
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> n обозначает a, u, t, g и c или их нуклеотидный аналог; может присутствовать или отсутствовать
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- <400> 66

hhaamggcyc tttthagrgc cvmynm

26

- 5 <210> 67
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
- 10 <220>
<223> Последовательность формулы (Iih)
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> может присутствовать или отсутствовать
- 25 <400> 67
hmaaaggcyc ttttmaargc crmyhm 26
- 30 <210> 68
<211> 13
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Последовательность Козака
- 35 <400> 68
gscgsscassa ugg 13
- 40 <210> 69
<211> 15
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 45 <220>
<223> общая формула стабилизирующей последовательности 3-UTR
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n обозначает с или u

<220>
<221> repeat_unit
<222> (5)..(5)
<223> n обозначает a, u, t, g или c; может присутствовать или отсутствовать
5

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> n обозначает a, u, t, g или c
10

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> n обозначает a или u
15

<220>
<221> repeat_unit
<222> (10)..(10)
<223> n обозначает c или u, может присутствовать или отсутствовать
20

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> n обозначает c или u
25

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> n обозначает c или u
30

<400> 69
nссанссспп испсс 15

35 <210> 70
<211> 44
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

40 <220>
<223> 3'-UTR гена альфа-глобина (muag)

<400> 70
гсссгауггг ссисссаасг ггсссиссис ссиссиугс ассг 44

45

<210> 71
<211> 24
<212> ДНК
50 <213> Искусственная последовательность

<220>

- <223> Специфическая последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля»
- 5 <400> 71
саааggctct tttcagagcc асса 24
- 10 <210> 72
<211> 24
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность
- 15 <220>
<223> Специфическая последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля»
- 20 <400> 72
саааggсисси шиссаgаgсс асса 24
- 25 <210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
- 30 <220>
<223> Полученный из MUC1 пептид
- <400> 73
Ser Ala Pro Asp Asn Arg Pro Ala Leu
1 5
- 35 <210> 74
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
- 40 <220>
<223> Полученный из коннексина пептид
- <400> 74
- 45 Phe Glu Gln Asn Thr Ala Gln Pro
1 5
- 50 <210> 75
<211> 420
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Белок 5T4 NP_001159864.1

5 <400> 75

Met Pro Gly Gly Cys Ser Arg Gly Pro Ala Ala Gly Asp Gly Arg Leu
1 5 10 15

10

Arg Leu Ala Arg Leu Ala Leu Val Leu Leu Gly Trp Val Ser Ser Ser
20 25 30

15

Ser Pro Thr Ser Ser Ala Ser Ser Phe Ser Ser Ser Ala Pro Phe Leu
35 40 45

20

Ala Ser Ala Val Ser Ala Gln Pro Pro Leu Pro Asp Gln Cys Pro Ala
50 55 60

25

Leu Cys Glu Cys Ser Glu Ala Ala Arg Thr Val Lys Cys Val Asn Arg
65 70 75 80

Asn Leu Thr Glu Val Pro Thr Asp Leu Pro Ala Tyr Val Arg Asn Leu
85 90 95

30

Phe Leu Thr Gly Asn Gln Leu Ala Val Leu Pro Ala Gly Ala Phe Ala
100 105 110

35

Arg Arg Pro Pro Leu Ala Glu Leu Ala Ala Leu Asn Leu Ser Gly Ser
115 120 125

40

Arg Leu Asp Glu Val Arg Ala Gly Ala Phe Glu His Leu Pro Ser Leu
130 135 140

45

Arg Gln Leu Asp Leu Ser His Asn Pro Leu Ala Asp Leu Ser Pro Phe
145 150 155 160

Ala Phe Ser Gly Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Pro Ser Pro Leu Val
165 170 175

50

Glu Leu Ile Leu Asn His Ile Val Pro Pro Glu Asp Glu Arg Gln Asn
180 185 190

5 Arg Ser Phe Glu Gly Met Val Val Ala Ala Leu Leu Ala Gly Arg Ala
195 200 205

10 Leu Gln Gly Leu Arg Arg Leu Glu Leu Ala Ser Asn His Phe Leu Tyr
210 215 220

15 Leu Pro Arg Asp Val Leu Ala Gln Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asp
225 230 235 240

20 Leu Ser Asn Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Tyr Val Ser Phe Arg Asn
245 250 255

25 Leu Thr His Leu Glu Ser Leu His Leu Glu Asp Asn Ala Leu Lys Val
260 265 270

30 Leu His Asn Gly Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly Leu Pro His Ile Arg
275 280 285

35 Val Phe Leu Asp Asn Asn Pro Trp Val Cys Asp Cys His Met Ala Asp
290 295 300

40 Met Val Thr Trp Leu Lys Glu Thr Glu Val Val Gln Gly Lys Asp Arg
305 310 315 320

45 Leu Thr Cys Ala Tyr Pro Glu Lys Met Arg Asn Arg Val Leu Leu Glu
325 330 335

50 Leu Asn Ser Ala Asp Leu Asp Cys Asp Pro Ile Leu Pro Pro Ser Leu
340 345 350

55 Gln Thr Ser Tyr Val Phe Leu Gly Ile Val Leu Ala Leu Ile Gly Ala
355 360 365

60 Ile Phe Leu Leu Val Leu Tyr Leu Asn Arg Lys Gly Ile Lys Lys Trp
370 375 380

65 Met His Asn Ile Arg Asp Ala Cys Arg Asp His Met Glu Gly Tyr His
385 390 395 400

5 Tyr Arg Tyr Glu Ile Asn Ala Asp Pro Arg Leu Thr Asn Leu Ser Ser
405 410 415

Asn Ser Asp Val
420

10 <210> 76
<211> 142
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

15 <220>
<223> Белок сурвивина (BIRC5) O15392

20 <400> 76

Met Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp
1 5 10 15

25 His Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala
20 25 30

30 Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Cys Pro Thr
35 40 45

Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys Glu Leu
50 55 60

35 Glu Gly Trp Glu Pro Asp Asp Asp Pro Ile Glu Glu His Lys Lys His
65 70 75 80

40 Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu
85 90 95

45 Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Ala Lys Asn Lys
100 105 110

50 Ile Ala Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala
115 120 125

Lys Lys Val Arg Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met Asp
130 135 140

5 <210> 77
<211> 142
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

10 <220>
<223> Белок сурвивина (BIRC5) NP_001159.2

<400> 77

15 Met Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp
1 5 10 15

20 His Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala
20 25 30

25 Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Cys Pro Thr
35 40 45

Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys Glu Leu
50 55 60

30 Glu Gly Trp Glu Pro Asp Asp Asp Pro Ile Glu Glu His Lys Lys His
65 70 75 80

35 Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu
85 90 95

40 Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Ala Lys Asn Lys
100 105 110

45 Ile Ala Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala
115 120 125

Glu Lys Val Arg Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met Asp
130 135 140

50 <210> 78
<211> 180

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

5 <223> Белок NY-ESO-1 NP_001318.1

<400> 78

10 Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp
1 5 10 15

15 Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly
20 25 30

20 Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala
35 40 45

25 Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro
50 55 60

30 His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala
65 70 75 80

35 Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe
85 90 95

40 Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp
100 105 110

45 Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val
115 120 125

50 Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln
130 135 140

55 Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met
145 150 155 160

60 Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser
165 170 175

Gly Gln Arg Arg
180

5 <210> 79
<211> 1142
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

10 <220>
<223> Белок MAGE-C1 NP_005453.2

<400> 79

15 Met Gly Asp Lys Asp Met Pro Thr Ala Gly Met Pro Ser Leu Leu Gln
1 5 10 15

20 Ser Ser Ser Glu Ser Pro Gln Ser Cys Pro Glu Gly Glu Asp Ser Gln
20 25 30

25 Ser Pro Leu Gln Ile Pro Gln Ser Ser Pro Glu Ser Asp Asp Thr Leu
35 40 45

Tyr Pro Leu Gln Ser Pro Gln Ser Arg Ser Glu Gly Glu Asp Ser Ser
50 55 60

30 Asp Pro Leu Gln Arg Pro Pro Glu Gly Lys Asp Ser Gln Ser Pro Leu
65 70 75 80

35 Gln Ile Pro Gln Ser Ser Pro Glu Gly Asp Asp Thr Gln Ser Pro Leu
85 90 95

40 Gln Asn Ser Gln Ser Ser Pro Glu Gly Lys Asp Ser Leu Ser Pro Leu
100 105 110

45 Glu Ile Ser Gln Ser Pro Pro Glu Gly Glu Asp Val Gln Ser Pro Leu
115 120 125

Gln Asn Pro Ala Ser Ser Phe Phe Ser Ser Ala Leu Leu Ser Ile Phe
130 135 140

50 Gln Ser Ser Pro Glu Ser Thr Gln Ser Pro Phe Glu Gly Phe Pro Gln
145 150 155 160

5 Ser Val Leu Gln Ile Pro Val Ser Ala Ala Ser Ser Ser Thr Leu Val
165 170 175

10 Ser Ile Phe Gln Ser Ser Pro Glu Ser Thr Gln Ser Pro Phe Glu Gly
180 185 190

15 Phe Pro Gln Ser Pro Leu Gln Ile Pro Val Ser Arg Ser Phe Ser Ser
195 200 205

20 Thr Leu Leu Ser Ile Phe Gln Ser Ser Pro Glu Arg Thr Gln Ser Thr
210 215 220

25 Phe Glu Gly Phe Ala Gln Ser Pro Leu Gln Ile Pro Val Ser Pro Ser
225 230 235 240

30 Ser Ser Ser Thr Leu Leu Ser Leu Phe Gln Ser Phe Ser Glu Arg Thr
245 250 255

35 Gln Ser Thr Phe Glu Gly Phe Ala Gln Ser Ser Leu Gln Ile Pro Val
260 265 270

40 Ser Pro Ser Phe Ser Ser Thr Leu Val Ser Leu Phe Gln Ser Ser Pro
275 280 285

45 Glu Arg Thr Gln Ser Thr Phe Glu Gly Phe Pro Gln Ser Pro Leu Gln
290 295 300

50 Ile Pro Val Ser Ser Ser Ser Ser Thr Leu Leu Ser Leu Phe Gln
305 310 315 320

55 Ser Ser Pro Glu Arg Thr His Ser Thr Phe Glu Gly Phe Pro Gln Ser
325 330 335

60 Leu Leu Gln Ile Pro Met Thr Ser Ser Phe Ser Ser Thr Leu Leu Ser
340 345 350

65 Ile Phe Gln Ser Ser Pro Glu Ser Ala Gln Ser Thr Phe Glu Gly Phe
355 360 365

5 Pro Gln Ser Pro Leu Gln Ile Pro Gly Ser Pro Ser Phe Ser Ser Thr
370 375 380

10 Leu Leu Ser Leu Phe Gln Ser Ser Pro Glu Arg Thr His Ser Thr Phe
385 390 395 400

15 Glu Gly Phe Pro Gln Ser Pro Leu Gln Ile Pro Met Thr Ser Ser Phe
405 410 415

20 Ser Ser Thr Leu Leu Ser Ile Leu Gln Ser Ser Pro Glu Ser Ala Gln
420 425 430

25 Ser Ala Phe Glu Gly Phe Pro Gln Ser Pro Leu Gln Ile Pro Val Ser
435 440 445

30 Ser Ser Phe Ser Tyr Thr Leu Leu Ser Leu Phe Gln Ser Ser Pro Glu
450 455 460

35 Arg Thr His Ser Thr Phe Glu Gly Phe Pro Gln Ser Pro Leu Gln Ile
465 470 475 480

40 Pro Val Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Thr Leu Leu Ser Leu Phe Gln
485 490 495

45 Ser Ser Pro Glu Cys Thr Gln Ser Thr Phe Glu Gly Phe Pro Gln Ser
500 505 510

50 Pro Leu Gln Ile Pro Gln Ser Pro Pro Glu Gly Glu Asn Thr His Ser
515 520 525

55 Pro Leu Gln Ile Val Pro Ser Leu Pro Glu Trp Glu Asp Ser Leu Ser
530 535 540

60 Pro His Tyr Phe Pro Gln Ser Pro Pro Gln Gly Glu Asp Ser Leu Ser
545 550 555 560

65 Pro His Tyr Phe Pro Gln Ser Pro Pro Gln Gly Glu Asp Ser Leu Ser
565 570 575

5 Pro His Tyr Phe Pro Gln Ser Pro Gln Gly Glu Asp Ser Leu Ser Pro
580 585 590

10 His Tyr Phe Pro Gln Ser Pro Pro Gln Gly Glu Asp Ser Met Ser Pro
595 600 605

15 Leu Tyr Phe Pro Gln Ser Pro Leu Gln Gly Glu Glu Phe Gln Ser Ser
610 615 620

20 Leu Gln Ser Pro Val Ser Ile Cys Ser Ser Ser Thr Pro Ser Ser Leu
625 630 635 640

25 Pro Gln Ser Phe Pro Glu Ser Ser Gln Ser Pro Pro Glu Gly Pro Val
645 650 655

30 Gln Ser Pro Leu His Ser Pro Gln Ser Pro Pro Glu Gly Met His Ser
660 665 670

35 Gln Ser Pro Leu Gln Ser Pro Glu Ser Ala Pro Glu Gly Glu Asp Ser
675 680 685

40 Leu Ser Pro Leu Gln Ile Pro Gln Ser Pro Leu Glu Gly Glu Asp Ser
690 695 700

45 Leu Ser Ser Leu His Phe Pro Gln Ser Pro Pro Glu Trp Glu Asp Ser
705 710 715 720

50 Leu Ser Pro Leu His Phe Pro Gln Phe Pro Pro Gln Gly Glu Asp Phe
725 730 735

55 Gln Ser Ser Leu Gln Ser Pro Val Ser Ile Cys Ser Ser Ser Thr Ser
740 745 750

60 Leu Ser Leu Pro Gln Ser Phe Pro Glu Ser Pro Gln Ser Pro Pro Glu
755 760 765

65 Gly Pro Ala Gln Ser Pro Leu Gln Arg Pro Val Ser Ser Phe Phe Ser
770 775 780

5 Tyr Thr Leu Ala Ser Leu Leu Gln Ser Ser His Glu Ser Pro Gln Ser
785 790 795 800

10 Pro Pro Glu Gly Pro Ala Gln Ser Pro Leu Gln Ser Pro Val Ser Ser
805 810 815

15 Phe Pro Ser Ser Thr Ser Ser Ser Leu Ser Gln Ser Ser Pro Val Ser
820 825 830

20 Ser Phe Pro Ser Ser Thr Ser Ser Ser Leu Ser Lys Ser Ser Pro Glu
835 840 845

25 Ser Pro Leu Gln Ser Pro Val Ile Ser Phe Ser Ser Ser Thr Ser Leu
850 855 860

30 Ser Pro Phe Ser Glu Glu Ser Ser Ser Pro Val Asp Glu Tyr Thr Ser
865 870 875 880

35 Ser Ser Asp Thr Leu Leu Glu Ser Asp Ser Leu Thr Asp Ser Glu Ser
885 890 895

40 Leu Ile Glu Ser Glu Pro Leu Phe Thr Tyr Thr Leu Asp Glu Lys Val
900 905 910

45 Asp Glu Leu Ala Arg Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Gln Val Lys Gln Pro
915 920 925

50 Ile Thr Lys Ala Glu Met Leu Thr Asn Val Ile Ser Arg Tyr Thr Gly
930 935 940

55 Tyr Phe Pro Val Ile Phe Arg Lys Ala Arg Glu Phe Ile Glu Ile Leu
945 950 955 960

60 Phe Gly Ile Ser Leu Arg Glu Val Asp Pro Asp Asp Ser Tyr Val Phe
965 970 975

65 Val Asn Thr Leu Asp Leu Thr Ser Glu Gly Cys Leu Ser Asp Glu Gln
980 985 990

5 Gly Met Ser Gln Asn Arg Leu Leu Ile Leu Ile Leu Ser Ile Ile Phe
995 1000 1005

10 Ile Lys Gly Thr Tyr Ala Ser Glu Glu Val Ile Trp Asp Val Leu
1010 1015 1020

15 Ser Gly Ile Gly Val Arg Ala Gly Arg Glu His Phe Ala Phe Gly
1025 1030 1035

20 Glu Pro Arg Glu Leu Leu Thr Lys Val Trp Val Gln Glu His Tyr
1040 1045 1050

25 Leu Glu Tyr Arg Glu Val Pro Asn Ser Ser Pro Pro Arg Tyr Glu
1055 1060 1065

30 Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala His Ser Glu Val Ile Lys Arg Lys
1070 1075 1080

35 Val Val Glu Phe Leu Ala Met Leu Lys Asn Thr Val Pro Ile Thr
1085 1090 1095

40 Phe Pro Ser Ser Tyr Lys Asp Ala Leu Lys Asp Val Glu Glu Arg
1100 1105 1110

45 Ala Gln Ala Ile Ile Asp Thr Thr Asp Asp Ser Thr Ala Thr Glu
1115 1120 1125

50 Ser Ala Ser Ser Ser Val Met Ser Pro Ser Phe Ser Ser Glu
1130 1135 1140

<210> 80
<211> 373
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Белок MAGE-C2 NP_057333.1

<400> 80

Met Pro Pro Val Pro Gly Val Pro Phe Arg Asn Val Asp Asn Asp Ser
1 5 10 15

5 Pro Thr Ser Val Glu Leu Glu Asp Trp Val Asp Ala Gln His Pro Thr
20 25 30

10 Asp Glu Glu Glu Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ser Ser Thr Leu Tyr Leu
35 40 45

15 Val Phe Ser Pro Ser Ser Phe Ser Thr Ser Ser Ser Leu Ile Leu Gly
50 55 60

20 Gly Pro Glu Glu Glu Glu Val Pro Ser Gly Val Ile Pro Asn Leu Thr
65 70 75 80

Glu Ser Ile Pro Ser Ser Pro Pro Gln Gly Pro Pro Gln Gly Pro Ser
85 90 95

25 Gln Ser Pro Leu Ser Ser Cys Cys Ser Ser Phe Ser Trp Ser Ser Phe
100 105 110

30 Ser Glu Glu Ser Ser Ser Gln Lys Gly Glu Asp Thr Gly Thr Cys Gln
115 120 125

35 Gly Leu Pro Asp Ser Glu Ser Ser Phe Thr Tyr Thr Leu Asp Glu Lys
130 135 140

40 Val Ala Glu Leu Val Glu Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Glu Ala Glu Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Glu Ala Glu Met Leu Met Ile Val Ile Lys Tyr Lys Asp
165 170 175

45 Tyr Phe Pro Val Ile Leu Lys Arg Ala Arg Glu Phe Met Glu Leu Leu
180 185 190

50 Phe Gly Leu Ala Leu Ile Glu Val Gly Pro Asp His Phe Cys Val Phe
195 200 205

Ala Asn Thr Val Gly Leu Thr Asp Glu Gly Ser Asp Asp Glu Gly Met
210 215 220

5 Pro Glu Asn Ser Leu Leu Ile Ile Ile Leu Ser Val Ile Phe Ile Lys
225 230 235 240

10 Gly Asn Cys Ala Ser Glu Glu Val Ile Trp Glu Val Leu Asn Ala Val
245 250 255

15 Gly Val Tyr Ala Gly Arg Glu His Phe Val Tyr Gly Glu Pro Arg Glu
260 265 270

20 Leu Leu Thr Lys Val Trp Val Gln Gly His Tyr Leu Glu Tyr Arg Glu
275 280 285

Val Pro His Ser Ser Pro Pro Tyr Tyr Glu Phe Leu Trp Gly Pro Arg
290 295 300

25 Ala His Ser Glu Ser Ile Lys Lys Lys Val Leu Glu Phe Leu Ala Lys
305 310 315 320

30 Leu Asn Asn Thr Val Pro Ser Ser Phe Pro Ser Trp Tyr Lys Asp Ala
325 330 335

35 Leu Lys Asp Val Glu Glu Arg Val Gln Ala Thr Ile Asp Thr Ala Asp
340 345 350

40 Asp Ala Thr Val Met Ala Ser Glu Ser Leu Ser Val Met Ser Ser Asn
355 360 365

Val Ser Phe Ser Glu

37.

45 <210> 81
<211> 1255
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

50 <220>
<223> Белок MUC1 J05582.1

<400> 81

Met Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Leu Thr
1 5 10 15

5

Val Leu Thr Val Val Thr Gly Ser Gly His Ala Ser Ser Thr Pro Gly
20 25 30

10

Gly Glu Lys Glu Thr Ser Ala Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Ser Ser
35 40 45

15

Thr Glu Lys Asn Ala Val Ser Met Thr Ser Ser Val Leu Ser Ser His
50 55 60

20

Ser Pro Gly Ser Gly Ser Ser Thr Thr Gln Gly Gln Asp Val Thr Leu
65 70 75 80

25

Ala Pro Ala Thr Glu Pro Ala Ser Gly Ser Ala Ala Thr Trp Gly Gln
85 90 95

30

Asp Val Thr Ser Val Pro Val Thr Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Thr
100 105 110

35

Pro Pro Ala His Asp Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Lys Pro Ala Pro
115 120 125

40

Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
130 135 140

45

Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
145 150 155 160

50

Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
165 170 175

55

Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
180 185 190

60

Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
195 200 205

5 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
210 215 220

10 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
225 230 235 240

15 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
245 250 255

20 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
260 265 270

25 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
275 280 285

30 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
290 295 300

35 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
305 310 315 320

40 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
325 330 335

45 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
340 345 350

50 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
355 360 365

55 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
370 375 380

60 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
385 390 395 400

65 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
405 410 415

5 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
420 425 430

10 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
435 440 445

15 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
450 455 460

20 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
465 470 475 480

25 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
485 490 495

30 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
500 505 510

35 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
515 520 525

40 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
530 535 540

45 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
545 550 555 560

50 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
565 570 575

55 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
580 585 590

60 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
595 600 605

65 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
610 615 620

5 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
625 630 635 640

10 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
645 650 655

15 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
660 665 670

20 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
675 680 685

25 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
690 695 700

30 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
705 710 715 720

35 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
725 730 735

40 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
740 745 750

45 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
755 760 765

50 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
770 775 780

55 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
785 790 795 800

60 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
805 810 815

65 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
820 825 830

5 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
835 840 845

Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
850 855 860

10 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
865 870 875 880

15 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
885 890 895

20 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
900 905 910

25 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
915 920 925

Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn
930 935 940

30 Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val Thr Ser
945 950 955 960

35 Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr Leu Val His Asn Gly
965 970 975

40 Thr Ser Ala Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser Lys Ser Thr Pro Phe
980 985 990

Ser Ile Pro Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr Thr Leu Ala Ser His
995 1000 1005

45 Ser Thr Lys Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His Ser Ser Val Pro
1010 1015 1020

50 Pro Leu Thr Ser Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln Leu Ser Thr
1025 1030 1035

5 Gly Val Ser Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu Gln
1040 1045 1050

10 Phe Asn Ser Ser Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu
1055 1060 1065

15 Leu Gln Arg Asp Ile Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln
1070 1075 1080

20 Gly Gly Phe Leu Gly Leu Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser
1085 1090 1095

25 Val Val Val Gln Leu Thr Leu Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn
1100 1105 1110

30 Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala
1115 1120 1125

35 Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val Ser Asp
1130 1135 1140

40 Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala Gly Val Pro Gly
1145 1150 1155

45 Trp Gly Ile Ala Leu Leu Val Leu Val Cys Val Leu Val Ala Leu
1160 1165 1170

50 Ala Ile Val Tyr Leu Ile Ala Leu Ala Val Cys Gln Cys Arg Arg
1175 1180 1185

Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala Arg Asp Thr Tyr
1190 1195 1200

His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His Gly Arg Tyr
1205 1210 1215

55 Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys Val Ser
1220 1225 1230

Ala Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala Val
1235 1240 1245

5

Ala Ala Ala Ser Ala Asn Leu
1250 1255

10

<210> 82
<211> 555
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

15

<220>
<223> Белок MUC1 5×VNTR

20

<400> 82
Met Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Leu Thr
1 5 10 15

25

Val Leu Thr Val Val Thr Gly Ser Gly His Ala Ser Ser Thr Pro Gly
20 25 30

30

Gly Glu Lys Glu Thr Ser Ala Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Ser Ser
35 40 45

35

Thr Glu Lys Asn Ala Val Ser Met Thr Ser Ser Val Leu Ser Ser His
50 55 60

40

Ser Pro Gly Ser Gly Ser Ser Thr Thr Gln Gly Gln Asp Val Thr Leu
65 70 75 80

45

Ala Pro Ala Thr Glu Pro Ala Ser Gly Ser Ala Ala Thr Trp Gly Gln
85 90 95

50

Asp Val Thr Ser Val Pro Val Thr Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Thr
100 105 110

Pro Pro Ala His Asp Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Lys Pro Ala Pro
115 120 125

Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
130 135 140

5 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
145 150 155 160

10 Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
165 170 175

15 Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
180 185 190

20 Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro
195 200 205

25 Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
210 215 220

30 Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser
225 230 235 240

35 Ala Pro Asp Asn Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val His
245 250 255

40 Asn Val Thr Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr Leu
260 265 270

45 Val His Asn Gly Thr Ser Ala Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser Lys
275 280 285

50 Ser Thr Pro Phe Ser Ile Pro Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr Thr
290 295 300

55 Leu Ala Ser His Ser Thr Lys Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His Ser
305 310 315 320

60 Ser Val Pro Pro Leu Thr Ser Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln Leu
325 330 335

Ser Thr Gly Val Ser Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu
340 345 350

5 Gln Phe Asn Ser Ser Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu
355 360 365

10 Leu Gln Arg Asp Ile Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln Gly
370 375 380

15 Gly Phe Leu Gly Leu Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser Val Val
385 390 395 400

20 Val Gln Leu Thr Leu Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His Asp
405 410 415

25 Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr
420 425 430

30 Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe
435 440 445

35 Ser Ala Gln Ser Gly Ala Gly Val Pro Gly Trp Gly Ile Ala Leu Leu
450 455 460

40 Val Leu Val Cys Val Leu Val Ala Leu Ala Ile Val Tyr Leu Ile Ala
465 470 475 480

45 Leu Ala Val Cys Gln Cys Arg Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile
485 490 495

50 Phe Pro Ala Arg Asp Thr Tyr His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr
500 505 510

55 His Thr His Gly Arg Tyr Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro
515 520 525

60 Tyr Glu Lys Val Ser Ala Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr
530 535 540

Thr Gly Ala Gly Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Gly Cys Ala Gly
165 170 175

5

Cys Gly Thr Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala Cys
180 185 190

10

Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Gly Cys Thr
195 200 205

15

Cys Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Ala Gly Gly Gly
210 215 220

20

Ala Cys Ala Gly Gly Ala Thr Gly Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Gly
225 230 235 240

25

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Cys Cys Ala Cys Gly Gly Ala Ala Cys
245 250 255

Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys
260 265 270

30

Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly
275 280 285

35

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Thr Cys Cys
290 295 300

40

Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys
305 310 315 320

45

Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys
325 330 335

Cys Cys Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Ala Thr Gly
340 345 350

50

Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala
355 360 365

5 Cys Ala Ala Cys Ala Ala Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly
370 375 380

10 Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys
385 390 395 400

15 Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys
405 410 415

20 Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr
435 440 445

25 Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys
450 455 460

30 Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly
465 470 475 480

35 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys
485 490 495

40 Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
515 520 525

45 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys
530 535 540

50 Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys
545 550 555 560

55 Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys
565 570 575

Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly
580 585 590

5

Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala
595 600 605

10

Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly
610 615 620

15

Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys
625 630 635 640

20

Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys
645 650 655

25

Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys
660 665 670

30

Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr
675 680 685

35

Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys
690 695 700

40

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys
725 730 735

45

Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys
740 745 750

50

Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
755 760 765

Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys
770 775 780

5 Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys
785 790 795 800

10 Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys
805 810 815

15 Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly
820 825 830

20 Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala
835 840 845

25 Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly
850 855 860

30 Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys
865 870 875 880

35 Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys
885 890 895

40 Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys
900 905 910

45 Ala Gly Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr
915 920 925

50 Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys
930 935 940

55 Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly
945 950 955 960

60 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys
965 970 975

65 Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys
980 985 990

Cys Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
995 1000 1005

5

Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1010 1015 1020

10

Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1025 1030 1035

15

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1040 1045 1050

20

Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1055 1060 1065

25

Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1070 1075 1080

Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1085 1090 1095

30

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1100 1105 1110

35

Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1115 1120 1125

40

Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1130 1135 1140

45

Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1145 1150 1155

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1160 1165 1170

50

Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1175 1180 1185

5 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1190 1195 1200

10 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1205 1210 1215

15 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1220 1225 1230

20 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1250 1255 1260

25 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1265 1270 1275

30 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1280 1285 1290

35 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1295 1300 1305

40 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1325 1330 1335

45 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1340 1345 1350

50 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1355 1360 1365

Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1370 1375 1380

5 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1385 1390 1395

10 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1400 1405 1410

15 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1415 1420 1425

20 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Cys
1430 1435 1440

25 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1445 1450 1455

30 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1460 1465 1470

35 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1475 1480 1485

40 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Cys
1490 1495 1500

45 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1505 1510 1515

50 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1520 1525 1530

55 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1535 1540 1545

60 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Cys
1550 1555 1560

65 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1565 1570 1575

5
Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1580 1585 1590

10
Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1595 1600 1605

15
Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1610 1615 1620

20
Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1625 1630 1635

25
Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1640 1645 1650

30
Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1655 1660 1665

35
Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1670 1675 1680

40
Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1685 1690 1695

45
Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1700 1705 1710

50
Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1715 1720 1725

55
Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1730 1735 1740

60
Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1745 1750 1755

65
Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1760 1765 1770

5 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1775 1780 1785

10 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1790 1795 1800

15 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1805 1810 1815

20 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1820 1825 1830

25 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1835 1840 1845

30 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1850 1855 1860

35 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1865 1870 1875

40 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1880 1885 1890

45 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1895 1900 1905

50 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1910 1915 1920

55 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1925 1930 1935

60 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
1940 1945 1950

65 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
1955 1960 1965

5 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
1970 1975 1980

Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
1985 1990 1995

10 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2000 2005 2010

15 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2015 2020 2025

20 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2030 2035 2040

25 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2045 2050 2055

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2060 2065 2070

30 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2075 2080 2085

35 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2090 2095 2100

40 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2105 2110 2115

Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2120 2125 2130

45 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2135 2140 2145

50 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2150 2155 2160

5 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2165 2170 2175

10 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2180 2185 2190

15 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2195 2200 2205

20 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Gly
2210 2215 2220

25 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2240 2245 2250

30 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2255 2260 2265

35 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Gly
2270 2275 2280

40 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2285 2290 2295

45 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2300 2305 2310

50 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2315 2320 2325

55 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2330 2335 2340

60 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2345 2350 2355

5 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2360 2365 2370

10 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2375 2380 2385

15 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys Gly
2390 2395 2400

20 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2405 2410 2415

25 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2420 2425 2430

30 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2435 2440 2445

35 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2450 2455 2460

40 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2465 2470 2475

45 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2480 2485 2490

50 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2495 2500 2505

55 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2510 2515 2520

60 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2525 2530 2535

65 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2540 2545 2550

5 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2555 2560 2565

10 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2570 2575 2580

15 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2585 2590 2595

20 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2615 2620 2625

25 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2630 2635 2640

30 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2645 2650 2655

35 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2675 2680 2685

40 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2690 2695 2700

45 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2705 2710 2715

50 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2720 2725 2730

55 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Cys
2735 2740 2745

5 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2750 2755 2760

10 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly
2765 2770 2775

15 Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2780 2785 2790

20 Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2810 2815 2820

25 Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys
2825 2830 2835

30 Gly Cys Cys Thr Thr Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys
2840 2845 2850

35 Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Ala Cys
2855 2860 2865

40 Ala Ala Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Thr Cys Gly Gly Cys Cys
2870 2875 2880

45 Thr Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Ala
2885 2890 2895

50 Gly Gly Cys Thr Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala Cys Thr
2900 2905 2910

Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala Cys Ala Ala Cys Gly Gly Cys
2915 2920 2925

50 Ala Cys Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Cys Thr
2930 2935 2940

Ala Cys Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys
2945 2950 2955

5

Ala Gly Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Cys Thr Cys Cys Ala
2960 2965 2970

10

Thr Thr Cys Thr Cys Ala Ala Thr Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys
2975 2980 2985

15

Cys Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Ala Cys Thr
2990 2995 3000

20

Cys Cys Thr Ala Cys Cys Ala Cys Cys Cys Thr Thr Gly Cys Cys
3005 3010 3015

25

Ala Gly Cys Cys Ala Thr Ala Gly Cys Ala Cys Cys Ala Ala Gly
3020 3025 3030

30

Ala Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys
3035 3040 3045

35

Ala Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Ala Gly Cys Thr Cys Gly
3050 3055 3060

40

Gly Thr Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys
3065 3070 3075

45

Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Ala Thr Cys Ala Cys Ala Gly Cys
3080 3085 3090

50

Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys Cys Cys Cys Ala Gly Thr Thr Gly
3095 3100 3105

Thr Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Thr Cys Thr
3110 3115 3120

Thr Thr Cys Thr Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Gly Thr Cys Thr
3125 3130 3135

5 Thr Thr Thr Cys Ala Cys Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Cys
3140 3145 3150

10 Cys Thr Cys Cys Ala Gly Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Cys Cys
3155 3160 3165

15 Thr Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Ala Thr Cys Cys Cys
3170 3175 3180

20 Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Ala Cys
3185 3190 3195

25 Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Gly Ala
3200 3205 3210

30 Gly Ala Cys Ala Thr Thr Thr Cys Thr Gly Ala Ala Ala Thr Gly
3215 3220 3225

35 Thr Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr Ala Thr
3230 3235 3240

40 Ala Ala Ala Cys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Thr Thr Thr Thr
3245 3250 3255

45 Cys Thr Gly Gly Gly Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Thr
3260 3265 3270

50 Ala Thr Thr Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Ala
3275 3280 3285

Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Ala
3290 3295 3300

Cys Ala Ala Thr Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Cys
3305 3310 3315

50 Thr Thr Cys Cys Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Thr Ala Cys Cys
3320 3325 3330

Ala Thr Cys Ala Ala Thr Gly Thr Cys Cys Ala Cys Gly Ala Cys
3335 3340 3345

5

Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Gly Thr Thr Cys
3350 3355 3360

10

Ala Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly
3365 3370 3375

15

Gly Ala Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Cys Gly Ala
3380 3385 3390

20

Thr Ala Thr Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Ala Thr Cys
3395 3400 3405

25

Thr Cys Ala Gly Ala Cys Gly Thr Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly
3410 3415 3420

30

Ala Gly Thr Gly Ala Thr Gly Thr Gly Cys Cys Ala Thr Thr Thr
3425 3430 3435

35

Cys Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Cys Ala Gly
3440 3445 3450

40

Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Gly Thr Gly
3455 3460 3465

45

Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Ala Thr Cys
3470 3475 3480

50

Gly Cys Gly Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly
3485 3490 3495

Gly Thr Cys Thr Gly Thr Gly Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr
3500 3505 3510

50

Gly Cys Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala Thr Thr Gly Thr Cys
3515 3520 3525

5 Thr Ala Thr Cys Thr Cys Ala Thr Thr Gly Cys Cys Thr Thr Gly
3530 3535 3540

Gly Cys Thr Gly Thr Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Thr Gly Cys
3545 3550 3555

10 Cys Gly Cys Cys Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Thr Ala Cys
3560 3565 3570

15 Gly Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Ala Thr Cys
3575 3580 3585

20 Thr Thr Thr Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Thr
3590 3595 3600

25 Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Ala Thr Gly
3605 3610 3615

Ala Gly Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Cys Cys Cys Ala Cys Cys
3620 3625 3630

30 Thr Ala Cys Cys Ala Cys Ala Cys Cys Cys Ala Thr Gly Gly Gly
3635 3640 3645

35 Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys Thr
3650 3655 3660

40 Ala Gly Cys Ala Gly Thr Ala Cys Cys Gly Ala Thr Cys Gly Thr
3665 3670 3675

45 Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr Ala Thr Gly Ala Gly Ala Ala Gly
3680 3685 3690

Gly Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly Thr Ala Ala Cys
3695 3700 3705

50 Gly Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys
3710 3715 3720

Thr Cys Thr Thr Ala Cys Ala Cys Ala Ala Ala Cys Cys Cys Ala
3725 3730 3735

5

Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Cys Thr
3740 3745 3750

10

Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Ala Cys Thr Thr Gly Thr Ala Gly
3755 3760 3765

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая по меньшей мере одну мРНК, в которой по меньшей мере одна мРНК кодирует следующие антигены:

- 5
- 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG);
 - сурвивин (белок 5, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов; VIRC5),
 - NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1; STAG1B),
 - 10 • MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1);
 - MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и
 - MUC1 (муцин 1)
- или их фрагменты, и в которой по меньшей мере одна мРНК является моно-, би- или полицистронной.

15

2. Композиция по п. 1, в которой каждый из антигенов или их фрагментов кодируется индивидуальной мРНК.

20

3. Композиция по п. 1, в которой 5T4, сурвивин, NY-ESO-1, MAGE-C1, MAGE-C2 и MUC1 или их фрагменты кодируются одной мРНК.

4. Композиция по п. 1, в которой антигены или их фрагменты кодируются по меньшей мере одной бицистронной и/или полицистронной мРНК.

25

5. Композиция по одному из п.п. 1-4, в которой по меньшей мере одна мРНК, предпочтительно по меньшей мере две мРНК, более предпочтительно по меньшей мере три мРНК, еще более предпочтительно по меньшей мере четыре мРНК, еще более предпочтительно по меньшей мере пять мРНК или еще более предпочтительно по меньшей мере шесть мРНК, каждая содержит по меньшей мере одну кодирующую последовательность, выбранную из

30 последовательностей РНК, которые идентичны или по меньшей мере на 80% идентичны последовательности РНК SEQ ID NO: 2, 5, 8, 11, 14 или 17.

6. Композиция по одному из п.п. 1-5, в которой по меньшей мере одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 2, 5, 8, 11, 14 или 17.

5

7. Композиция по одному из п.п. 1-6, в которой по меньшей мере одна мРНК представляет собой модифицированную мРНК, прежде всего стабилизированную мРНК.

10

8. Композиция по одному из п.п. 1-7, в которой содержание G/C в кодирующей области по меньшей мере одной мРНК увеличено по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа, при этом кодируемая по меньшей мере одной мРНК аминокислотная последовательность предпочтительно не модифицирована по сравнению с аминокислотной последовательностью, кодируемой мРНК дикого типа.

15

9. Композиция по одному из п.п. 1-8, в которой по меньшей мере одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 3, 6, 9, 12, 15, 18 или 25.

20

10. Композиция по одному из п.п. 1-9, в которой по меньшей мере одна мРНК содержит 5'-кэп-структуру и/или 3'UTR содержит поли(А)-хвост, предпочтительно включающий от 10 до 200, от 10 до 100, от 40 до 80 или от 50 до 70 аденозиновых нуклеотидов, и/или 3'UTR содержит поли(С)-хвост, предпочтительно включающий от 10 до 200, от 10 до 100, от 20 до 70, от 20 до 60 или от 10 до 40 цитозиновых нуклеотидов.

25

11. Композиция по одному из п.п. 1-10, в которой по меньшей мере одна мРНК содержит 3'UTR, которая содержит в (5' → 3' направлении) следующие элементы:

30

а) поли(А)-хвост, предпочтительно состоящий из от 10 до 200, от 10 до 100, от 40 до 80 или от 50 до 70 аденозиновых нуклеотидов,

б) поли(С)-хвост, предпочтительно состоящий из от 10 до 200, от 10 до 100, от 20 до 70, от 20 до 60 или от 10 до 40 цитозиновых нуклеотидов, и

в) гистоновую структуру типа «стебель-петля».

5 12. Композиция по одному из п.п. 1-11, содержащая шесть мРНК, в которой каждая мРНК кодирует отличный от других антиген, выбранный из группы, состоящей из 5Т4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивина (белок, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов 5; BIRC5), NY-ESO-1 (Пью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1; 10 STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1), и в которой предпочтительно каждая мРНК содержит последовательность РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична другой последовательности РНК, выбранной из последовательностей РНК, представленных в SEQ ID NO: 1, 15 4, 7, 10, 13 и 16.

13. Композиция по одному из п.п. 1-12, в которой гистоновая структура типа «стебель-петля» образуется путем внутримолекулярного спаривания оснований двух соседних последовательностей, которые являются полностью 20 или частично обратно комплементарными.

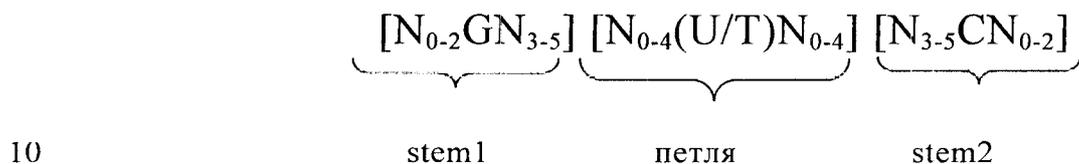
14. Композиция по одному из п.п. 1-13, в которой спаренный элемент типа «стебель-петля» содержит по меньшей мере одно ошибочно спаренное основание. 25

15. Композиция по одному из п.п. 1-14, в которой петля в гистоновой структуре типа «стебель-петля» имеет в длину от 3 до 15 оснований, предпочтительно от 3 до 10, от 3 до 8, от 3 до 7, от 3 до 6, от 4 до 5 оснований или 4 основания. 30

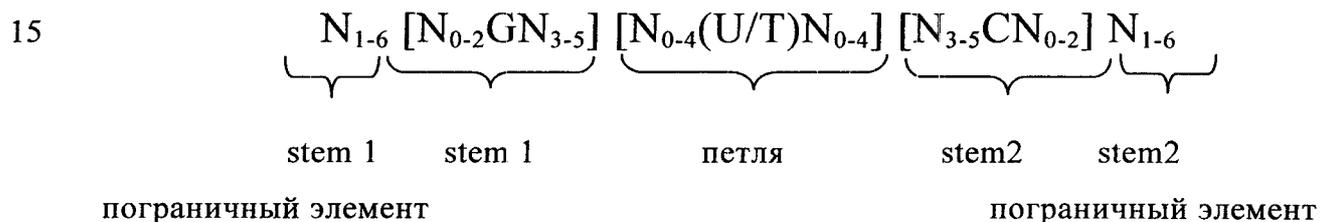
16. Композиция по одному и п.п. 1-15, в которой последовательность, образующая стеблевую область в гистоновой структуре типа «стебель-петля» имеет в длину от 5 до 10 оснований, предпочтительно от 5 до 8 оснований.

17. Композиция по одному из п.п. 1-16, в которой 3'UTR по меньшей мере одной мРНК содержит по меньшей мере одну гистоновую структуру типа «стебель-петля», которую выбирают из следующих формул (I) или (II):

5 формула (I) (последовательность структуры типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля):



формула (II) (последовательность структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля):



20 в которых:

пограничные элементы stem1 или stem2 N_{1-6} обозначают непрерывную

последовательность, состоящую из 1-6, предпочтительно 2-6, более предпочтительно 2-5, еще более предпочтительно 3-5, наиболее предпочтительно 4-5 или 5 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или их нуклеотидного аналога;

25

stem1 $[N_{0-2}GN_{3-5}]$

обозначает последовательность, обратно комплементарную или частично обратно комплементарную элементу stem2, и представляет собой непрерывную

30

последовательность, состоящую из 5-7 нуклеотидов;

5 в которой N_{0-2} обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-2, предпочтительно 0-1, более предпочтительно 1 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или его нуклеотидного аналога;

10 в которой N_{3-5} обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5, предпочтительно 4-5, более предпочтительно 4 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или его нуклеотидного аналога, и

15 в которой G обозначает гуанозин или его аналог и необязательно может быть заменен на цитидин или его аналог при условии, что комплементарный ему нуклеотид цитидин в stem2 заменен на гуанозин;

20 последовательность петли $[N_{0-4}(U/T)N_{0-4}]$ локализована между элементами stem1 и stem2 и обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5 нуклеотидов, более предпочтительно 4 нуклеотидов;

25 в которой N_{0-4} каждый независимо друг от друга обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-4, предпочтительно 1-3, более предпочтительно 1-2 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или его нуклеотидного аналога; и

30 в которой U/T обозначает уридин или необязательно тимидин;

stem2 [N₃₋₅CN₀₋₂]

обозначает последовательность, обратно комплементарную или частично обратно комплементарную элементу stem1, и представляет собой непрерывную последовательность, состоящую из 5-7 нуклеотидов; в которой N₃₋₅ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5, предпочтительно 4-5, более предпочтительно 4 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, Т, G и С или его нуклеотидного аналога; в которой N₀₋₂ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-2, предпочтительно 0-1, более предпочтительно 1 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, Т, G или С или его нуклеотидного аналога; и в которой С обозначает цитидин или его аналог и необязательно может быть заменен на гуанозин или его аналог при условии, что комплементарный ему нуклеотид гуанозин в stem1 заменен на цитидин;

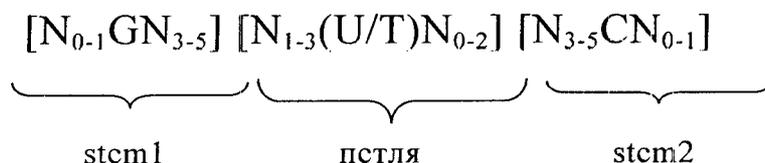
где

у элементов stem1 и stem2 может происходить спаривание оснований друг с другом с образованием обратно комплементарной последовательности, при этом между stem1 и stem2 может иметь место спаривание оснований, или

с образованием частично обратно комплементарной последовательности, при этом между stem1 и stem2 может иметь место неполное спаривание оснований.

18. Композиция по одному из п.п. 1-17, в которой по меньшей мере одна гистоновая структура типа «стебель-петля» выбрана по меньшей мере из одной из следующих формул (Ia) или (IIa):

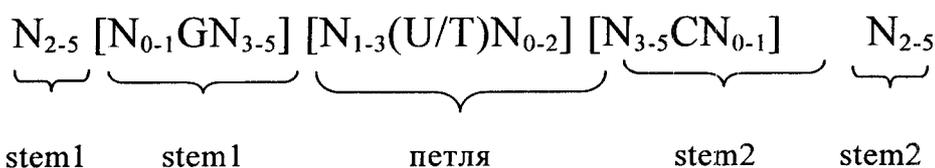
5 формула (Ia) (последовательность структуры типа «стебель-петля» без пограничных элементов стебля):



10

формула (IIa) (последовательность структуры типа «стебель-петля» с пограничными элементами стебля):

15



пограничный элемент

пограничный элемент

19. Композиция по одному из п.п. 1-18, содержащая любую одну из нуклеотидных последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля» SEQ ID NO: 26-67, предпочтительно нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 71 и наиболее предпочтительно последовательность РНК SEQ ID NO: 72.

20. Композиция по одному из п.п. 1-19, в которой по меньшей мере одна мРНК представляет собой по меньшей мере одну мРНК, идентичную или по меньшей мере на 80% идентичную последовательности РНК, представленной в любой из последовательностей РНК SEQ ID NO: 19-24.

21. Композиция по одному из п.п. 1-20, содержащая шесть мРНК, в которой каждая мРНК кодирует отличный от других антиген, выбранный из группы, состоящей из 5Т4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивина (белок, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов 5;

BIRC5), NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1; STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1), и в которой каждая мРНК идентична или по меньшей мере на 80% идентична другой последовательности РНК, выбранной из последовательностей РНК, представленных в SEQ ID NO: 19, 20, 21, 22, 23 или 24.

22. Композиция по одному из п.п. 1-21, содержащая шесть мРНК, в которой одна мРНК кодирует 5T4 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 19, одна мРНК кодирует сурвивин и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 20, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 21, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 22, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 23 и одна мРНК кодирует MUC1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:24.

23. Композиция по одному из п.п. 1-22, в которой по меньшей мере одна мРНК присутствует в виде комплекса с одним или несколькими поликатионами, предпочтительно с протамином или олигофектамином, наиболее предпочтительно с протамином.

24. Композиция по п. 23, в которой отношение N/P по меньшей мере одной мРНК и одного или нескольких поликатионов находится в диапазоне примерно от 0,1 до 10, включая диапазон примерно от 0,3 до 4, примерно от 0,5 до 2, примерно от 0,7 до 2 и примерно от 0,7 до 1,5.

25. Композиция по одному из п.п. 1-24, содержащая по меньшей мере одну РНК, которая присутствует в комплексе с одним или несколькими поликатионами, и по меньшей мере одну свободную РНК.

26. Композиция по п. 25, в которой присутствующая в комплексе РНК идентична свободной РНК.

27. Композиция по п. 25 или п. 26, в которой молярное отношение присутствующей в комплексе РНК и свободной РНК выбрано из молярного отношения, составляющего примерно от 0,001:1 до примерно 1:0,001, включая
5 отношение, составляющее примерно 1:1.

28. Композиция по одному из п.п. 1-27, где композиция дополнительно содержит по меньшей мере один адъювант.

10 29. Композиция по одному из п.п. 1-28, в которой по меньшей мере один адъювант выбран из группы, включающей:

катионные или поликатионные соединения, содержащие катионные или поликатионные пептиды или белки, включая протамин, нуклеолин, спермин или спермидин, поли-L-лизин (ПЛЛ), полиаргинин, основные полипептиды,
15 проникающие в клетки пептиды (ПКП), включая ВИЧ-связывающие пептиды, Tat, ВИЧ-1 Tat (ВИЧ), полученные из Tat пептиды, пенетратин, полученные из VP22 пептиды или аналогичные пептиды, VP22 HSV (вирус герпеса простого), MAP, KALA или домены белковой трансдукции (PTD), PpT620, богатые пролином пептиды, богатые аргинином пептиды, богатые лизином пептиды,
20 MPG-пептид(ы), Per-1, L-олигомеры, пептид(ы) кальцитонина, пептиды, полученные из Antennapedia (прежде всего, из *Drosophila antennapedia*), pAntp, pIsl, FGF, лактоферрин, транспортан, буфорин-2, Vac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, полученные из CT пептиды, SAP, протамин, спермин, спермидин или гистоны, катионные полисахариды, включая хитозан, полибрен, катионные
25 полимеры, включая полиэтиленимин (ПЭИ), катионные липиды, включая DOTMA: хлорид [1-(2,3-сиолеилокси)пропил]-N,N,N-триметиламмония, DMRIE, ди-C14-амидин, DOTIM, SAINT, DC-Chol, BGTC, СТАР, DOPC, DODAP, DOPE: диолеилфосфатидилэтаноламин, DOSPA, DODAB, DOIC, DMEPC, DOGS: диоктадециламидоглицилспермин, DIMRI: бромид
30 димиристооксипропилдиметилгидроксиэтиламмония, DOTAP: диолеилокси-3-(триметиламмоний)пропан, DC-6-14: хлорид O,O-дитетрадеканойл-N-(α -триметиламмонийацетил)диэтанолamina, CLIP1: хлорид *rac*[(2,3-диоктадецилоксипропил)(2-гидроксиэтил)]диметиламмония, CLIP6: *rac*[2(2,3-

дигексадецилоксипропилоксиметилокси)этил]триметиламмоний, CLIP9:
рац[2(2,3-дигексадецилоксипропилоксисукцинилокси)этил]триметиламмоний,
олигофектамин, или катионные или поликатионные полимеры, включая
модифицированные полиаминокислоты, такие как полимеры β -аминокислот или
5 обращенные полиамиды, модифицированные полиэтилены, включая ПВП
(поли(N-этил-4-винилпириднийбромид)), модифицированные акрилаты, включая
пДМЛЭМА (поли(диметиламиноэтилмстилакрилат)), модифицированные
амидоамины, включая ПАМАМ (поли(амидоамин)), модифицированные сложные
поли- β -аминоэфирные (ПБАЭ), включая модифицированные в диаминоконцевом
10 фрагменте сополимеры 1,4-бутандиолдиакрилата и 5-амино-1-пентанола,
дендримеры, включая дендримеры полипропиламина или дендримеры на основе
ПАМАМ, полиимин(ы), включая ПЭИ: поли(этиленимин), поли(пропиленимин),
полиаллиламин, полимеры на основе сахарного каркаса, включая полимеры на
основе циклодекстрина, полимеры на основе декстрана, хитозан и т.п.,
15 силановые полимеры, такие как сополимеры PMOXA-PDMS и т.п.,
блокполимеры, включающие комбинацию одного или нескольких катионных
блоков, выбранных из катионного полимера, указанного выше, и одного или
нескольких гидрофильных или гидрофобных блоков (таких, например, как
полиэтиленгликоль);

20 или

катионные или поликатионные белки или пептиды, выбранные из
следующих белков или пептидов, которые имеют общую формулу (I):
(Arg)_l,(Lys)_m,(His)_n,(Orn)_o,(Xaa)_x, где $l+m+n+o+x=8-15$, а l, m, n или o каждый
независимо друг от друга обозначает любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5,
25 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15, при условии, что общее содержание Arg, Lys,
His и Orn составляет по меньшей мере 50% в пересчете на все аминокислоты
олигопептида, а Xaa может обозначать любую аминокислоту, выбранную из
нативных (встречающихся в естественных условиях) или ненативных
аминокислот, за исключением Arg, Lys, His или Orn, и x может обозначать
30 любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3 или 4, при условии, что общее содержание
Xaa не превышает 50% в пересчете на все аминокислоты олигопептида; или

нуклеиновые кислоты, имеющие формулу (II): $G_lX_mG_n$, в которой: G
обозначает гуанозин, урацил или аналог гуанозина или урацила; X обозначает

гуанозин, урацил, аденозин, тимидин, цитозин или аналог вышеуказанных нуклеотидов; l обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $l = 1$, то G представляет собой гуанозин или его аналог, когда $l > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог; m обозначает
5 целое число и обозначает по меньшей мере 3; при этом, когда $m = 3$, то X представляет собой урацил или его аналог, когда $m > 3$, то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных урацилов или аналогов урацила; n обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $n = 1$, то G
10 представляет собой гуанозин или его аналог, когда $n > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог;

или

нуклеиновые кислоты, имеющие формулу (III): $C_l X_m C_n$, в которой: C обозначает цитозин, урацил или аналог цитозина или урацила; X обозначает гуанозин, урацил, аденозин, тимидин, цитозин или аналог вышеуказанных
15 нуклеотидов; l обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $l = 1$, то C представляет собой цитозин или его аналог, когда $l > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или его аналог; m обозначает целое число и обозначает по меньшей мере 3; когда $m = 3$, X представляет собой урацил или его аналог, когда $m > 3$, то присутствуют по меньшей мере 3
20 последовательно расположенных урацила или аналогов урацила; n обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда $n = 1$, то C представляет собой цитозин или его аналог, когда $n > 1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или его аналог.

25 30. Вакцина, содержащая композицию по одному из п.п. 1- 29.

31. Вакцина по п. 30, в которой композиция по одному из п.п. 1-29 вызывает адаптивный иммунный ответ.

30 32. Вакцина по п. 30 или п. 31, где вакцина содержит также фармацевтически приемлемый носитель.

33. Вакцина по одному из п.п. 30-32, где по меньшей мере одну мРНК из композиции вводят индивидууму по отдельности.

5 34. Композиция по одному из п.п. 1-29, предназначенная для применения в качестве вакцины для лечения рака легких, предпочтительно немелкоклеточного рака легких (NSCLC).

10 35. Применение комбинации из шести мРНК для лечения рака легких, в котором каждая мРНК кодирует один антиген, выбранный из группы, состоящей из 5T4 (трофобластический гликопротеин, TPBG), сурвивина (белок, содержащий бакуловирусный ингибитор мотива апоптозных (IAP) повторов 5; BIRC5), NY-ESO-1 (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1; STAG1B), MAGE-C1 (меланомный антиген семейства C1), MAGE-C2 (меланомный антиген семейства C2) и MUC1 (муцин 1).

15

36. Применение по п. 35, в котором

одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует 5T4 и содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 2 или 3;

20

одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует сурвивин и содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 5 или 6;

25

одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует NY-ESO-1 и содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 8 или 9;

30

одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует MAGE-C1 и содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 11, 12 или 25;

одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует MAGE-C2 и содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 14 или 15;

5 одна мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует MUC1 и содержит или состоит из последовательности РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична последовательностям РНК SEQ ID NO: 17 или 18.

10 37. Применение по одному из п. 35 или п. 36, в котором по меньшей мере одна мРНК содержит гистоновую структуру типа «стебель-петля» в 3'UTR-области.

15 38. Применение по одному из п.п. 35-37, в котором каждая мРНК содержит последовательность РНК, которая идентична или по меньшей мере на 80% идентична одной из других последовательностей РНК SEQ ID NO: 19-24.

20 39. Применение по одному из п.п. 35-38, включающее применение шести мРНК, где одна мРНК кодирует 5T4 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 19, одна мРНК кодирует сурвивин и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 20, одна мРНК кодирует NY-ESO-1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 21, одна мРНК кодирует MAGE-C1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 22, одна мРНК кодирует MAGE-C2 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 23 и одна мРНК кодирует MUC1 и идентична или по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 24.

30 40. Применение по одному из п.п. 35-39, в котором каждую из шести мРНК вводят по отдельности.

41. Применение по одному из п.п. 35-40, в котором мРНК вводят путем внутривенной инъекции.

42. Применение по одному из п.п. 35-41, в котором лечение предусматривает введение дополнительного фармацевтического действующего вещества.

5 43. Применение по одному из п.п. 35-42, в котором дополнительное фармацевтическое действующее вещество представляет собой химиотерапевтическое средство или ингибитор киназы.

10 44. Применение по одному из п.п. 35-43, в котором лечение включает также лучевую терапию.

15 45. Набор, предпочтительно набор компонентов, содержащий композицию по одному из п.п. 1-29 и/или вакцину по одному из п.п. 30-33 и необязательно жидкий наполнитель для солюбилизации и необязательно технические инструкции с информацией о применении и дозировке активной композиции и/или вакцины.

20 46. Набор по п. 45, где набор представляет собой набор компонентов и каждый компонент содержит по меньшей мере одну мРНК предпочтительно кодирующую отличной от других антигенов, выбранных из антигенов по п. 1, где все компоненты набора компонентов образуют композицию или вакцину по предыдущим пунктам.

25 47. Набор по п. 45 или п. 46, где набор содержит по меньшей мере два компонента, которые содержат шесть мРНК.

48. Набор по одному из п.п. 45-47, в котором все шесть мРНК присутствуют в лиофилизированной форме в различных компонентах.

30 49. Набор по п. 48, где набор содержит в качестве компонента лактированный раствор Рингера.

50. Набор по одному из п.п. 45-49, где набор содержит шесть компонентов, где каждый компонент содержит одну из шести мРНК.

5T4 (GC)-muag-A64-C30

GGGAGAAAGCUUACCAUGCCCCGGCGGGUGCAGCCGGGGCCCGGCCGCCGGGGACGGCCGC
CUGCGGCUCGCGCGCCUGGCCUUGGUGCUCCUGGGGUGGGUCUCCAGCUCCAGCCCCACC
UCCAGCGCCUCCAGCUUCUCCAGCUCCGCCCCUUCUGGGCCAGCGCGGUGUCCGCCAG
CCCCCGCUCCCCGACCAGUGCCCCGCCUGUGCGAGUGCAGCGAGGCCGCGCGGACCGUG
AAGUGCGUCAACCGCAACCUGACGGAGGUGCCCACCGACCUCCCGGCCUACGUGCGGAAC
CUGUUCUGACCGGCAACCAGCUCGCCGUCCUGCCCCGCCGGCGCCUUCGCGCGCCGGCCG
CCCCUGGCCGAGCUCGCCGCCUGAACCUGUCCGGGAGCCGCCUCGACGAGGUGCGGGCC
GGCGCGUUCGAGCACCUGCCGUCCUGCGCCAGCUCGACCUGAGCCACAACCCCCUGGCC
GACCUUCCCCCUUCGCCUUCAGCGGGAGCAACGCCUCCGUGAGCGCCCCUCCCCGCUG
GUCGAGCUGAUCCUCAACCACAUCGUGCCCCCGAGGACGAGCGGCAGAACC GCAGCUUC
GAGGGCAUGGUGGUCGCGGCCUUGCUGGCCGGGCGGGCCUCCAGGGCCUGCGCCGGCUG
GAGCUCGCCUCCAACCACUUCUGUACCUGCCCCGCGACGUGCUCGCGCAGCUGCCGAGC
CUGCGGCACCUCGACCUGUCCAACAACAGCCUGGUGUCCUCACCUACGUCAGCUUCCGC
AACCUGACGCACCUGGAGUCCUCCACCUGGAGGACAACGCCUGAAGGUGCUGCACAAC
GGCACCCUCGCCGAGCUCGAGGGGCUGCCCCACAUCCGGGUGUCCUCGACAACAACCC
UGGGUCUGCGACUGCCACAUGGCCGACAUGGUGACCUGGCUGAAGGAGACCGAGGUGGUC
CAGGGCAAGGACCGCCUGACGUGCGCGUACCCCGAGAAGAUGCGGAACCGGGUGCUCCUG
GAGCUGAACAGCGCCGACCUCGACUGCGACCCGAUCCUGCCCCCUCCUGCAGACCAGC
UACGUGUUCUCGGGAUCGUCUCCUGGCCUGAUCGGCGCCAUCUUCUCCUGGUGCUGUAC
CUCAACCGCAAGGGCAUCAAGAAGUGGAUGCACAACAUCCGGGACGCCUGCCGCGACCAC
AUGGAGGGGUACCACUACCGGUACGAGAUCAACGCGGACCCCGCCUGACCAACCUGUCC
AGCAACUCCGACGUCUGACCACUAGUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCCAACG
GGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCCGAGAUUAAUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAUUAUCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCUUAGACAAUUGGAAU

ФИГ. 1

5T4 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGCCCGGCGGGUGCAGCCGGGGCCCGGCCGCCGGGGACGGCCGC
CUGCGGCUCGCGCGCCUGGCCUUGGUGCUCUCCUGGGUGGGUCUCCAGCUCAGCCCCACC
UCCAGCGCCUCCAGCUUCUCCAGCUCGCCCCUUCUGGCCAGCGCGGUGUCCGCCCAG
CCCCCGCUCCCCGACCAGUGCCCCGCCUGUGCGAGUGCAGCGAGGCCGCGCGGACCGUG
AAGUGCGUCAACCGCAACCUGACGGAGGUGCCACCGACCUCGCGGCCUACGUGCGGAAC
CUGUUCUGACCGGCAACCAGCUCGCGUCCUGCCCGCCGGCGCCUUCGCGCGCCGGCCG
CCCCUGGCCGAGCUCGCGGCCUGAACCUGUCCGGGAGCCGCCUCGACGAGGUGCGGGCC
GGCGCGUUCGAGCACCUGCCGUCCUGCGCCAGCUCGACCUGAGCCACAACCCCCUGGCC
GACCUCUCCCCUUCGCCUUCAGCGGGAGCAACGCCUCCGUGAGCGCCCCUCCCCGCUG
GUCGAGCUGAUCCUCAACCACAUCGUGCCCCCGAGGACGAGCGGCAGAACCGCAGCUUC
GAGGGCAUGGUGGUCGCGGCCUUGCUGGCCGGGCGGGCCUCCAGGGCCUUCGCGCCGGCUG
GAGCUCGCCUCCAACCACUUCUGUACCUGCCCCGCGACGUGCUCGCGCAGCUGCCGAGC
CUGCGGCACCUCGACCUGUCCAACAACAGCCUGGUGUCCUCACCUACGUCAGCUUCCGC
AACCUGACGCACCUGGAGUCCUCCACCUGGAGGACAACGCCUGAAGGUGCUGCACAAC
GGCACCCUCGCCGAGCUGCAGGGGCUGCCCCACAUCCGGGUGUUCUCGACAACAACCCC
UGGGUCUGCGACUGCCACAUGGCCGACAUGGUGACCUGGCUGAAGGAGACCGAGGUGGUC
CAGGGCAAGGACCGCCUGACGUGCGCGUACCCCGAGAAGAU GCGGAACCGGGUGCUCUCCUG
GAGCUGAACAGCGCCGACCUCGACUGCGACCCGAUCCUGCCCCCUCCUGCAGACCAGC
UACGUGUUCUCGGGAUCGUCCUGGCCUGAUCGGCGCCAUCUUCUCCUGGUGCUGUAC
CUCAACCGCAAGGGCAUCAAGAAGUGGAUGCACAACAUCGGGACGCCUGCCGCGACCAC
AUGGAGGGGUACCACUACCGGUACGAGAUCAACGCGGACCCCCGCCUGACCAACCUGUCC
AGCAACUCCGACGUCUGACCACUAGUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCCAACG
GGCCCUCCUCCCCUCCUUGCACCAGAUUAAUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCAGAAUU

ФИГ. 2

5T4 CDS дикого типа

AUGCCUGGGGGUGUCUCCCGGGGCCCGCCGCGGGGACGGGCGUCUGCGGCUGGCGCGA
CUAGCGCUGGUACUCCUGGGCUGGGUCUCCUCGUCUUCUCCCACCUCUCCUGGCAUCCUCC
UUCUCCUCCUCGGCGCCGUUCCUGGCUUCCGCCGUGUCCGCCAGCCCCGCUGCCGGAC
CAGUGCCCCGCGCUGUGCGAGUGCUCGAGGCAGCGCGCACAGUCAAGUGCGUUAACCGC
AAUCUGACCAGGUGCCCACGGACCUGCCCGCCUACGUGCGCAACCUCUUCUUAACGGC
AACCAGCUGGCCGUGUCUCCUGCCGGCGCCUUCGCCCCGCCGGCCGCCGUGGCGGAGCUG
GCCGCGCUCAACCUCAGCGGCAGCCGCCUGGACGAGGUGCGCGCGGGCGCCUUCGAGCAU
CUGCCCAGCCUGCGCCAGCUCGACCUCAGCCACAACCCACUGGCCGACCUCAGUCCCUUC
GCUUUCUCGGGCAGCAAUGCCAGCGUCUCGGCCCCAGUCCCCUUGUGGAACUGAUCCUG
AACCACAUCGUGCCCCUGAAGAUGAGCGGCAGAACC GGAGCUUCGAGGGCAUGGUGGUG
GCGGCCUCUGGCGGGCCGUGCACUGCAGGGGCUCCGCCGCUUGGAGCUGGCCAGCAAC
CACUCCUUAACCUGCCGCGGGAUGUGCUGGCCCAACUGCCCAGCCUCAGGCACCUGGAC
UUAAGUAAUAAUUCGUCUGGUGAGCCUGACCUACGUGUCCUCCGCAACCUGACACAUCUA
GAAAGCCUCCACCUGGAGGACAAUGCCCUCAAGGUCCUUCACAAUGGCACCCUGGCUGAG
UUGCAAGGUCUACCCACAUUAGGGUUUUCUGGACAACAUCCUGGGUCUGCGACUGC
CACAUGGCAGACAUGGUGACCUGGCUCAAGGAAACAGAGGUAGUGCAGGGCAAAGACCGG
CUCACCUGUGCAUAUCCGAAAAAUGAGGAAUCGGGUCCUCUUGGAACUCAAACAGUGCU
GACCUGGACUGUGACCCGAUUCUUCCCCCAUCCUGCAAACCUCUUAUGUCUUCUGGGU
AUUGUUUAGCCCUGAUAGGCGCUAUUUUCCUCCUGGUUUUGUAUUUGAACCGCAAGGGG
AUAAAAAAGUGGAUGCAUAACAUCAGAGAUGCCUGCAGGGAUCACAUGGAAGGGUAUCAU
UACAGAU AUGAAAUCAUUGCGGACCCAGAUUAACGAACCUCAGUUCUAACUCGGAUGUC
UGA

ФИГ. 3

5T4 CDS с оптимизированным содержанием GC

AUGCCCGGCGGGUGCAGCCGGGGCCCGGCCCGGGGACGGCCGCCUGCGGGUCGCGCGC
CUGGCCCCUGGUGCUCCUGGGGUGGGUCUCCAGCUCCAGCCCCACCUCAGCGCCUCCAGC
UUCUCCAGCUCCGCCCCUUCUGGGCCAGCGCGGUGUCCGCCAGCCCCCGCUCCCCGAC
CAGUGCCCCGCCUGUGCGAGUGCAGCGAGGCCGCGCGGACCUGAAGUGCGUCAACCGC
AACCCUGACGGAGGUGCCCACCGACCUCCCGGCCUACGUGCGGAACCUUUCUGACCGGC
AACCCAGCUCCCGGUCCUGCCCGCCGGCCCUUCGCCCGCCCGCCCGCCCGCCCGGCCGAGCUC
GCCGCCUGAACCUGUCCGGGAGCCGCCUCGACGAGGUGCGGGCCGGCGCGUUCGAGCAC
CUGCCGUCCUGCGCCAGCUCGACCUGAGCCACAACCCCGUGGCCGACCUCUCCCCUUC
GCCUUCAGCGGGAGCAACGCCUCCGUGAGCGCCCCUCCCGCUGGUCGAGCUGAUCCUC
AACCACAUCGUGCCCCCGAGGACGAGCGGCAGAACCGCAGCUUCGAGGGCAUGGUGGUC
GCGGCCUGCUGGCCGGGGCGGGCCUCCAGGGCCUGCGCCGGCUGGAGCUCGCCUCCAAC
CACUUCUGUACCUGCCCCGCGACGUGCUCGCGCAGCUGCCGAGCCUGCGGCACCUCGAC
CUGUCCAACAACAGCCUGGUGUCCCUACCUACGUCAGCUUCCGCAACCUGACGCACCUG
GAGUCCUCCACCUGGAGGACAACGCCCUGAAGGUGCUGCACAACGGCACCCUCGCCGAG
CUGCAGGGGCUGCCCCACAUCGGGUGUUCUUCGACAACAACCCUGGGUCUGCGACUGC
CACAUGGCCGACAUGGUGACCUGGCUGAAGGAGACCGAGGUGGUCCAGGGCAAGGACCGC
CUGACGUGCGCGUACCCCGAGAAGAUCGGAACCGGGUGCUCCCUGGAGCUGAACAGCGCC
GACCUCGACUGCGACCCGAUCCUGCCCCCUCCUGCAGACCAGCUACGUGUUCUCCGGG
AUCGUCCUGGCCUGAUCGGCGCCAUCUUCCUCCUGGUGCUGUACCUCAACCGCAAGGGC
AUCAAGAAGUGGAUGCACAACAUCGGGACGCCUGCCGCGACCACAUGGAGGGGUACCAC
UACCGGUACGAGAUCAACGCGGACCCCCGCCUGACCAACCUGUCCAGCAACUCCGACGUC
UGA

ФИГ. 4

Сурвивин (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGGGCGCCCCACCCUGCCGCGGCCUGGCAGCCGUUCCUCAAG
GACCACCGCAUCUCGACCUUCAAGAACUGGGCCGUUCCUGGAGGGCUGCGCGUGCACCCCG
GAGCGGAUGGGCCGAGGCCGGCUUCAUCCACUGCCCCACCGAGAACGAGCCGGACCUGGCC
CAGUGCUUCUUCUGCUUCAAGGAGCUGGAGGGCUGGGAGCCGGACGACGACCCGAUCGAG
GAGCACAAGAAGCACAGCAGCGGCUGCGCCUCCUGAGCGUGAAGAAGCAGUUCGAGGAG
CUGACGCUCGGGGAGUUCUGAAGCUGGACCGGGAGCGGGCCAAGAACAAGAUCGCGAAG
GAGACCAACAACAAGAAGAAGGAGUUCGAGGAGACCGCCAAGAAGGUGCGGCGGGCCAUC
GAGCAGCUGGCCGCCAUGGACUGACCACUAGUUUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUC
CCAACGGGGCCCUCCUCCCCUCCUUGCACCGAGAUUAAUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAUGCAUCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAGAGCCACCAGAAUU

ФИГ. 6

Сурвивин CDS дикого типа

AUGGGUGCCCCGACGUUGCCCCUGCCUGGCAGCCCUUUCUCAAGGACCACCGCAUCUCUA
CAUUCAAGAACUGGCCCUUCUUGGAGGGCUGCGCCUGCACCCCGGAGCGGAUGGCCGAGGC
UGGCUUCAUCCACUGCCCCACUGAGAACGAGCCAGACUUGGCCAGUGUUUCUUCUGCUUC
AAGGAGCUGGAAGGCUGGGAGCCAGAUGACGACCCCAUAGAGGAACAUA AAAAGCAUUCGU
CCGGUUGCGCUUCCUUUCUGUCAAGAAGCAGUUUGAAGAAUUAACCCUUGGUGAAUUUUU
GAAACUGGACAGAGAAAGAGCCAAGAACA AAAUUGCAAAGGAAACCAACAUAAGAAGAAA
GAAUUUGAGGAAACUGCGAAGAAAGUGCGCCGUGCCAUCGAGCAGCUGGCUGCCAUGGAUU
GA

ФИГ. 7

Сурвивин CDS с оптимизированным содержанием GC

AUGGGCGCCCCACCCUGCCGCCGGCCUGGCAGCCGUUCCUCAAGGACCACCGCAUCUCGA
CCUUCAAGAACUGGCCGUUCCUGGAGGGCUGCGCGUGCACCCCGGAGCGGAUGGCCGAGGC
CGGCUUCAUCCACUGCCCCACGAGAACGAGCCGACCUGGCCAGUGCUUCUUCUGCUUC
AAGGAGCUGGAGGGCUGGGAGCCGACGACGACCCGAUCGAGGAGCACAAGAAGCACAGCA
GCGGCUGCGCCUUCCUGAGCGUAAGAAGCAGUUCGAGGAGCUGACGCUCGGGGAGUUCCU
GAAGCUGGACCGGGAGCGGGCCAAGAACAAGAUCGCGAAGGAGACCAACAACAAGAAGAG
GAGUUCGAGGAGACCGCCAAGAAGGUGCGGCGGGCCAUCGAGCAGCUGGCCGCCAUGGACU
GA

ФИГ. 8

NY-ESO-1 (GC)-MUAG-A64-C30

GGGAGAAAGCUUACCAUGCAGGCCGAGGGCCGCGGCACCGGCGGCUCGACCGGGCGACGCC
GACGGGCCCGGGCGGCCCGGGCAUCCCGGACGGCCCGGGCGGGAACGCGGGCGGCCCGGGC
GAGGCCGGCGCCACCGGCGGGCGGGGCCCGCGGGGCGCCGGCGCCGCCCGGGCGAGCGGC
CCCGGCGGGGGCGCCCCGCGGGGCCCGCACGGCGGCGCCAGCGGCCUGAACGGGUGC
UGCCGGUGCGGGCGCCCGCGGCCCGGAGAGCCGGCUCUCCUGGAGUUCUACCUGGCCAUGCCG
UUCGCGACCCCGAUGGAGGCCGAGCUGGCCCGGCGGAGCCUUGGCCACGGACGCCCCGCGC
CUGCCCCGUGCCGGGCGUGCUCUGAAGGAGUUCACGGUGAGCGGCAACAUCUGACCAUC
CGGCUGACCGCCGCGGACCACCGGCAGCUGCAGCUGUCGAUCAGCAGCUGCCUCCAGCAG
CUGAGCCUGCUGAUGUGGAUCACCCAGUGCUUCCUGCCGGUGUUCUGGCCAGCCGCCC
AGCGGCCAGCGCCGGUGACCACUAGUUAUAAGACUGACUAGCCC GAUGGGCCUCCCAACG
GGCCUCCUCCCUCCUUGCACCGAGAUUAAUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAUAUUCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCUCUAGACAAUUGGAAU

ФИГ. 9

NY-ESO-1 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGCAGGCCGAGGGCCGCGGCACCGGCGGCUCGACCGGCGACGCC
GACGGGCCCGGCGGCCCGGGCAUCCCGGACGGCCCGGGCGGGAACGCGGGCGGCCCGGGC
GAGGCCGGCGCCACCGGCGGGCGGGGCCCGCGGGGCGCCGGCGCCGCCCGGGCGAGCGGC
CCCGGCGGGGGCGCCCCGCGGGGCCCGCACGGCGGCGCCGCCAGCGGCCUGAACGGGUGC
UGCCGGUGCGGGCGCCCGCGGCCCGGAGAGCCGGCUCUGGAGUUCUACCUGGCCAUGCCG
UUCGCGACCCCGAUGGAGGCCGAGCUGGCCCGGCGGAGCCUGGCCCAGGACGCCCCGCG
CUGCCCGUGCCGGGCGUGCUCCUGAAGGAGUUCACGGUGAGCGGCAACAUCUGACCAUC
CGGCUGACCGCCGCGGACCACCGGCAGCUGCAGCUGUCGAUCAGCAGCUGCCUCCAGCAG
CUGAGCCUGCUGAUGUGGAUACCCAGUGCUUCCUGCCGGJGUUCCUGGCCCAGCCGCC
AGCGGCCAGCGCCGGUGACCACUAGUUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCCAACG
GGCCUCCUCCCUCCUUGCACCGAGAUUAAUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCAGAAU

ФИГ. 10

NY-ESO-1 CDS дикого типа

AUGCAGGCCGAAGGCCGGGGCACAGGGGUUCGACGGGCGAUGCUGAUGGCCCAGGAGGC
CCUGGCAUUCUGAUGGCCCAGGGGGCAAUGCUGGCGGCCCAGGAGAGGCCGGGUGCCACG
GGCGGCAGAGGUCCCCGGGGCGCAGGGGCAGCAAGGGCCUCGGGGCCGGGAGGAGGCGCC
CCGCGGGGUCCGCAUGGCGGCGGCGUUCAGGGCUGAAUGGAUGCUGCAGAUGCAGGGGCC
AGGGGGCCGGAGAGCCGCCUGCUUGAGUUCUACCUCGCCAUGCCUUUCGCGACACCCAUG
GAAGCAGAGCUGGCCCAGGAGCCUGGCCCAGGAUGCCCCACCGCUUCCCGUGCCAGGG
GUGCUUCUGAAGGAGUUCACUGUGUCCGGCAACAUAUCUGACUAUCCGACUGACUGCUGCA
GACCACCGCCAACUGCAGCUUCCAUCAGCUCCUGUCUCCAGCAGCUUCCCUGUUGAUG
UGGAUCACGCAGUGCUUUCUGCCCCGUGUUUUUGGCUCAGCCUCCCUCAGGGCAGAGGCGC
UAA

ФИГ. 11

NY-ESO-1 CDS с оптимизированным содержанием GC

AUGCAGGCCGAGGGCCGCGGCACC^{CGGC}UCGACC^{GGCGAC}GCCGAC^{GGGCC}CGGC^{GGC}
CCGGGCAU^{CCCGAC}GGCCC^{GGCGGG}AAC^{GC}GGGCGGCC^{CGGGC}GAGGCC^{GGCGCC}ACC^C
GGCGGG^{CGGG}CCCGCGGGGCGCC^{GGCGCC}CGCC^{GGGCG}AGCGGCC^{CCCGGC}GGGGGCGCC^C
CCGCGGGG^{CCCGCAC}GGCGGGCGCC^{CGCC}AGCGGCC^{UGAAC}GGGUGCUGCC^{GGUGCGGC}GCC^C
CGCGGC^{CCCGAGAC}CCCG^{CCUC}CGAGUUCUACC^{UCGCC}AUGCC^{GUUC}CGGAC^{CCCC}AUC^C
GAGGCC^{GAGCUG}GGCCCGCGGAGCCUGGCC^{CAGGAC}GCCCC^{GCCG}UGCCCGUGCC^{GGGC}
GUGCUC^{CCUGA}AGGAGUUCAC^{GGUGAG}CGGCAACAUC^{CCUGAC}CAUCC^{GGCUGAC}CGCC^{GCG}
GACCACCGGC^{CAGCUG}CAGCUG^{UCGAUC}CAGCAGCUG^{CCUCC}CAGCAGCUG^{AGCCUG}CUGAUG^C
UGGAUCAC^{CCAGUG}CUUC^{CGCCGG}UGUUC^{CGGCC}CAGCC^{GCCC}CAGCGGCC^{CAGCGCC}GG^C
UGA

ФИГ. 12

MAGE-C1 (ак 613-1142) (GC)-muag-A64-C30

GGGAGAAAGCUUACCAUGCAGUCCCCGUCGAGGGCGAGGAGUUCAGAGCUCCCUGCAG
AGCCCCGUGUCCAUCUGCAGCUCCAGCACCCCCUCCAGCCUCCCGCAGAGCUUCCCCGAG
UCCAGCCAGUCCCCCCCCGAGGGCCCCGGUCCAGAGCCCCUUGCACUCCCCGCAGAGCCCC
CCGGAGGGGAUGCACUCCCAGAGCCCCUUGCAGUCCCCCGAGAGCGCCCCCGAGGGCGAG
GACUCCUCAGCCCCGUCGAGAUCCCCAGUCCCCGUCGGAGGGGGAGGACAGCCUCUCC
AGCCUGCACUCCCCCAGUCCCCGCCCGAGUGGGAGGACAGCCUGAGCCCCUCCACUUC
CCCCAGUUCCCGCCCCAGGGCGAGGACUCCAGUCCAGCCUUGCAGUCCCCCGUGAGCAUC
UGCUCCAGCUCCACGAGCCUGUCCUCCCCAGAGCUUCCCGGAGUCCCCCGAGAGCCCCG
CCCGAGGGGCCGGCGCAGUCCCCCGUCAGCGCCCCGUGAGCUCCUUCUUCAGCUACACC
CUGGCCUCCUCCUGCAGAGCUCCACGAGAGCCCGCAGAGCCCGCCCCGAGGGCCCCGCC
CAGUCCCCGUCGAGAGCCCCGUCUCCAGCUUCCCCUCCAGCACCUCCAGCUCCUCUAGC
CAGUCCAGCCCCGUGUCCAGCUUCCCGUCCAGCACCUCCAGCUCCUGAGCAAGAGCUCC
CCCGAGAGCCCCUGCAGUCCCCCGUGAUCAGCUUCCAGCUCCACGAGCCUCUCCCCG
UUCAGCGAGGAGUCCAGCUCCCCCGUCGACGAGUACACCAGCUCCAGCGACACCCUGCUG
GAGUCCGACAGCCUCACCGACUCCGAGAGCCUGAUCGAGAGCGAGCCCCUGUUCACCUAC
ACGCUCGACGAGAAGGUGGACGAGCUGGCCCGGUUCCUGCUCCUGAAGUACCAGGUGAAG
CAGCCAUCACCAAGGCCGAGAUGCUGACCAACGUCAUCUCCCGCUACACCGGCUACUUC
CCGGUGAUCUUCGGAAGGCGCGGAGUUCAUCGAGAUCUUCUUCGGGAUCAGCCUGCGG
GAGGUGGACCCCGACGACUCCUACGUCUUCGUGAACACGCUGGACCUCACCAGCGAGGGC
UGCCUGUCCGACGAGCAGGGGAUGAGCCAGAACCGCCUGCUCAUCCUGAUCUCCUGUCCAUC
AUCUUCAUCAAGGGCACCUACGCCAGCGAGGAGGUCAUCUGGGACGUGCUCUCCGGGAUC
GGCGUGCGGGCCGGCCGCGAGCACUUCGCCUUCGGGGAGCCCCGGGAGCUGCUGACCAAG
GUCUGGGUGCAGGAGCACUACCUCGAGUACCGCGAGGUGCCCAACAGCUCCCCGCCCCGG
UACGAGUUCUGUGGGGCCCCCGCGCCCACAGCGAGGUCAUCAAGCGGAAGGUGGUGGAG
UUCUGGGCGAUGCUCAGAACACGGUCCCCAUCACCUUCCCGUCCAGCUACAAGGACGCC
CUGAAGGACGUGGAGGAGCGGGCCCCAGGCCAUCAUCGACACCACCGACGACUCCACGGCC
ACCGAGAGCGCGUCCAGCUCCGUGAUGAGCCCCAGCUUCCAGCGAGUGACCACUAGUU
AUAAGACUGACUAGCCCCGAUGGGCCUCCAACGGGCCCUCCUCCCCUCCUUGCACCGAGA
UUAAUAA
AAAAAAAAAAUAUUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCUUAGACAAUUGGAUU

MAGE-C1 (ак 613-1142) (GC)-муаг-А64-С30-гистонSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGCAGUCCCCGCUGCAGGGCGAGGAGUUCAGAGCUCCCUGCAG
AGCCCCGUGUCCAUCUGCAGCUCCAGCACCCCCUCCAGCCUCCCGCAGAGCUUCCCCGAG
UCCAGCCAGUCCCCCCCCGAGGGCCCCGGUCCAGAGCCCCUGCACUCCCCGCAGAGCCCC
CCGGAGGGGAUGCACUCCCAGAGCCCCUGCAGUCCCCGAGAGCGCCCCGAGGGCGAG
GACUCCCUCAGCCCGCUGCAGAUCCCCAGUCCCCGCUGGAGGGGGAGGACAGCCUCUCC
AGCCUGCACUUCCCCAGUCCCCGCCCCGAGUGGGAGGACAGCCUGAGCCCCUCCACUUC
CCCCAGUUCCCGCCCCAGGGCGAGGACUCCAGUCCAGCCUGCAGUCCCCGUGAGCAUC
UGCUCAGCUCCACGAGCCUGUCCUCCCCCAGAGCUUCCGGAGUCCCCCAGAGCCCG
CCCGAGGGGCCGGCGCAGUCCCCUGCAGCGCCCCGUGAGCUCCUUCUUCAGCUACACC
CUGGCCUCCUCCUGCAGAGCUCCACGAGAGCCCCGAGAGCCCCGCCGAGGGCCCCGCC
CAGUCCCCGCUGCAGAGCCCCGUCUCCAGCUUCCCCUCCAGCACCUCAGCUCCCUCAGC
CAGUCCAGCCCCGUGUCCAGCUUCCGUCAGCACCUCAGCUCCUGAGCAAGAGCUCC
CCCGAGAGCCCCUGCAGUCCCCGUGAUCAGCUUCCAGCUCCACGAGCCUCUCCCCG
UUCAGCGAGGAGUCCAGCUCCCCGUCGACGAGUACAACCAGCUCCAGCGACACCUCUGCUG
GAGUCCGACAGCCUCACCGACUCCGAGAGCCUGAUCGAGAGCGAGCCCCUGUUCACCUAC
ACGCUCGACGAGAAGGUGGACGAGCUGGCCCGGUUCCUGCUCCUGAAGUACCAGGUGAAG
CAGCCCAUCAACCAAGGCCGAGAUGCUGACCAACGUCAUCUCCCGCUACACCGGCUACUUC
CCGGUGAUCUUCGGAAGGCGCGCGAGUUCAUCGAGAUCUCUUCGGGAUCAGCCUGCGG
GAGGUGGACCCCGACGACUCCUACGUCUUCGUGAACACGCUGGACCUCACCAGCGAGGGC
UGCCUGUCCGACGAGCAGGGGAUGAGCCAGAACCGCCUGCUCAUCCUGAUCCUGUCCAUC
AUCUUCAUCAAGGGCACCUACGCCAGCGAGGAGGUCAUCUGGGACGUGCUCUCCGGGAUC
GGCGUGCGGGCCGGCCGCGAGCACUUCGCCUUCGGGGAGCCCCGGGAGCUGCUGACCAAG
GUCUGGGUGCAGGAGCACUACCUCGAGUACCGCGAGGUGCCCAACAGCUCCCCGCCCGG
UACGAGUUCUGUGGGGGCCCCCGCGCCACAGCGAGGUCAUCAAGCGGAAGGUGGUGGAG
UCCUGGGCAUGCUCAGAACACGGUCCCCAUACCUUCCCGUCCAGCUACAAGGACGCC
CUGAAGGACGUGGAGGAGCGGGCCAGGCCAUCAUCGACACCACCGACGACUCCACGGCC
ACCGAGAGCGCGUCCAGCUCCGUGAUGAGCCCCAGCUUCCAGCGAGUGACCACUAGUU
AUAAGACUGACUAGCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCGAGA
UUAAUAA
AAAAAAAAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAG
AGCCACCAGAAUU

MAGE-C1 полноразмерная CDS с оптимизированным содержанием GC

AUGGGCGACAAGGACAUGCCACCGCCGGGAUGCCGAGCCUGCUCCAGUCCAGUCCGAGAGCCCCAGUCC
 UGCCCCGAGGGCGAGGACAGCCAGUCCCCCCUGCAGAUCCCGCAGAGCUCCCGCAGAGCGACGACACCCUG
 UACCCCUCCAGUCCCGCAGAGCCGGUCCGAGGGGGAGGACAGCUCCGACCCGCUGCAGCGCCCCCGAG
 GGCAAGGACAGCCAGUCCCGCUGCAGAUCCCGCAGAGCUCCCGAGGGGGACGACACGCAGAGCCCCUC
 CAGAACAGCCAGUCCAGCCCCGAGGGCAAGGACUCCUGAGCCCGCUGGAGAUCUCCAGAGCCCCCGAG
 GCGAGGACGUGCAGUCCCGCUCCAGAACC CGCCAGCUCCUUCUUCAGCUCCGCGUCUGCAGCAUUC
 CAGUCCAGCCCCGAGUCCACCAGAGCCCCUUCGAGGGGUUCCCCCAGJCCGUCCUCCAGAUCCGGUGAGC
 GCCGCCUCCAGCAGCACCCUGGUGUCCAUCUCCAGAGCUCCCGCAGAGCACCCAGUCCCCUUCGAGGGG
 UCCCCCAGAGCCCGCUGCAGAUCCCGUGUCCCGGAGCUUCCAGCAGCUCCUGUCCAUCUCCAGAGC
 UCCCCGAGCGCACCCAGAGCACCUUCGAGGGGUUCCCGCAGUCCCGCUGCAGAUCCCGUGAGCCCCUCC
 AGCAGCUCCACCCUCCUGAGCCUGUCCAGUCCUUCAGCGAGCGGACGCAGUCCACCUUCGAGGGCUUCGCC
 CAGAGCUCCUCCAGAUCCCGUGAGCCCGUCCUUCAGCUCCACCCUCCUGGUCAGCCUGUCCAGUCCAGCCCC
 CAGCGCACCCAGUUCGAGGGGUUCCCCAGAGCCCCUCCAGAUCCCGGUGUCCAGCUCCAGCAGC
 UCCACCCUCCUGAGCCUUCUCCAGUCCAGCCCCGAGCGGACCCACUCCACCUUCGAGGGCUUCCCCAGAGC
 CUGCUGCAGAUCCCAUGACGUCCAGCUUCCAGCACCCUCCUGUCCAUCUCCAGAGCUCCCGGAGAGC
 GCGCAGUCCACCUUCGAGGGGUUCCCCCAGAGCCCCUGCAGAUCCCGGGUCCCGGAGCUUCCUCCAGCACCC
 CUCCUGAGCCUGUCCAGUCCAGCCCCGAGCGCACGCACUCCACCUUCGAGGGCUUCCCCCAGAGCCCCUC
 CAGAUCCCGAUGACCUCAGCUUCCAGCACCCUGCUGUCCAUCUCCAGAGCUCCCGCAGAGCGCCAG
 UCCGCCUUCGAGGGGUUCCCCCAGAGCCCCUGCAGAUCCCGGUGUCCAGCUCCUUCAGCUACACCGUCUC
 UCCUGUCCAGAGCAGCCCCGAGCGGACCCACUCCACCUUCGAGGGCUUCCCCCAGAGCCCCGUGCAGAU
 CCCGUGUCCAGCUCCAGCUCCAGCUCCACCCUCCUGAGCCUGUCCAGUCCAGCCCCGAGUCCAGCGCAGUCC
 ACCUUCGAGGGGUUCCCCCAGAGCCCGCUGCAGAUCCCGCAGUCCCGCCCCGAGGGGGAGAACCACCCACAGC
 CCGCUCCAGAUCCGUGCCCCUCCUGCCGAGUGGGAGGACAGCCUGUCCCCGCACUACUCCCGCAGAGCCCC
 CCGCAGGGCGAGGACAGCCUCCCCCCACUACUCCCGCAGAGCCCCGCCCAGGGGGAGGACUCCCUGAGC
 CCCACUACUCCCGCAGUCCCCCCAGGGCGAGGACAGCCUGUCCCGCACUACUCCCGCAGAGCCCCGCC
 CAGGGGGAGGACUCCAUGAGCCCCUCUACUCCCGCAGUCCCGCUCCAGGGCGAGGAGUCCAGAGCUCC
 CUGCAGAGCCCCGUGUCCAUCUGCAGCUCCAGCACCCUCCAGCCUCCCGCAGAGCUUCCCGAGUCCAGC
 CAGUCCCCCCCGAGGGCCCGGUCCAGAGCCCCUGCACUCCCGCAGAGCCCCCGGAGGGGAUGCACCUC
 CAGAGCCCCUGCAGUCCCGCAGAGCGCCCCGAGGGGAGGACUCCUCCAGCCCGCAGUCCCGCCCCGAG
 UCCCGCUGGAGGGAGGACAGCCUCCAGCUCCAGCUCCACCUUCAGUCCCGCCCCGAGUCCCGCCCCGAG
 CUGAGCCCCUCCACUCCCGCAGUCCCGCCCCAGGGCGAGGACUCCAGUCCAGCCUGCAGUCCCGGUG
 AGCAUCUGCUCCAGCUCCACGAGCCUGUCCUCCCGCAGAGCUUCCCGGAGUCCCGCCCCAGAGCCCCGCGAG
 GGGCCGGCGCAGUCCCGCUGCAGCGCCCCGUGAGCUCCUUCUUCAGCUACACCCUGGCCUCCCUCCUGCAG
 AGCUCCACGAGAGCCCCGAGAGCCCCGCGAGGGCCCCGCCAGUCCCGCUGCAGAGCCCCGUGUCCAGC
 UCCCUCCAGCACCCUCCAGCUCCUCAGCCAGUCCAGCCCCGUGUCCAGCUUCCCGUCCAGCACCCUCCAGC
 UCCUGAGCAAGAGCUCCCGCAGAGCCCCUGCAGUCCCGGUGAUCAGCUUCCAGCUCCACGAGCCUC
 UCCCGUUCAGCGAGGAGUCCAGCUCCCGUGCGACGAGUACACCAGCUCCAGCGACACCCUGCUGGAGUCC
 GACAGCCUACCGACUCCGAGAGCCUGAUCCGAGAGCGAGCCCCUGUUCACCUACACGUCGACGAGAAGGUG
 GACGAGCUGGCCCGGUUCCUGCUCCUGAAGUACCAGGUGAAGCAGCCAUACCAAGGCCGAGAUCCAGUCCUC
 AACGUCUUCUCCGCUACACCCGGCUACUUCCGGUGAUCUCCGGAAGGCGCGGAGUUAUCGAGAUCCUC
 UUCGGGAUCAGCCUGCGGGAGGUGGACCCGACGACUCCUACGUCUUCGUGAACACGCUUGGACCUACCCAGC
 GAGGGCUGCCUGUCCGACGAGCAGGGGAUGAGCCAGAACCGCCUGCUCAUCCUGAUCCUGUCCAUAUCUUC
 AUCAAGGGCACCUACGCCAGCGAGGAGGUAUCUUGGGACGUGUCUCCGGGAUCGGCGUGCGGGCCGGCCGC
 GAGCACUUCGCCUUCGGGGAGCCCCGGGAGCUGCUGACCAAGGUCCGGGUGCAGGAGCACUACCUCCGAGUAC
 CGCGAGGUGCCCAACAGCUCCCGCCCCCGGUACGAGUCCUGUGGGGCCCGCCGCCACAGCGAGGUAUC
 AAGCGGAAGGUGGUGGAGUUCUGGCAGUUCUACGAACACGGUCCCAUCCACCUUCCGUCAGCUACAAG
 GACGCCUGAAGGACGUGGAGGAGCGGGCCCCAGGCCAUCAUCGACACCCAGCAGCUCCACGGCCACCCGAG
 AGCGCUCCAGCUCCGUGAUGAGCCCCAGCUUCCAGCGAGUGA

MAGE-C1 (ак 613-1142) CDS с оптимизированным содержанием GC

AUGCAGUCCCCGCUGCAGGGCGAGGAGUUCCAGAGCUCCUGCAGAGCCCCGUGUCCAUC
UGCAGCUCCAGCACCCCCUCCAGCCUCCCGCAGAGCUCCCCGAGUCCAGCCAGUCCCCC
CCCGAGGGCCCGGUCCAGAGCCCCUGCACUCCCCGCAGAGCCCCCGGAGGGGAUGCAC
UCCAGAGCCCCUGCAGUCCCCGAGAGCGCCCCGAGGGCGAGGACUCCUCAGCCCG
CUGCAGAUCCCCAGUCCCCGCUGGAGGGGAGGACAGCCUCCAGCCUGCAUCCCC
CAGUCCCCGCCGAGUGGGAGGACAGCCUGAGCCCCUCCACUCCCCCAGUUCCCCGCC
CAGGGCGAGGACUCCAGUCCAGCCUGCAGUCCCCGUGAGCAUCUGCUCCAGCUCCACG
AGCCUGUCCUCCCCCAGAGCUUCCCGGAGUCCCCCAGAGCCCGCCGAGGGGCCGGCG
CAGUCCCCUGCAGCGCCCCGUGAGCUCCUUCUUCAGCUACACCCUGGCCUCCUCCUG
CAGAGCUCCACGAGAGCCCGCAGAGCCCGCCGAGGGCCCGCCAGUCCCCGCUGCAG
AGCCCCGUGUCCAGCUUCCCCUCCAGCACCUCCAGCUCCUCAGCCAGUCCAGCCCCGUG
UCCAGCUCCCCGUCCAGCACCUCCAGCUCCUGAGCAAGAGCUCCCCGAGAGCCCCUG
CAGUCCCCGUGAUCAGCUUCCAGCUCCACGAGCCUCUCCCCGUUCAGCGAGGAGUCC
AGCUCCCCGUCGACGAGUACACCAGCUCCAGCGACACCUGCUGGAGUCCGACAGCCUC
ACCGACUCCGAGAGCCUGAUCGAGAGCGAGCCUGUUCACCUACACGCUCGACGAGAAG
GUGGACGAGCUGGCCCGGUUCCUGCUCCUGAAGUACCAGGUGAAGCAGCCCAUCACCAAG
GCCGAGAUGCUGACCAACGUCAUCUCCCGCUACACCGGCUACUUCCCGGUGAUCUCCGG
AAGGCCGCGAGUUCAUCGAGAUCCUUUCGGGAUCAGCCUGCGGGAGGUGGACCCCGAC
GACUCCUACGUCUUCGUGAACACGCUGGACCUCACCAGCGAGGGCUGCCUGUCCGACGAG
CAGGGGAUGAGCCAGAACCGCCUGCUCAUCCUGAUCCUGUCCAUCAUCUCAUCAAGGGC
ACCUACGCCAGCGAGGAGGUCAUCUGGGACGUGCUUCCGGGAUCGGCGUGCGGGCCGGC
CGCGAGCACUUCGCCUUCGGGGAGCCCGGGAGCUGCUGACCAAGGUCUGGGUGCAGGAG
CACUACCUCGAGUACCGCGAGGUGCCCAACAGCUCCCCGCCCGGUACGAGUUCCUGGG
GGCCCCCGGCCACAGCGAGGUCAUCAAGCGGAAGGUGGUGGAGUUCCUGGCCAUGCUC
AAGAACACGGUCCCCAUCACCUUCCGUCCAGCUACAAGGACGCCUGAAGGACGUGGAG
GAGCGGGCCCAGGCCAUCAUCGACACCCCGACGACUCCACGGCCACCGAGAGCGCGUCC
AGCUCCGUGAUGAGCCCCAGCUUCCAGCGAGUGA

ФИГ. 17

MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30

GGGAGAAAGCUUACCAUGCCCCCGGUGCCCCGGCGUCCCCUCCGGAACGUGGACAACGAC
AGCCCCACCUCCGUGGAGCUGGAGGACUGGGUCGACGCCCAGCACCCGACCGACGAGGAG
GAGGAGGAGGCCAGCUCCGCGAGCUCCACGCUCUACCUGGUGUUCAGCCCCUCCAGCUUC
UCCACCAGCUCCAGCCUGAUCCUCGGGGGCCCCGAGGAGGAGGAGGUGCCCUCGGGGGUC
AUCCCGAACCUGACCGAGAGCAUCCCCUCCAGCCCCCGCAGGGCCCCGCCCCAGGGGGCCC
UCCCAGAGCCCCUGUCCAGCUGCUGCAGCUCCUUCAGCUGGUCAGCUUCUCCGAGGAG
AGCUCCAGCCAGAAGGGCGAGGACACCGGCACGUGCCAGGGGCUCCCGGACUCCGAGAGC
UCCUUCACCUACACCCUGGACGAGAAGGUGGCCGAGCUGGUGGAGUUCUCCUGCUGAAG
UACGAGGCCGAGGAGCCCCGUCACCGAGGCCGAGAUGCUCUAUGAUCGUGAUCUAAGUACAAG
GACUACUCCCCGUGAUCCUGAAGCGCGCCCCGGGAGUUCAUGGAGCUGCUCUUCGGCCUG
GCGCUGAUCGAGGUCGGGCCCCGACCACUUCUGCGUGUUCGCCAACACGGUGGGCCUCACC
GACGAGGGGAGCGACGACGAGGGCAUGCCGGAGAACUCCUGCUGAUCUAUCCUCAGC
GUCAUCUUAUCAAGGGCAACUGCGCCUCCGAGGAGGUGAUCUGGGAGGUGCUGAACGCC
GUCGGGGUGUACGCGGGCCCGAGCACUUCGUGUACGGGGAGCCCCGGGAGCUGCUCACC
AAGGUCUGGGUGCAGGGCCACUACCUGGAGUACCGCGAGGUGCCGCACAGCUCCCCCCCG
UACUACGAGUUCUGUGGGGCCCCCGGGCCCACAGCGAGUCCAUCAAGAAGAAGGUCCUC
GAGUCCUGGCCAAGCUGAACAACACCGUGCCCAGCAGCUUCCCCUCCUGGUACAAGGAC
GCCCUCAAGGACGUCGAGGAGCGCGUGCAGGCCACGAUCGACACCGCGGACGACGCCACC
GUGAUGGCCAGCGAGUCCUGAGCGUCAUGUCCAGCAACGUGUCCUUCAGCGAGUGACCA
CUAGUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCA
CCGAGAUUAAUAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAUUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCUAGACAAUU
GGAAUU

MAGE-C2 (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGCCCCGGUGCCCGGCGUCCCCUUCGGAACGUGGACAACGAC
AGCCCCACCUCCGUGGAGCUGGAGGACUGGGUCGACGCCAGCACCCGACCGACGAGGAG
GAGGAGGAGGCCAGCUCCGCGAGCUCCACGCUCUACCUUGGUGUUCAGCCCCUCCAGCUUC
UCCACCAGCUCCAGCCUGAUCCUCGGGGGCCCCGAGGAGGAGGAGGUGCCUCCGGGGUC
AUCCCGAACCUGACCGAGAGCAUCCCCUCCAGCCCCCGCAGGGCCCCGCCCCAGGGGCC
UCCAGAGCCCCUGUCCAGCUGCUGCAGCUCCUUCAGCUUGGUCCAGCUUCUCCGAGGAG
AGCUCCAGCCAGAAGGGCGAGGACACCGGCACGUGCCAGGGGCUCCCGGACUCCGAGAGC
UCCUUCACCUACACCCUGGACGAGAAGGUGGCCGAGCUGGUGGAGUUCUCCUGCUGAAG
UACGAGGCCGAGGAGCCCGUCACCGAGGCCGAGAUGCUCUAUGAUCGUGAUCUAAGUACAAG
GACUACUCCCCGUGAUCCUGAAGCGCGCCCCGGGAGUUCAUGGAGCUGCUCUUCGGCCUG
GCGCUGAUCGAGGUCGGGCCCGACCACUUCUGCGUGUUCGCCAACACGGUGGGCCUCACC
GACGAGGGGAGCGACGACGAGGGCAUGCCGGAGAACUCCUGCUGAUCUAUCAUCCUCAGC
GUCAUCUUCAUCAAGGGCAACUGCGCCUCCGAGGAGGUGAUCUGGGAGGUGCUGAACGCC
GUCGGGGUGUACGCGGGCCGCGAGCACUUCGUGUACGGGGAGCCCCGGGAGCUGCUCACC
AAGGUCUGGGUGCAGGGCCACUACCUUGGAGUACCGCGAGGUGCCGCACAGCUCCCCCCCG
UACUACGAGUUCUGUGGGGCCCCCCGGGCCACAGCGAGUCCAUCAAGAAGAAGGUCCUC
GAGUUCUGGCCAAGCUGAACAACACCGUGCCCAGCAGCUUCCCCUCCUGGUACAAGGAC
GCCUCAAGGACGUCGAGGAGCGCGUGCAGGCCACGAUCGACACCGCGGACGACGCCACC
GUGAUGGCCAGCGAGUCCUGAGCGUCAUGUCCAGCAACGUGUCCUUCAGCGAGUGACCA
CUAGUUUAAGACUGACUAGCCC GAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCA
CCGAGAUUAAUAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCU
UUUCAGAGCCACCAGAAUU

ФИГ. 19

MAGE-C2 CDS дикого типа

AUGCCUCCCGUUCCAGGCGUUCSAUUCGCAACGUUGACAACGACUCCCCGACCUCAGUU
GAGUUAGAAGACUGGGUAGAUGCACAGCAUCCCACAGAUGAGGAAGAGGAGGAAGCCUCC
UCCGCCUCUCCACUUUGUACUUAGUAUUUUCCCCUCUUCUUCUCCACAUCUCUUCU
CUGAUUCUUUGGUGGUCCUUGAGGAGGAGGAGGUGCCUCUGGUGUGAUACCAAUUCUUACC
GAGAGCAUUCACAGUAGUCCUCCACAGGGUCCUCCACAGGGUCCUCCAGAGUCCUCUG
AGCUCCUGCUGCUCCUCUUUUUCAUGGAGCUCAUUCAGUGAGGAGUCCAGCAGCCAGAAA
GGGGAGGAUACAGGCACCCUGUCAGGGCCUGCCAGACAGUGAGUCCUCUUUCACAUUAACA
CUAGAUGAAAAGGUGGCCGAGUUAGUGGAGUUCUGUCUCCUCAAUACGAAGCAGAGGAG
CCUGUAACAGAGGCAGAGAUGCUGAUGAUUGUCAUCAAGUACAAAGAUUACUUUCCUGUG
AUACUCAAGAGAGCCCGUGAGUUCAUGGAGCUUCUUUUUGGCCUUGCCCUGAUAGAAGUG
GGCCUGACCACUUCUGUGUGUUUGCAAACACAGUAGGCCUCACCGAUGAGGGUAGUGAU
GAUGAGGGCAUGCCCGAGAACAGCCUCCUGAUUAUUUUUCUGAGUGUGAUCUUCAUAAAG
GGCAACUGUGCCUCUGAGGAGGUCAUCUGGGAAGUGCUGAAUGCAGUAGGGGUUAUUGCU
GGGAGGGAGCACUUCGUCUAUGGGGAGCCUAGGGAGCUCUCACUAAAGUUUGGGUGCAG
GGACAUUACCGGAGUAUCGGGAGGUGCCCCACAGUUCUCCUCCAUAUUUAUGAAUCCUG
UGGGGUCCAAGAGCCCAUUCAGAAAGCAUCAAGAAGAAAGUACUAGAGUUUUUAGCCAAG
CUGAACAACACUGUUCUAGUUCUUCUCCAUCCUGGUACAAGGAUGCUUUGAAAGAUGUG
GAAGAGAGAGUCCAGGCCACAAUUGAUACCGCAGAUGAUGCCACUGUCAUGGCCAGUGAA
AGCCUCAGUGUCAUGUCCAGCAACGUCUCCUUUUCUGAGUGA

ФИГ. 20

MAGE-C2 CDS с оптимизированным содержанием GC

AUGCCCCGGUGCCCGGCGUCCCUUCCGGAACGUGGACAACGACAGCCCCACCUCCGUG
GAGCUGGAGGACUGGGUCGACGCCAGCACCCGACCGACGAGGAGGAGGAGGCCAGC
UCCGCGAGCUCCACGCUCUACCUUGGUUUAGCCCCUCCAGCUUCUCCACCAGCUCCAGC
CUGAUCCUCGGGGGCCCGAGGAGGAGGAGGUGCCCUCCGGGGUCAUCCCGAACCUGACC
GAGAGCAUCCCUCCAGCCCCCGCAGGGCCCGCCCGAGGGGCCUCCAGAGCCCCUG
UCCAGCUGCUGCAGCUCCUUCAGCUGGUCCAGCUUCUCCGAGGAGAGCUCCAGCCAGAAG
GGCGAGGACACCGGCACGJGCCAGGGGCUCCCGGACUCCGAGAGCUCCUUCACCUACACC
CUGGACGAGAAGGUGGCCGAGCUGGUGGAGUUCUCCUGCUGAAGUACGAGGCCGAGGAG
CCCGUCACCGAGGCCGAGAUGCUCUUGAUUGUAUCAAGUACAAGGACUACUUCCCGUG
AUCCUGAAGCGCGCCCGGAGUUCAUGGAGCUGCUCUUCGGCCUGGCGCUGAUCCGAGGUC
GGGCCCGACCACUUCUGCGUGUUCGCCAACACGGUGGGCCUCACCGACGAGGGGAGCGAC
GACGAGGGCAUGCCGGAGAACUCCUGCUGAUCAUCAUCCUCAGCGUCAUCUUCAUCAAG
GGCAACUGCGCCUCCGAGGAGGUGAUCUGGGAGGUGCUGAACGCCGUCGGGGUGUACGCG
GGCCGCGAGCACUUCGUGUACGGGGAGCCCCGGGAGCUCUCACCAAGGUCUGGGUGCAG
GGCCACUACCUGGAGUACCGCGAGGUGCCGCACAGCUCUCCCCCGUACUACGAGUUCUG
UGGGGCCCCCGGGCCACAGCGAGUCCAUCAAGAAGAAGGUCCUCGAGUUCUGGCCAAG
CUGAACAAACACCGUGCCCAGCAGCUUCCCUCCUGGUACAAGGACGCCCUCAAGGACGUC
GAGGAGCGCGUGCAGGCCACGAUCGACACCGCGGACGACGCCACCGUGAUGGCCAGCGAG
UCCUGAGCGUCAUGUCCAGCAACGUGUCCUUCAGCGAGUGA

ФИГ. 21

MUC1 5×VNTR (GC)-muag-A64-C30

GGGAGAAAGCUUACCAUGACCCCCGGCACCCAGAGCCCGUUCUCCUGCUCUCCUGCUGCUC
ACGGUGCUGACCCGUCGUGACCCGGGUCCGGCCACGCCAGCUCCACCCCCGGGGGCGAGAAG
GAGACGAGCGCCACCCAGCGGUCCAGCGUGCCCUCAGCACCGAGAAGAACGCGGUUCUCC
AUGACCACCUCCGUGCUGAGCUCCCACAGCCCCGGGUCCGGCAGCUCCACGACCCAGGGC
CAGGACGUGACCCUCGCCCCGGCCACCCAGCCCGCCAGCGGGUCCGCCGCGACGUGGGGC
CAGGACGUCACCAGCGUGCCCUGACCCCGCCCCGCCUUGGGGAGCACCCACGCCGCCCGCC
CACGACGUCACCUCCGCCCCGACAACAAGCCCGCGCCGGGCAGCACCGCCCCCCCCGCC
CACGGGGUGACCUCCGCCCCGACACGCGGCCGGCCCCGGCAGCACCGCGCCCCCCCCGCC
CACGGCGUGACCUCCGCCCCGGACACCCGCCCCGCCCGGGGAGCACGGCCCCGCCGGCG
CACGGCGUCACCUCCGCCCCGACACCCGGCCCCGCCCGGGGAGCACCGCCCCGCCCGCC
CACGGCGUGACGUCGCGCCCCGACACCCGCCCCGGCCCCGGCAGCACCGCCCCCCCCGCC
CACGGGGUGACCUCCGCCCCGGACACGCGGCCCGCGCCCGGCAGCACCGCCCCGCCGGCC
CACGGGGUGACCUCCGCGCCCCGACAACCGCCCCGCCUUGGGGAGCACCGCCCCGCCGUG
CACAACGUGACCUCCGCCAGCGGCUCGCGAGCGGGUCCGCCAGCACCCUCGUCCACAAC
GGCACGUCCGCCCGGGCCACCACCACCCCGCCAGCAAGUCCACGCCUUCAGCAUCCCG
UCCACCACAGCGACACCCCAACCCUGGCGUCCACAGCACGAAGACCGACGCCUCC
AGCACCCACCACUCCAGCGUGCCCCCGCUGACCAGCUCCAACCACAGCACGUCCCCGCAG
CUCAGCACCGGGGUGUCCUUCUUCUCCUGAGCUUCCACAUCUCCAACCGCAGUUCAAC
AGCUCCUCGAGGACCCAGCACCCGACUACUACCAGGAGCUGCAGCGGGACAUCUCCGAG
AUGUCCUGCAGAUCAACAAGCAGGGCGGCUUCCUCGGGCUGAGCAACAUCAAGUCCGC
CCCGGCUCGUGGUGCAGCUGACCCUCGCCUUCGGGAGGGGACGAUCAACGUCCAC
GACGUGGAGACCCAGUUCAACCAGUACAAGACCGAGGCCGCCAGCCGCUACAACCGUACC
AUCUCCGACGUGAGCGUCUCCGACGUGCCUUCGGUUCAGCGCGCAGUCCGGCGCCGGC
GUGCCCGGGUGGGGCAUCGCCUUCGUCGUCUCCUGGUGUGCGUGCUGGUCGCCUCCGCAUC
GUGUACCGUAUCGCGCUGGCCGUGUGCCAGUGCCGGCGCAAGAACUACGGGCAGCUCGAC
AUCUCCCCGCCCGGGACACGUACCACCCGAUGAGCGAGUACCCGACCUACCACACCCAC
GGCCGCUACGUCCCCCAGCUCCACCGACCGGAGCCCCUACGAGAAGGUGUCCGCCGGG
AACGGCGGCAGCUCCUGAGCUACACCAACCCGGCGGUGGCCGCCGCCUCCGCCAACCU
UGACCACUAGUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCAACGGGCCUCCUCCCCUC
CUUGCACCGAGAUUAUAUAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCUUCUAG

MUC1 5×VNTR (GC)-muag-A64-C30-гистонSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGACCCCCGGCACCCAGAGCCCGUUCUUCUGCUCCUGCUGCUC
ACGGUGCUGACCGUCGUGACCGGGUCCGGCCACGCCAGCUCACCCCCGGGGGCGAGAAG
GAGACGAGCGCCACCCAGCGGUCCAGCGUGCCUCCAGCACCCGAGAAGAACGCGGUUCC
AUGACCAGCUCCGUGCUGAGCUCCACAGCCCCGGGUCCGGCAGCUCCACGACCCAGGGC
CAGGACGUGACCCUCGCCCCGGCCACCGAGCCCGCCAGC3GGUCCGCCGCGACGUGGGGC
CAGGACGUCACCAGCGUGCCCGUGACCCGCCCCGCCUGGGGAGCACACGCCGCCCGCC
CACGACGUCACCUCCGCCCCCGACAACAAGCCCGCGCCGGGCAGCACCCGCCCCCGCC
CACGGGGUGACCUCCGCCCCCGACACGCGGCCGGCCCCGGCAGCACCGCGCCCCCGCC
CACGGCGUGACCUCCGCCCCGGACACCCGCCCCGCCCCCGGGAGCACGGCCCCGCGGGC
CACGGCGUACCUCCGCCCCCGACACCCGGCCCCGCCCCCGGGAGCACCGCCCCGCCCGCC
CACGGCGUGACGUCGCGCCCGACACCCGCCCGGCCCCCGGCAGCACCGCCCCCGCC
CACGGGGUGACCUCCGCCCCGGACACGCGGCCCGCGCCCGGCAGCACCGCCCCGCGGGC
CACGGGGUACCUCCGCGCCCGACAACCGCCCCGCCUUGGGGAGCACCGCCCCGCCCGUG
CACAACGUGACCUCCGCCAGCGGCUCGCGAGCGGGUCCGCCAGCACCCUCGUCCACAAC
GGCACGUCGCCCCGGGCCACCACCACCCCGCCAGCAAGUCCACGCCUUCAGCAUCCCG
UCCACCACAGCGACACCCCCACCACCCUGGCGUCCACAGCACGAAGACCGACGCCUCC
AGCACCCACCACUCCAGCGUGCCCCCGUGACCCAGCUCCAACCACAGCACGUCCCCGAG
CUCAGCACCGGGGUGUCCUUCUUCUUCUGAGCUUCCACAUCUCCAACCUGCAGUUCAAC
AGUCCUUCGAGGACCCCAGCACCGACUACUACCAGGAGCUGCAGCGGGACAUCUCCGAG
AUGUCCUGCAGAUCAACAAGCAGGGCGGCUUCCUCGGGCUGAGCAACAUCAAGUCCGC
CCCGGCUCCGUCGUGGUGCAGCUGACCCUCGCCUUCGGGAGGGGACGAUCAACGUCCAC
GACGUGGAGACCCAGUUAACAGUACAAGACCGAGGCCGCCAGCCGCUACAACCUGACC
AUCUCCGACGUGAGCGUCUCCGACGUGCCCUUCCCGUUCAGCGCGCAGUCCGGCGCCGGC
GUGCCCGGGUGGGGCAUCGCCUGCUCGUCCUGGUGUGCGUGCUGGUCGCCUCGCCAUC
GUGUACCUGAUCGCGCUGGCCGUGUGCCAGUGCCGGCGCAAGAACUACGGGCAGCUCGAC
AUCUUCGCCCGCCCGGGACACGUACCACCCGAUGAGCGAGUACCCGACCUACCACACCAC
GGCCGCUACGUCCCCCAGCUCCACCGACCGGAGCCCUACGAGAAGGUGUCCGCCGGG
AACGGCGGCAGUCCUUGAGCUACACCAACCCGGCGGUGGCCGCCGCCUCCGCCAACCUG
UGACCACUAGUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUC
CUUGCACCGAGAUUAUAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAA
GGCUCUUUCAGAGCCACCAGAAU

Muc1-5xVNTR CDS дикого типа

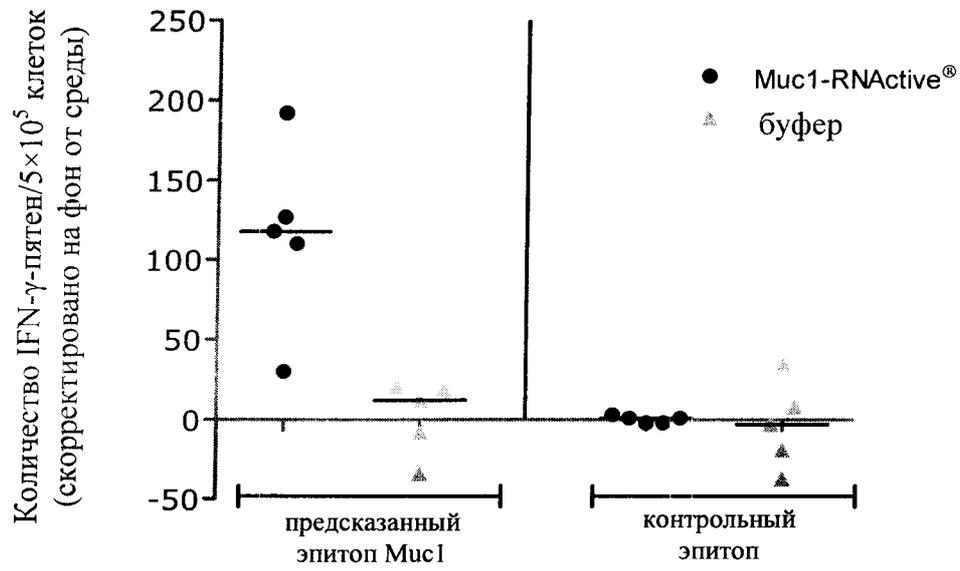
AUGACACCGGGCACCCAGUCUCCUUUCUUCUGCUGCUGCUCUCCUCACAGUGCUUACAGUU
GUUACAGGUUCUGGUCAUGCAAGCUCUACCCCAGGUGGAGAAAAGGAGACUUCGGCUACC
CAGAGAAGUUCAGUGCCAGCUCUACUGAGAAGAAUGCUGUGAGUAUGACCAGCAGCGUA
CUCUCCAGCCACAGCCCCGGUUCAGGCUCCUCCACCACUCAGGGACAGGAUGUCACUCUG
GCCCCGGCCACGGAACCAGCUUCAGGUUCAGCUGCCACCUGGGGACAGGAUGUCACCUCG
GUCCAGUCACCAGGCCAGCCCUGGGCUCCACCACCCCAGCCACGAUGUCACCUCA
GCCCCGGACAACAAGCCAGCCCCGGGCUCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGUGUCACCUCG
GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCUCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGUGUCACCUCG
GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCUCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGUGUCACCUCG
GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCUCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGUGUCACCUCG
GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCUCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGUGUCACCUCG
GCCCCGGACAACAGGCCGCCUUGGGCUCCACCGCCCCUCCAGUCCACAAUGUCACCUCG
GCCUCAGGCUCUGCAUCAGGCUCAGCUUCUACUCUGGUGCACAACGGCACCUCUGCCAGG
GCUACCACAACCCCAGCCAGCAAGAGCACUCCAUUCUCAAUUCCCAGCCACCACUCUGAU
ACUCCUACCACCCUUGCCAGCCAUAGCACCAAGACUGAUGCCAGUAGCACUCACCAUAGC
UCGGUACCUCUCUCACCUCUCCAAUUCACAGCACUUCUCCCCAGUUGUCUACUGGGGUC
UCUUUCUUUUUCCUGUCUUUUCACAUUCAAACCUCAGUUUAAUUCUCUCUGGAAGAU
CCCAGCACCGACUACUACCAAGAGCUGCAGAGAGACAUUUCUGAAAUGUUUUUGCAGAUU
UAUAAACAAGGGGGUUUUCUGGGCCUCUCCAUAUAUAAGUUCAGGCCAGGAUCUGUGGUG
GUACAAUUGACUCUGGCCUUCGAGAAGGUACCAUCAUUGUCCACGACGUGGAGACACAG
UUCAUUCAGUAUAAAACGGAAGCAGCCUCUCGAUAUAACCUGACGAUCUCAGACGUCAGC
GUGAGUGAUGUGCCAUUUCCUUUCUCUGCCCAGUCUGGGGCUGGGGUGCCAGGCUGGGGC
AUCGCGCUGCUGGUGCUGGUCUGUGUUCUGGUUGCGCUGGCCAUUGUCUAUCUCAUUGCC
UUGGCUGUCUGUCAGUGCCGCCGAAAGAACUACGGGCAGCUGGACAUCUUUCCAGCCCGG
GAUACCUACCAUCCUAUGAGCGAGUACCCCACCUACCACACCCAUGGGCGCUAUGUGCCC
CCUAGCAGUACCGAUCGUAGCCCCUAUGAGAAGGUUUCUGCAGGUAACGGUGGCAGCAGC
CUCUCUACACAAACCCAGCAGUGGCAGCCGCUUCUGCCAACUUGUAG

ФИГ. 24

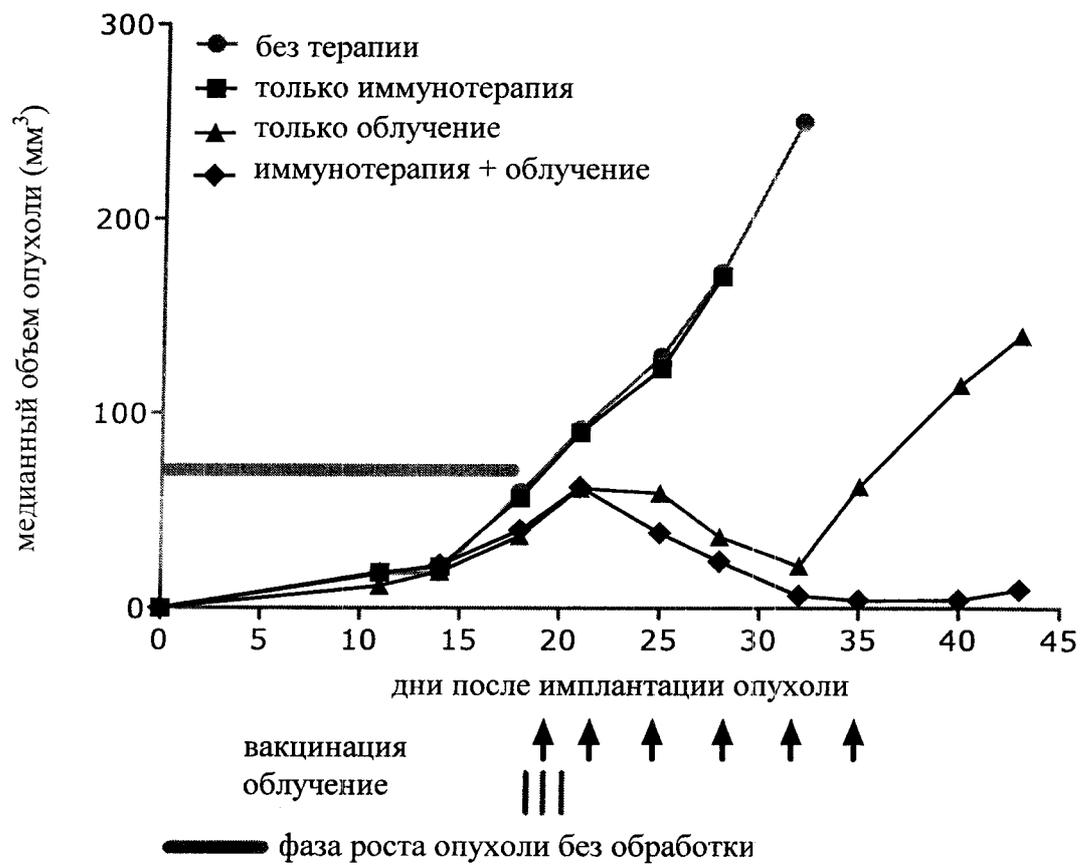
MUC1-5xVNTR CDS GC-оптимизированная

AUGACCCCCGGCACCCAGAGCCCGUUCUUCCUGCUCCUGCUGCUCACGGUGCUGACCGUC
GUGACCGGGUCCGGCCACGCCAGCUCCACCCCCGGGGGGGAGAGACGAGCGCCACC
CAGCGGUCCAGCGUGCCCUCCAGCACCGAGAAGAACGCGGUCUCCAUGACCAGCUCCGUG
CUGAGCUCCACAGCCCGGGUCCGGCAGCUCCACGACCAGGGCCAGGACGUGACCCUC
GCCCCGGCCACCGAGCCCGCCAGCGGGUCCGCGCGACGUGGGGGCCAGGACGUCACCAGC
GUGCCCGUGACCCGCCCCGCCUGGGGAGCACCACGCGCCCGCCACGACGUCACCCUC
GCCCCGACAACAAGCCCGCGCCGGGCAGCACCCGCCCCCGCCACGGGGUGACCCUCC
GCCCCGACACGCGGCCGGCCCCGGCAGCACCGCGCCCCCGCCACGGCGUGACCCUCC
GCCCCGGACACCCGCCCCGCCCGGGAGCACCGCCCCGCGGCACGGCGUGACCCUCC
GCCCCGACACCCGGCCCCGCCCGGGAGCACCGCCCCGCGGCACGGCGUGACCCUCC
GCGCCCGACACCCGCCGGCCCCGGCAGCACCCGCCCCCGCCACGGGGUGACCCUCC
GCCCCGGACACCGCGGCCCGCGCCCGGCAGCACCCGCCCCGCGGCACGGGGUGACCCUCC
GCGCCCGACAACCGCCCCGCCUGGGGAGCACCCGCCCCGCGUGCACAACGUGACCCUCC
GCCAGCGGCUCCGCGAGCGGGUCCGCCAGCACCCUCGUCCACAACGGCACGUCCGCCCGG
GCCACCACCACCCCGCCAGCAAGUCCACGCCUUCAGCAUCCCGUCCACCACAGCGAC
ACCCACCACCCGGCGUCCACAGCACGAAGACCGACGCCUCCAGCACCCACCACCUCC
AGCGUGCCCGCGUGACCAGCUCCAACCACAGCACGUCCCGCAGCUAGCACCGGGGUG
UCCUUCUUCUUCUGAGCUCCACAUCCCAACCUGCAGUUAACAGCUCCCUCGAGGGAC
CCCAGCACCGACUACUACCAGGAGCUGCAGCGGGACAUUCCGAGAUGUUCUGCAGAUC
UACAAGCAGGGCGGCUUCUCGGGCUGAGCAACAUAAGUUCCGCCCGGCUCCGUCGUG
GUGCAGCUGACCUCGCCUCCGGGAGGGGACGAUAACGUCCACGACGUGGAGACCCAG
UUCAACCAGUACAAGACCGAGGCCGCCAGCCGCUACAACCGUACCAUCUCCGACGUGAGC
GUCUCCGACGUGCCUCCGUUCAGCGCGCAGUCCGCGCGCGGCGUGCCCGGGUGGGGC
AUCGCCCGUGCUCGUCCGGUGUGCGUGCUGGUCGCCUCGCCAUCGUGUACCUGAUCGCG
CUGGCCGUGUGCCAGUGCCGGCGCAAGAACUACGGGCAGCUGACAUCUUCCCGCCCGG
GACACGUAACCACCCGAUGAGCGAGUACCCGACCUACCACCCACCCACGGCCGCUACGUCCCC
CCCAGCUCCACCGACCGGAGCCCCUACGAGAAGGUGUCCCGCGGGAACGGCGGCAGCUCC
CUGAGCUACACCAACCCGGCGGUGGCGCCGCCUCCGCCAACCUGUGA

Секреция IFN- γ в спленоцитах мышей,
вакцинированных Muc1-RNActive®



ФИГ. 26



ФИГ. 27

Белок 5T4 NP_001159864.1:

mpggcsrgpa agdgrlrlar lalvllgwvs sssptssass fsssapflas avsaqpplpd
qcpalcecse aartvkcvnr nltevptdlp ayvrnlfltq nqlavlpaga farrpplael
aalnlsgrl devragafeh lpslrqldls hnpladlspf afsgsnasvs apsplvelil
nhivppeder qnrsfegmvv aallagralq glrrlelasn hflylprdvl aqlpslrhld
lsnslvslt yvsfrnlthl eslhlednal kvlhngtlae lqglphirvf ldnpwvcdc
hmadmvtwlk etevvqgkdr ltcaypekmr nrvilleinsa dldcdpilpp slqtsyvflg
ivlaligaif llvlylnrkg ikkwmhnird acrdhmegyh yryeinadpr ltnlssnsdv

Белок сурвивин (BIRC5) O15392:

MGAPTLPPAWQPFLKDHRI STFKNWPFLEGC ACTPERMAEAGFIHCPTENEPDLAQCFFC
FKELEGWEPDDDPIEENKKHSSGCAFLSVKKQFEELTLGFEFLKLDREERAKNKIAKETNNK
KKEFEETAKKVRRAIEQLAAMD

Белок сурвивин (BIRC5) NP_001159.2:

mgaptlppaw qpflkdhris tfknwpfleg cactpermae agfihcpten epdlaqcffc
fkelegwepd ddpieehkkh ssgcaflsvk kqfeeltlge flkldrarak nkiaketnnk
kkefeetaek vrraieqlaa md

Блок NY-ESO-1 NP_001318.1:

mqaegrgtgg stgdadgpgg pgipdpgpgn aggpgeagat ggrgprgaga arasgpggga
prgphggaas glngccrcga rgpesrllef ylampfatpn eaelarrsla qdapplvpg
vllkeftvsg niltirltaa dhrqlqlsis sclqqlslm witqcflpvf laqppsgqrr

Белок MAGE-C1 NP_005453.2:

mgdkdmptag mpsllqssse spqscpeged sqsplqipqs spesddtlyp lqspqsrseg
edssdplqrp pegkdsqspl qipqsspegd dtqsplqnsq sspegkdsls pleisqsppe
gedvqsplqn passffssal lsifqsspes tqspfegfpq svlqipvsaa ssstlvsifq
sspestqspf egfpqsplqi pvsrfsstl lsifqssper tqstfegfaq splqipvps
ssstllslfq sfsertqstf egfaqsslqi pvspfsstl vslfqssper tqstfegfpq
splqipvsss ssstllslfq ssperthstf cgfpqsllqi pmtssfsstl lsifqsspcs
aqstfegfpq splqipgps fsstllslfq ssperthstf egfpqsplqi pmtssfsstl
lsilqsspes aqsafegfpq splqipvsss fsytllslfq ssperthstf egfpqsplqi
pvsssssst llsllfqsspe ctqstfegfp qsplqipqsp pegenthspl qivpslpewe
dslsphyfpq sppqgedsls phyfpqsppq gedslsphyf pqspqgedsl sphyfpqspp
qgedmsply fpqsplqgee fqsslqspvs icsstpsl pqsfpessqs ppegpvqspl
hspqsppegm hsqsplqspe sapegedsls plqipqsple gedslsslhf pqspewed
lsplhfpqfp pqgedfqssl qspvsicsss tsllspqsfp espqsppegp aqsplqrpvs
sffsytlasl lqsshespqs ppegpaqspl qspvssfps tssslsqssp vssfptsst
slsksspesp lqspvisfss stslspfsee ssspvdeyts ssdtllesds ltdseslies
eplfytlde kvdelarfl lkyqvkkpit kaemltvis rytgyfpvif rkarefieil
fgislrevdp ddsyvfvtl dltsegclsd eqgmsqrll ililsiifik gtyaseeviw
dvlsgigvra grehfafgep relltkvwvq ehyleyrevp nssprryefl wgprahsevi
krkvveflam lkntvpitfp ssykdkaldv eeraqaiidt tddstatesa sssvmspsfs
se

Белок MAGE-C2 NP_057333.1:

mppvpgvpfr nvdndsptsv eledwvdaqh ptdeeeeeas sasstlylvf spssfstsss
lilggpeeee vpsgvipnlt esipsspqqg ppqggsqspl sscssfsws sfseesssqk
gedtgtcqgl pdsessftyt ldekvaelve flllkyeae pvteaemlmi vikykydypv
ilkrarefme llfqlaliev gpdhfcvfan tvgltdegsd degmpensll iiilsvifik
gncaseeviw evlnavgvya grehfvgyep relltkvwvq ghyleyrevp hssppyyefl
wgprahsesi kkkvleflak lnntvpssfp swykdalkdv eervqatidt addatvmase
slsvmssnvs fse

ФИГ. 33

Белок MUC1 5xVNTR

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

ФИГ. 35

GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCTCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGTGTACCTCG
GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCTCCACCGCCCCCCCAGCCCACGGTGTACCTCG
GCCCCGGACACCAGGCCGGCCCCGGGCTCCACCGCCCCCCCAGCCATGGTGTACCTCG
GCCCCGGACAACAGGCCCGCCTTGGGCTCCACCGCCCCTCCAGTCCACAATGTACCTCG
GCCTCAGGCTCTGCATCAGGCTCAGCTTCTACTCTGGTGCACAACGGCACCTCTGCCAGG
GCTACCACAACCCCAGCCAGCAAGAGCACTCCATTCTCAATCCCAGCCACCCTCTGAT
ACTCCTACCACCCTTGCCAGCCATAGCACCAAGACTGATGCCAGTAGCACTCACCATAGC
TCGGTACCTCCTCTCACCTCCTCCAATCACAGCACTTCTCCCCAGTTGTCTACTGGGGTC
TCTTTCTTTTTCTGTCTTTTTCACATTTCAAACCTCCAGTTTAATTCCTCTCTGGAAGAT
CCCAGCACCGACTACTACCAAGAGCTGCAGAGAGACATTTCTGAAATGTTTTTGCAGATT
TATAACAAGGGGGTTTTCTGGGCCTCTCCAATATTAAGTTCAGGCCAGGATCTGTGGTG
GTACAATTGACTCTGGCCTCCGAGAAGGTACCATCAATGTCCACGACGTGGAGACACAG
TTCAATCAGTATAAAAACGGAAGCAGCCTCTCGATATAACCTGACGATCTCAGACGTCAGC
GTGAGTGATGTGCCATTTCTTTCTCTGCCAGTCTGGGGCTGGGGTGCCAGGCTGGGGC
ATCGCGCTGCTGGTGCTGGTCTGTGTTCTGGTTGCGCTGGCCATTGTCTATCTCATTGCC
TTGGCTGTCTGTCACTGCCGCCGAAAGAACTACGGGCAGCTGGACATCTTTCCAGCCCGG
GATACCTACCATCCTATGAGCGAGTACCCACCTACCACACCCATGGGCGCTATGTGCC
CCTAGCAGTACCGATCGTAGCCCCTATGAGAAGGTTTTCTGCAGGTAACGGTGGCAGCAGC
CTCTCTTACACAAACCCAGCAGTGGCAGCCGCTTCTGCCAACTTGTAG