(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 201992022 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.02.25

(22) Дата подачи заявки
2018.02.27

(51) Int. Cl. *A61K 38/20* (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)
C07K 14/535 (2006.01)
A61K 38/19 (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01)
C07K 14/56 (2006.01)
C12N 15/67 (2006.01)

(54) ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ РНК

(31) **62/464,981; 17306089.8; 62/597,527**
(32) **2017.02.28; 2017.08.23; 2017.12.12**
(33) **US; EP; US**
(86) **PCT/US2018/019878**
(87) **WO 2018/160540 2018.09.07**

(71) Заявитель:
САНОФИ (FR)

(72) Изобретатель:
Гизеке Фридерике, Захин Угур (DE), Видершайн Дмитри Г., Вагенар Тимоти Р. (US)

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

(57) Настоящее изобретение относится к области терапевтических РНК для лечения солидных раковых опухолей.

201992022 A1

201992022 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420–558472EA/019

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ РНК

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 62/464981, поданной 28 февраля 2017 года; предварительной заявки на патент США № 62/597527, поданной 12 декабря 2017 года; и европейской патентной заявки № 17306089.8, поданной 23 августа 2017 года; все из которых включены посредством ссылки во всей своей полноте.

[0002] Данное раскрытие относится к области терапевтической РНК для лечения солидных опухолей. Национальный институт рака определяет солидные опухоли как аномальные массы ткани, которые обычно не содержат кисты или капельно–жидкие области. Солидные опухоли включают доброкачественные и злокачественные (раковые) саркомы, карциномы и лимфомы и могут быть физически локализованы в любых ткани или органе, включая головной мозг, яичник, молочную железу, толстую кишку и другие ткани. Рак часто подразделяется на два основных типа: солидные раковые опухоли и гематологический рак (рак крови). По оценкам, в Соединенных Штатах ежегодно диагностируется более 1,5 миллиона случаев рака, и более 500000 человек в Соединенных Штатах ежегодно умирают от рака.

[0003] Солидные раковые опухоли особенно трудно поддаются лечению. Современные способы лечения включают хирургическую операцию, лучевую терапию, иммунотерапию и химиотерапию. Одна только хирургическая операция может быть подходящим лечением для небольших локализованных опухолей, но крупные инвазивные опухоли и большинство метастатических злокачественных новообразований обычно неоперабельны хирургически. Другие распространенные способы лечения, такие как лучевая терапия и химиотерапия, связаны с нежелательными побочными эффектами и повреждением здоровых клеток.

[0004] Хотя хирургическая операция и современные виды терапии иногда способны убить основную часть солидной опухоли, дополнительные клетки (включая потенциально раковые стволовые клетки) могут пережить терапию. Эти клетки со временем могут образовывать новую опухоль, приводящую к рецидиву рака. Несмотря на виды традиционной мультимодальной терапии, выживаемость без заболевания составляет менее 25% для многих типов солидных опухолей. Солидные опухоли, которые устойчивы к мультимодальной терапии или которые рецедивировали после терапии, еще труднее поддаются лечению, а долгосрочная выживаемость составляет менее 10%.

[0005] В данном документе раскрыты композиции, пути применения и способы, которые могут преодолеть имеющиеся недостатки в лечении солидных опухолей. Введение терапевтических РНК, раскрытых в данном документе, может уменьшить размер опухоли, продлить время выживания и/или защитить от метастазирования и/или рецидива опухоли.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Вариант осуществления 1. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–

12sc, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 14, и РНК, кодирующую белок GM–CSF, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 27.

Вариант осуществления 2. Композиция по варианту осуществления 1, дополнительно содержащая РНК, кодирующую белок IL–15sushi, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 24.

Вариант осуществления 3. Композиция по варианту осуществления 1, дополнительно содержащая РНК, кодирующую белок IL–2, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 9.

Вариант осуществления 4. Композиция по варианту осуществления 1, дополнительно содержащая РНК, кодирующую белок IFNα2b, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 19.

Вариант осуществления 5. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 14;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 27; и

c. РНК, кодирующую белок IFNα2b, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 19.

Вариант осуществления 6. Композиция по варианту осуществления 5, дополнительно содержащая РНК, кодирующую белок IL–15sushi, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 24.

Вариант осуществления 7. Композиция по варианту осуществления 5, дополнительно содержащая РНК, кодирующую белок IL–2, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 9.

Вариант осуществления 8. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–7, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина.

Вариант осуществления 9. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–7, где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина

Вариант осуществления 10. Композиция по любому из вариантов осуществления 8–9, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 11. Композиция по варианту осуществления 10, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин

($m^1\psi$).

Вариант осуществления 12. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–11, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит 5’–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления 13. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–11, где каждая РНК дополнительно содержит 5’–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления 14. Композиция по любому из вариантов осуществления 12–13, где 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Вариант осуществления 15. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–14, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит 5’–UTR.

Вариант осуществления 16. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–14, где каждая РНК дополнительно содержит 5’–UTR.

Вариант осуществления 17. Композиция по любому из вариантов осуществления 15–16, где 5’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 2, 4 или 6 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

Вариант осуществления 18. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–17, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит 3’–UTR.

Вариант осуществления 19. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–17, где каждая РНК дополнительно содержит 3’–UTR.

Вариант осуществления 20. Композиция по любому из вариантов осуществления 18–19, где 3’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 8 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления 21. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–20, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления 22. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–20, где каждая РНК дополнительно содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления 23. Композиция по любому из вариантов осуществления 21–22, где поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления 24. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–23, где по меньшей мере одна РНК содержит 5’–кэппирующую последовательность, 5’–UTR, 3’–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 25. Композиция по любому из вариантов осуществления 1–23, где каждая РНК содержит 5’–кэппирующую последовательность, 5’–UTR, 3’–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 26. Композиция по любому из вариантов осуществления 24–25, где

a. 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$

или 3´–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$;

b. 5’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 2, 4 или 6 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 2, 4 или 6;

c. 3’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 8 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 8; и

d. поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления 27. Способ лечения или предупреждения рака, уменьшения размера опухоли, предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждения метастазирования рака у субъекта, включающий введение субъекту композиции по любому из вариантов осуществления 1–26.

Вариант осуществления 28. Способ лечения или предупреждения рака, уменьшения размера опухоли, предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждения метастазирования рака у субъекта, включающий введение субъекту:

a. РНК, кодирующей белок IL–12sc, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 14, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18; и

b. РНК, кодирующей белок GM–CSF, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 27, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29,

тем самым осуществляя лечение или предупреждение рака, уменьшение размера опухоли, предупреждение рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждение метастазирования рака у субъекта.

Вариант осуществления 29. Способ по варианту осуществления 28, дополнительно включающий введение РНК, кодирующей белок IFNα2b, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 19, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 30. Способ по варианту осуществления 28, дополнительно включающий введение РНК, кодирующей белок IL–15sushi, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 24, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 31. Способ по варианту осуществления 28, дополнительно включающий введение РНК, кодирующей белок IL–2, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 9, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 32. Способ по варианту осуществления 28, дополнительно включающий введение РНК, кодирующей

a. белок IL–15sushi, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 24, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

b. белок IFNα2b, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 19, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 33. Способ по варианту осуществления 28, дополнительно включающий введение РНК, кодирующей

a. белок IL–2, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 9, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13; и

b. белок IFNα2b, который на по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичен аминокислотам из SEQ ID NO: 19, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 34. Способ по любому из вариантов осуществления 27–33, где рак представляет собой саркому, карциному или лимфому.

Вариант осуществления 35. Способ по любому из вариантов осуществления 27–33, где рак представляет собой солидную опухоль.

Вариант осуществления 36. Способ по варианту осуществления 35, где солидная опухоль находится в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

Вариант осуществления 37. Способ по варианту осуществления 35, где солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, мелкоклеточную опухоль легкого, нейробластому, опухоль яичка, карциному, аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому.

Вариант осуществления 38. Способ по любому из вариантов осуществления 27–37, где композицию вводят внутрь опухоли или рядом с опухолью.

Вариант осуществления 39. Способ по варианту осуществления 38, где опухоль с инъекцией и опухоль без инъекции уменьшаются в размере после инъекции внутрь опухоли или рядом с опухолью в первую опухоль или вблизи нее.

Вариант осуществления 40. Способ по любому из вариантов осуществления 27–39, где субъектом является человек.

Вариант осуществления 41. Способ по любому из вариантов осуществления 27–40, где применяют также еще один вид терапии.

Вариант осуществления 42. Способ по варианту осуществления 41, где другим видом терапии является хирургическая операция по удалению, резекции или уменьшению массы опухоли.

Вариант осуществления 43. Способ по варианту осуществления 41, где другим видом терапии является иммунотерапия, лучевая терапия или химиотерапия.

Вариант осуществления 44. Способ по любому из вариантов осуществления 27–43, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина.

Вариант осуществления 45. Способ по любому из вариантов осуществления 27–43, где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина.

Вариант осуществления 46. Способ по любому из вариантов осуществления 44–45, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 47. Способ по варианту осуществления 46, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

Вариант осуществления 48. Способ по любому из вариантов осуществления 27–47, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит 5’–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления 49. Способ по любому из вариантов осуществления 27–47, где каждая РНК дополнительно содержит 5’–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления 50. Способ по любому из вариантов осуществления 48–49, где 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–m^7G(5')ppp(5')G.

Вариант осуществления 51. Способ по любому из вариантов осуществления 27–50, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит 5’–UTR.

Вариант осуществления 52. Способ по любому из вариантов осуществления 27–50, где каждая РНК дополнительно содержит 5’–UTR.

Вариант осуществления 53. Способ по любому из вариантов осуществления 51–52, где 5’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 2, 4 или 6 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или

85% идентичностью с SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

Вариант осуществления 54. Способ по любому из вариантов осуществления 27–54, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит 3’–UTR.

Вариант осуществления 55. Способ по любому из вариантов осуществления 27–54, где каждая РНК дополнительно содержит 3’–UTR.

Вариант осуществления 56. Способ по любому из вариантов осуществления 54–55, где 3’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 8 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления 57. Способ по любому из вариантов осуществления 27–56, где по меньшей мере одна РНК дополнительно содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления 58. Способ по любому из вариантов осуществления 27–56, где каждая РНК дополнительно содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления 59. Способ по любому из вариантов осуществления 57–58, где поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления 60. Способ по любому из вариантов осуществления 27–59, где по меньшей мере одна РНК содержит 5’–кэппирующую последовательность, 5’–UTR, 3’–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 61. Способ по любому из вариантов осуществления 27–59, где каждая РНК содержит 5’–кэппирующую последовательность, 5’–UTR, 3’–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 62. Способ по любому из вариантов осуществления 60–61, где

a. 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или $3'$–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$;

b. 5’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 2, 4 или 6 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 2, 4 или 6;

c. 3’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 8 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 8; и

d. поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления 63. Кодон–оптимизированная ДНК, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 83% идентичностью с SEQ ID NO: 11.

Вариант осуществления 64. ДНК по варианту осуществления 63, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 11.

Вариант осуществления 65. Кодон–оптимизированная РНК, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 83%

идентичностью с SEQ ID NO: 13.

Вариант осуществления 66. РНК по варианту осуществления 65, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 13.

Вариант осуществления 67. РНК, полученная с ДНК по любому из вариантов осуществления 63 или 64.

Вариант осуществления 68. Кодон–оптимизированная ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 78% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 16;

b. смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 81% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 16; и

c. нуклеотидов, кодирующих линкер между нуклеотидами из a) и b).

Вариант осуществления 69. ДНК по варианту осуществления 68, где линкер содержит нуклеотиды 985–1026 из SEQ ID NO: 16.

Вариант осуществления 70. ДНК по любому из вариантов осуществления 68 и 69, где часть a) содержит смежные нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, или 75% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 16; и часть b) содержит смежные нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 16.

Вариант осуществления 71. Кодон–оптимизированная РНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 78% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 18;

b. смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 81% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 18; и

c. нуклеотидов, кодирующих линкер между нуклеотидами из a) и b).

Вариант осуществления 72. РНК по варианту осуществления 71, где линкер содержит нуклеотиды 985–1026 из SEQ ID NO: 18.

Вариант осуществления 73. РНК по любому из вариантов осуществления 71 и 72, где часть a) содержит смежные нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, или 75% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 18; и часть b) содержит смежные нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 18.

Вариант осуществления 74. РНК, полученная с ДНК по любому из вариантов осуществления 68–70.

Вариант осуществления 75. Кодон–оптимизированная ДНК, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 80%

идентичностью с SEQ ID NO: 21.

Вариант осуществления 76. ДНК по варианту осуществления 75, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 21.

Вариант осуществления 77. Кодон–оптимизированная РНК, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 80% идентичностью с SEQ ID NO: 23.

Вариант осуществления 78. РНК по варианту осуществления 77, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 23.

Вариант осуществления 79. РНК, полученная с ДНК по любому из вариантов осуществления 75–76.

Вариант осуществления 80. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с нуклеотидами 1–321 из SEQ ID NO: 25;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с нуклеотидами 382–729 из SEQ ID NO: 25; и

c. нуклеотидов, кодирующих линкер между нуклеотидами из a) и b).

Вариант осуществления 81. РНК, полученная с ДНК по варианту осуществления 80.

Вариант осуществления 82. РНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с нуклеотидами 1–321 из SEQ ID NO: 26;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с нуклеотидами 382–729 из SEQ ID NO: 26; и

c. нуклеотидов, кодирующих линкер между нуклеотидами из a) и b).

Вариант осуществления 83. ДНК, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 28.

Вариант осуществления 84. РНК, полученная с ДНК по варианту осуществления 83.

Вариант осуществления 85. РНК, содержащая или состоящая из смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 29.

Вариант осуществления 86. РНК по любому из вариантов осуществления 67, 74, 79, 81 и 84, где РНК транскрибируют с ДНК in vitro.

Вариант осуществления 87. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–85, где по меньшей мере один уридин заменяют модифицированным нуклеиновым основанием.

Вариант осуществления 88. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–85, где каждый уридин заменяют модифицированным нуклеиновым основанием.

Вариант осуществления 89. РНК по варианту осуществления 87 или 88, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 90. РНК по варианту осуществления 89, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

Вариант осуществления 91. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–90, дополнительно содержащая 5'–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления 92. РНК по варианту осуществления 91, где 5'–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Вариант осуществления 93. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–92, дополнительно содержащая 5'–UTR.

Вариант осуществления 94. РНК по варианту осуществления 93, где 5'–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 2, 4 или 6 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

Вариант осуществления 95. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–94, дополнительно содержащая 3'–UTR.

Вариант осуществления 96. РНК по варианту осуществления 95, где 3'–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 8 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления 97. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–96, дополнительно содержащая поли–A–хвост.

Вариант осуществления 98. РНК по варианту осуществления 97, где поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления 99. РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82 и 84–97, дополнительно содержащая 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 100. РНК по варианту осуществления 99, где

a. 5'–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$;

b. 5'–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 2, 4 или 6 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или

85% идентичностью с SEQ ID NO: 2, 4 или 6;

c. 3’–UTR содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 8 или нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, или 85% идентичностью с SEQ ID NO: 8, и;

d. поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления 101. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 83% идентичностью с SEQ ID NO: 11; и

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5, где при транскрипции нуклеотиды частей a) и b) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 102. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% или 78% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 16;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% или 81% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 16; и

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 103. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 21; и

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5, где при транскрипции нуклеотиды частей a) и b) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 104. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 28; и

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5, где при транскрипции нуклеотиды частей a) и b) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 105. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидами 1–321 из SEQ ID NO: 25;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидами 382–729 из SEQ ID NO: 25; и

c. смежных нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 106. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 83% идентичностью с SEQ ID NO: 11; и

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a) и b) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 107. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% или 78% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 16;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% или 81% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 16; и

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 108. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 21; и

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a) и b) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 109. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80%

идентичностью с SEQ ID NO: 28; и

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a) и b) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 110. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидами 1–321 из SEQ ID NO: 25;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидами 382–729 из SEQ ID NO: 25; и

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 111. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 83% идентичностью с SEQ ID NO: 11;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5; и

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 112. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% или 78% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 16;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% или 81% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 16;

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5; и

d. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b), c) и d) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 113. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 21;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5, где нуклеотиды части b) регулируют экспрессию нуклеотидов части a); и

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 114. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 28;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5; и

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b) и c) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 115. ДНК, содержащая или состоящая из:

a. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидами 1–321 из SEQ ID NO: 25;

b. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидами 382–729 из SEQ ID NO: 25;

c. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 1, 3 или 5; и

d. смежных нуклеотидов, содержащих или состоящих из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с SEQ ID NO: 7, где при транскрипции нуклеотиды частей a), b), c) и d) образуют единый транскрипт.

Вариант осуществления 116. РНК, полученная с любой из ДНК по вариантам осуществления 101–115.

Вариант осуществления 117. РНК по варианту осуществления 116, где по меньшей мере один уридин заменяют модифицированным нуклеиновым основанием.

Вариант осуществления 118. РНК по варианту осуществления 116, где каждый уридин заменяют модифицированным нуклеиновым основанием.

Вариант осуществления 119. РНК по любому из вариантов осуществления 117–118, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 120. РНК по варианту осуществления 119, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

Вариант осуществления 121. РНК по любому из вариантов осуществления 116–120, где РНК дополнительно содержит 5'–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления 122. РНК по варианту осуществления 121, где 5'–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Вариант осуществления 123. РНК по любому из вариантов осуществления 116–122, где РНК практически не содержит двухцепочечной РНК.

Вариант осуществления 124. РНК по любому из вариантов осуществления 116–122, где двухцепочечная РНК была удалена из РНК.

Вариант осуществления 125. РНК по любому из вариантов осуществления 123–124, где РНК была очищена с помощью HPLC или хроматографии с использованием целлюлозы.

Вариант осуществления 126. Фармацевтический состав, содержащий любую из ДНК или РНК по вариантам осуществления 63–125 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Вариант осуществления 127. Способ лечения или предупреждения рака, уменьшения размера опухоли, предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждения метастазирования рака у субъекта, включающий введение любой одной или нескольких из РНК или ДНК по вариантам осуществления 63–125 или фармацевтического состава по варианту осуществления 126.

Вариант осуществления 128. Способ получения полипептида, кодирующего IL–2, IL–12sc, IL–15sushi, GM–CSF и IFNα2b *in vivo*, включающий введение субъекту одной или нескольких ДНК или РНК по любому из вариантов осуществления 63–125, композиции по любому из вариантов осуществления 1–26 или фармацевтического состава по варианту осуществления 126.

Вариант осуществления 129. Композиция, содержащая по меньшей мере две РНК, где РНК кодируют разные белки, и где РНК выбраны из РНК по любому из вариантов осуществления 65–67, 71–74, 78–79, 81–82, 84–100, и 116–125.

Вариант осуществления 130. Композиция по варианту осуществления 129, где композиция содержит две РНК, кодирующие GM–CSF и IL–12sc.

Вариант осуществления 131. Композиция по варианту осуществления 129, где композиция содержит три РНК, кодирующие GM–CSF, IL–12sc и IFNα2b.

Вариант осуществления 132. Композиция по варианту осуществления 129, где композиция содержит три РНК, кодирующие GM–CSF, IL–2 и IFNα2b.

Вариант осуществления 133. Композиция по варианту осуществления 129, где композиция содержит четыре РНК, кодирующие GM–CSF, IL–12sc, IL–2 и IFNα2b.

Вариант осуществления 134. Композиция по варианту осуществления 129, где композиция содержит четыре РНК, кодирующие GM–CSF, IL–12sc, IL–15sushi и IFNα2b.

Вариант осуществления 135. Композиция по любому из вариантов осуществления 130–134, где РНК, кодирующая GM–CSF, выбрана из РНК по любому из вариантов осуществления 84–85.

Вариант осуществления 136. Композиция по любому из вариантов осуществления 130–134, где РНК, кодирующая IL–12sc, выбрана из РНК по любому из вариантов осуществления 71–74.

Вариант осуществления 137. Композиция по любому из вариантов осуществления 131–134, где РНК, кодирующая IFNα2b, выбрана из РНК по любому из вариантов осуществления 77–79.

Вариант осуществления 138. Композиция по варианту осуществления 134, где РНК, кодирующая IL–15sushi, выбрана из РНК по любому из вариантов осуществления 81–82.

Вариант осуществления 139. Композиция по любому из вариантов осуществления 132–133, где РНК, кодирующая IL–2, выбрана из РНК по любому из вариантов осуществления 65–67.

Вариант осуществления 140. Способ лечения или предупреждения солидной раковой опухоли, включающий введение терапевтически эффективного количества каждой из следующих РНК непосредственно в опухоль:

a. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IL–12sc (SEQ ID NO: 17 или 18);

b. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую GM–CSF (SEQ ID NO: 29); и

c. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IFNα2b (SEQ ID NO: 22 или 23),

где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина, и где каждая РНК содержит 5’–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3’–UTR (SEQ ID NO: 8), 5’–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 141. Способ лечения или предупреждения солидной раковой опухоли, включающий введение терапевтически эффективного количества каждой из следующих РНК непосредственно в опухоль:

a. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IL–12sc (SEQ ID NO: 17 или 18);

b. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую GM–CSF (SEQ ID NO: 29);

c. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IFNα2b (SEQ ID NO: 22 или 23); и

d. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IL–2 (SEQ ID NO: 12 или 13),

где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина, и где каждая РНК содержит 5’–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3’–UTR (SEQ ID NO: 8), 5’–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 142. Способ лечения или предупреждения солидной раковой опухоли, включающий введение терапевтически эффективного количества каждой из следующих РНК непосредственно в опухоль:

a. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IL–12sc (SEQ ID NO: 17 или 18);

b. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую GM–CSF (SEQ ID NO: 29);

c. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IFNα2b (SEQ ID NO: 22 или 23); и

d. РНК, предусматривающей РНК, кодирующую IL–15sushi (SEQ ID NO: 26),

где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина, и где каждая РНК содержит 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 143. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотами из SEQ ID NO: 9, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 144. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотами из SEQ ID NO: 14, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 145. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотами из SEQ ID NO: 27, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 146. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотами из SEQ ID NO: 19, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 147. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотами из SEQ ID NO: 24, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 148. Композиция на основе РНК IL–12sc, содержащая или состоящая из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 95% идентичностью с SEQ ID NO: 17 или 18, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 149. Композиция на основе РНК GM–CSF, содержащая или состоящая из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 95% идентичностью с SEQ ID NO: 29, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 150. Композиция на основе РНК IFNα2b, содержащая или состоящая из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 95% идентичностью с SEQ ID NO: 22 или 23, где каждый уридин заменен аналогом уридина, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 151. Композиция на основе РНК IL–15sushi, содержащая или состоящая из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 95% идентичностью с SEQ ID NO: 26, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 152. Композиция на основе РНК IL–2, содержащая или состоящая из нуклеотидов, характеризующихся по меньшей мере 95% идентичностью с SEQ ID NO: 12 или 13, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 153. Композиция на основе РНК IL–12sc, содержащая или состоящая из нуклеотидов из SEQ ID NO: 17 или 18, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 154. Композиция на основе РНК GM–CSF, содержащая или состоящая из нуклеотидов из SEQ ID NO: 29, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 155. Композиция на основе РНК IFNα2b, содержащая или состоящая из нуклеотидов из SEQ ID NO: 22 или 23, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 156. Композиция на основе РНК IL–15sushi, содержащая или состоящая из нуклеотидов из SEQ ID NO: 26, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5'–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3'–UTR (SEQ ID NO: 8), 5'–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 157. Композиция на основе РНК IL–2, содержащая или состоящая из нуклеотидов из SEQ ID NO: 12 или 13, где каждый уридин заменен модифицированным нуклеиновым основанием, и дополнительно содержащая 5’–UTR (SEQ ID NO: 2, 4 или 6), 3’–UTR (SEQ ID NO: 8), 5’–кэппирующую последовательность и поли–A–хвост.

Вариант осуществления 158. Композиция по любому из вариантов осуществления 143–157, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 159. Композиция, содержащая РНК, кодирующую IFNα2b, где РНК изменена, чтобы иметь пониженную иммуногенность по сравнению с неизмененной РНК.

Вариант осуществления 160. Композиция по варианту осуществления 159, где изменение предусматривает замену по меньшей мере одного уридина модифицированным нуклеиновым основанием.

Вариант осуществления 161. Композиция по варианту осуществления 159, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 162. Композиция по варианту осуществления 161, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

Вариант осуществления 163. Композиция по любому из вариантов осуществления 159–162, где изменение предусматривает уменьшение количества двухцепочечной РНК.

Вариант осуществления 164. Композиция по варианту осуществления 163, где уменьшение количества двухцепочечной РНК является результатом очистки с помощью HPLC или хроматографии с использованием целлюлозы.

Вариант осуществления 165. Композиция по любому из вариантов осуществления 159–164, где изменение уменьшает распознавание РНК врожденной иммунной системой по сравнению с неизмененной РНК.

Вариант осуществления 166. Композиция по любому из вариантов осуществления 159–165, где изменение предусматривает добавление 5’–кэппирующей последовательности к РНК.

Вариант осуществления 167. Композиция по варианту осуществления 166, где 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Вариант осуществления 168. Композиция по любому из вариантов осуществления 159–167, дополнительно содержащая вторую РНК, кодирующую представляющий интерес пептид или белок.

Вариант осуществления 169. Композиция по варианту осуществления 168, где представляющий интерес пептид или белок представляет собой пептид или белок, выбранный или полученный из цитокинов, хемокинов, продуктов гена «самоубийства», иммуногенных белков или пептидов, индукторов апоптоза, ингибиторов ангиогенеза, белков теплового шока, антигенов опухоли, ингибиторов β–катенина, активаторов STING–пути, активаторов пути ретиноевого индуцибельного гена (RIG)–I, агонистов путей Toll–подобного рецептора (TLR), модуляторов контрольных точек, активаторов врожденного иммунитета, антител, доминантно–негативных рецепторов и рецепторов–ловушек, ингибиторов миелоидных супрессорных клеток (MDSC), ингибиторов пути IDO и белков или пептидов, которые связывают ингибиторы апоптоза.

Вариант осуществления 170. Композиция по варианту осуществления 168 или 169, где вторая РНК изменена, чтобы иметь пониженную иммуногенность по сравнению с неизмененной РНК.

Вариант осуществления 171. Композиция по варианту осуществления 170, где изменение предусматривает замену по меньшей мере одного уридина модифицированным нуклеиновым основанием.

Вариант осуществления 172. Композиция по варианту осуществления 171, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

Вариант осуществления 173. Композиция по варианту осуществления 172, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

Вариант осуществления 174. Композиция по любому из вариантов осуществления 168–173, где изменение предусматривает уменьшение количества двухцепочечной РНК.

Вариант осуществления 175. Композиция по варианту осуществления 174, где уменьшение количества двухцепочечной РНК является результатом очистки с помощью HPLC или хроматографии с использованием целлюлозы.

Вариант осуществления 176. Композиция по любому из вариантов осуществления 168–173, где изменение предусматривает добавление 5’–кэппирующей последовательности к РНК.

Вариант осуществления 177. Композиция по варианту осуществления 176, где 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Вариант осуществления 178. Композиция по любому из вариантов осуществления 168–177, где вторая РНК содержит:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; или

d. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 179. Способ лечения или предупреждения рака, уменьшения размера опухоли, предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждения метастазирования рака у субъекта, включающий введение любой из композиций по вариантам осуществления 159–178.

Вариант осуществления 180. Композиция по любому из вариантов осуществления 159–178 для применения в способе лечения или предупреждения рака, уменьшения размера опухоли, предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждения метастазирования рака.

Вариант осуществления 181. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14.

Вариант осуществления 182. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27.

Вариант осуществления 183. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19.

Вариант осуществления 184. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24.

Вариант осуществления 185. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9.

Вариант осуществления 186. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–12sc, где РНК содержит нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18.

Вариант осуществления 187. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок GM–CSF, где РНК содержит нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29.

Вариант осуществления 188. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IFNα2b, где РНК содержит нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 189. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–15sushi, где РНК содержит нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 190. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–2, где РНК содержит нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 191. Композиция, содержащая любые две из следующих РНК:

a. РНК, кодирующей белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующей белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующей белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

d. РНК, кодирующей белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

e. РНК, кодирующей белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 192. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18; и

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29.

Вариант осуществления 193. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18; и

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 194. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18; и

b. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 195. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18; и

b. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 196. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29; и

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 197. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29; и

b. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 198. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29; и

b. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 199. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

b. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 200. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

b. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 201. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

b. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 202. Композиция, содержащая любые три из следующих:

a. РНК, кодирующей белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95%

идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующей белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующей белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

d. РНК, кодирующей белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

a. РНК, кодирующей белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 203. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29; и

c. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23.

Вариант осуществления 204. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29; и

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 205. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29; и

c. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 206. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 207. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

c. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 208. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

c. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 209. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 210. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

c. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95%

идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 211. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

b. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

c. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 212. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

b. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

c. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 213. Композиция, содержащая любые четыре из следующих:

a. РНК, кодирующей белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующей белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующей белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95%

идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

d. РНК, кодирующей белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

e. РНК, кодирующей белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащей нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 214. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

d. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26.

Вариант осуществления 215. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23; и

d. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 216. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

d. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 217. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

d. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 218. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

b. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

c. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

d. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 219. Композиция, содержащая:

a. РНК, кодирующую белок IL–12sc, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 17 или 18;

b. РНК, кодирующую белок GM–CSF, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 29;

c. РНК, кодирующую белок IFNα2b, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 22 или 23;

d. РНК, кодирующую белок IL–15sushi, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 26; и

e. РНК, кодирующую белок IL–2, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9, и/или содержащую нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 95% идентичностью с нуклеотидами из SEQ ID NO: 12 или 13.

Вариант осуществления 220. Фармацевтический состав, содержащий любую из композиций по вариантам осуществления 181–219.

Вариант осуществления 221. Фармацевтический состав, содержащий любую из композиций по вариантам осуществления 181–219 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Вариант осуществления 222. Композиция по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтический состав по варианту осуществления 220 или 221 для применения в способе лечения или предупреждения рака.

Вариант осуществления 223. Композиция по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтический состав по варианту осуществления 220 или 221 для применения в способе уменьшения размера опухоли.

Вариант осуществления 224. Композиция по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтический состав по варианту осуществления 220 или 221 для применения в способе предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии.

Вариант осуществления 225. Композиция по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтический состав по варианту осуществления 220 или 221 для применения в способе предупреждения метастазирования рака.

Вариант осуществления 226. Способ лечения или предупреждения рака, включающий введение композиции по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтического состава по варианту осуществления 220 или 221.

Вариант осуществления 227. Способ уменьшения размера опухоли, включающий введение композиции по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтического состава по варианту осуществления 220 или 221.

Вариант осуществления 228. Способ предупреждения рецидива рака в стадии ремиссии, включающий введение композиции по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтического состава по варианту осуществления 220 или 221.

Вариант осуществления 229. Способ предупреждения метастазирования рака, включающий введение композиции по любому из вариантов осуществления 181–219 или фармацевтического состава по варианту осуществления 220 или 221.

[0006] Дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения представляют собой нижеперечисленные.

Вариант осуществления A 1. Медицинский препарат, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, и РНК, кодирующую белок GM–CSF.

Вариант осуществления A 2. Медицинский препарат по варианту осуществления A 1, дополнительно содержащий РНК, кодирующую белок IL–15sushi.

Вариант осуществления A 3. Медицинский препарат по варианту осуществления A 1 или 2, дополнительно содержащий РНК, кодирующую белок IL–2.

Вариант осуществления A 4. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–3, дополнительно содержащий РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления A 5. Медицинский препарат по варианту осуществления A 4, где белок IFNα представляет собой белок IFNα2b.

Вариант осуществления A 6. Медицинский препарат по варианту осуществления A 2, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, и

РНК, кодирующую белок IL–15sushi.

Вариант осуществления А 7. Медицинский препарат по варианту осуществления А 3, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, и РНК, кодирующую белок IL–2.

Вариант осуществления А 8. Медицинский препарат по варианту осуществления А 4 или 5, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, и РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления А 9. Медицинский препарат по варианту осуществления А 4 или 5, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, РНК, кодирующую белок IL–15sushi, и РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления А 10. Медицинский препарат по варианту осуществления А 4 или 5, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, РНК, кодирующую белок IL–2, и РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления А 11. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–10, где (i) РНК, кодирующая белок IL–12sc, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 17 или 18 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 17 или 18, и/или (ii) белок IL–12sc содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14.

Вариант осуществления А 12. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–11, где (i) РНК, кодирующая белок GM–CSF, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 29 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 29, и/или (ii) белок GM–CSF содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 27 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27.

Вариант осуществления А 13. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 2–12, где (i) РНК, кодирующая белок IL–15sushi, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 26 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 26, и/или (ii) белок IL–15sushi содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24.

Вариант осуществления А 14. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 3–13, где (i) РНК, кодирующая белок IL–2, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 12 или 13 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 12 или 13, и/или (ii) белок IL–2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 9 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9.

Вариант осуществления А 15. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления 4–14, где (i) РНК, кодирующая белок IFNα, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 22 или 23 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 22 или 23, и/или (ii) белок IFNα содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 19 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19.

Вариант осуществления А 16. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–15, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина.

Вариант осуществления А 17. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–16, где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина.

Вариант осуществления А 18. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–17, где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина.

Вариант осуществления А 19. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 16–18, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин (m1ψ) или 5–метилуридин (m5U).

Вариант осуществления А 20. Медицинский препарат по варианту осуществления А 19, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин (m1ψ).

Вариант осуществления А 21. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–20, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления А 22. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–21, где каждая РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления А 23. Медицинский препарат по варианту осуществления А 21 или 22, где 5'–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-}$

^{O})ApG или 3′–O–Me–m^{7}G(5')ppp(5')G.

Вариант осуществления A 24. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–23, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–UTR.

Вариант осуществления A 25. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–24, где каждая РНК содержит 5'–UTR.

Вариант осуществления A 26. Медицинский препарат по варианту осуществления A 24 или 25, где 5'–UTR содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6.

Вариант осуществления A 27. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–26, где по меньшей мере одна РНК содержит 3'–UTR.

Вариант осуществления A 28. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–27, где каждая РНК содержит 3'–UTR.

Вариант осуществления A 29. Медицинский препарат по варианту осуществления A 27 или 28, где 3'–UTR содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления A 30. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–29, где по меньшей мере одна РНК содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления A 31. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–30, где каждая РНК содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления A 32. Медицинский препарат по варианту осуществления A 30 или 31, где поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления A 33. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–32, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления A 34. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления A 1–33, где каждая РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления A 35. Медицинский препарат по варианту осуществления A 33 или 34, где

a. 5'–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG или 3′–O–Me–m^{7}G(5')ppp(5')G;

b. 5'–UTR содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 2, 4 и 6;

c. 3'–UTR содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO:8; и

d. поли–А–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления А 36. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–35, где РНК представляет собой mRNA.

Вариант осуществления А 37. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–36, который содержит дополнительное терапевтическое средство.

Вариант осуществления А 38. Медицинский препарат по варианту осуществления А 37, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой противораковое терапевтическое средство.

Вариант осуществления А 39. Медицинский препарат по варианту осуществления А 37 или 38, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой модулятор контрольной точки.

Вариант осуществления А 40. Медицинский препарат по варианту осуществления А 39, где модулятором контрольной точки является антитело к PD1, антитело к CTLA–4 или комбинация антитела к PD1 и антитела к CTLA–4.

Вариант осуществления А 41. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–40, который представляет собой набор, содержащий по меньшей мере два контейнера, причем каждый контейнер содержит по меньшей мере одну из указанных РНК.

Вариант осуществления А 42. Медицинский препарат по варианту осуществления А 41, который содержит каждую РНК в отдельном контейнере.

Вариант осуществления А 43. Медицинский препарат по варианту осуществления А 41 или 42, где дополнительное терапевтическое средство находится в контейнере, не содержащем РНК.

Вариант осуществления А 44. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 41–43, дополнительно содержащий инструкции по применению медицинского препарата для лечения или предупреждения рака.

Вариант осуществления А 45. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–40, который представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую РНК.

Вариант осуществления А 46. Медицинский препарат по варианту осуществления А 45, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей и/или вспомогательных веществ.

Вариант осуществления А 47. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–46, где РНК присутствует в форме, выбранной из жидкой формы, твердой формы или их комбинации.

Вариант осуществления А 48. Медицинский препарат по варианту осуществления А 47, где твердая форма представляет собой замороженную форму или дегидратированную форму.

Вариант осуществления А 49. Медицинский препарат по варианту осуществления А 48, где дегидратированная форма представляет собой лиофилизированную или высушенную распылением форму.

Вариант осуществления А 50. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–49 для фармацевтического применения.

Вариант осуществления А 51. Медицинский препарат по варианту осуществления А 50, где фармацевтическое применение предусматривает терапевтическое или профилактическое лечение заболевания или нарушения.

Вариант осуществления А 52. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–51 для применения в способе лечения или предупреждения рака.

Вариант осуществления А 53. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 38–52, где рак представляет собой саркому, карциному или лимфому.

Вариант осуществления А 54. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 38–53, где рак представляет собой солидную опухоль.

Вариант осуществления А 55. Медицинский препарат по варианту осуществления А 54, где солидная опухоль находится в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

Вариант осуществления А 56. Медицинский препарат по варианту осуществления А 54 или 55, где солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, мелкоклеточную опухоль легкого, опухоль–нейробластому, опухоль яичка, опухоль–карциному, опухоль–аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому.

Вариант осуществления А 57. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–56, где РНК предназначена для внутриопухолевого или околоопухолевого введения.

Вариант осуществления А 58. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 37–57, где дополнительное терапевтическое средство предназначено для системного введения.

Вариант осуществления А 59. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 1–58, который предназначен для введения человеку.

Вариант осуществления А 60. Медицинский препарат по любому из вариантов осуществления А 44 и 47–59, где лечение или предупреждение рака предусматривает уменьшение размера опухоли, предупреждение рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждение метастазирования рака у субъекта.

[0007] Дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения представляют собой нижеперечисленные.

Вариант осуществления В 1. РНК для применения в способе лечения или предупреждение рака у субъекта, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, и РНК, кодирующей белок GM–CSF.

Вариант осуществления В 2. РНК по варианту осуществления В 1, где способ дополнительно включает введение РНК, кодирующей белок IL–15sushi.

Вариант осуществления В 3. РНК по варианту осуществления В 1 или 2, где способ дополнительно включает введение РНК, кодирующей белок IL–2.

Вариант осуществления В 4. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–3, где способ дополнительно включает введение РНК, кодирующей белок IFNα.

Вариант осуществления В 5. РНК по варианту осуществления В 4, где белок IFNα представляет собой белок IFNα2b.

Вариант осуществления В 6. РНК по варианту осуществления В 2, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок GM–CSF, и РНК, кодирующей белок IL–15sushi.

Вариант осуществления В 7. РНК по варианту осуществления В 3, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок GM–CSF, и РНК, кодирующей белок IL–2.

Вариант осуществления В 8. РНК по варианту осуществления В 4 или 5, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок GM–CSF, и РНК, кодирующей белок IFNα.

Вариант осуществления В 9. РНК по варианту осуществления В 4 или 5, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок GM–CSF, РНК, кодирующей белок IL–15sushi, и РНК, кодирующей белок IFNα.

Вариант осуществления В 10. РНК по варианту осуществления В 4 или 5, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок GM–CSF, РНК, кодирующей белок IL–2, и РНК, кодирующей белок IFNα.

Вариант осуществления В 11. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–10, где (i) РНК, кодирующая белок IL–12sc, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 17 или 18 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 17 или 18, и/или (ii) белок IL–12sc содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14.

Вариант осуществления B 12. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–11, где (i) РНК, кодирующая белок GM–CSF, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 29 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 29, и/или (ii) белок GM–CSF содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 27 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27.

Вариант осуществления B 13. РНК по любому из вариантов осуществления B 2–12, где (i) РНК, кодирующая белок IL–15sushi, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 26 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 26, и/или (ii) белок IL–15sushi содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24.

Вариант осуществления B 14. РНК по любому из вариантов осуществления B 3–13, где (i) РНК, кодирующая белок IL–2, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 12 или 13 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 12 или 13, и/или (ii) белок IL–2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 9 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9.

Вариант осуществления B 15. РНК по любому из вариантов осуществления B 4–14, где (i) РНК, кодирующая белок IFNα, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 22 или 23 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 22 или 23, и/или (ii) белок IFNα содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 19 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19.

Вариант осуществления B 16. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–15, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина.

Вариант осуществления B 17. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–16, где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина.

Вариант осуществления B 18. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–17, где каждая РНК содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо каждого уридина.

Вариант осуществления B 19. РНК по любому из вариантов осуществления B 16–18, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин (m1ψ) или 5–метилуридин (m5U).

Вариант осуществления B 20. РНК по варианту осуществления B 19, где модифицированное нуклеиновое основание представляет собой N1–метилпсевдоуридин (m1ψ).

Вариант осуществления B 21. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–20, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления B 22. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–21, где каждая РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность.

Вариант осуществления B 23. РНК по варианту осуществления B 21 или 22, где 5'–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Вариант осуществления B 24. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–23, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–UTR.

Вариант осуществления B 25. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–24, где каждая РНК содержит 5'–UTR.

Вариант осуществления B 26. РНК по варианту осуществления B 24 или 25, где 5'–UTR содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6.

Вариант осуществления B 27. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–26, где по меньшей мере одна РНК содержит 3'–UTR.

Вариант осуществления B 28. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–27, где каждая РНК содержит 3'–UTR.

Вариант осуществления B 29. РНК по варианту осуществления B 27 или 28, где 3'–UTR содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления B 30. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–29, где по меньшей мере одна РНК содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления B 31. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–30, где каждая РНК содержит поли–A–хвост.

Вариант осуществления B 32. РНК по варианту осуществления B 30 или 31, где поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления B 33. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–32, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3’–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления B 34. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–33, где каждая РНК содержит 5’–кэппирующую последовательность, 5’–UTR, 3’–UTR и поли–A–хвост.

Вариант осуществления B 35. РНК по варианту осуществления B 33 или 34, где

a. 5’–кэппирующая последовательность представляет собой $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$;

b. 5’–UTR содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6;

c. 3’–UTR содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO:8; и

d. поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Вариант осуществления B 36. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–35, где РНК представляет собой mRNA.

Вариант осуществления B 37. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–36, где способ дополнительно включает применение дополнительного вида терапии.

Вариант осуществления B 38. РНК по варианту осуществления B 37, где дополнительный вид терапии предусматривает один или несколько видов терапии, из группы, состоящей из: (i) хирургической операции по удалению, резекции или уменьшению массы опухоли, (ii) иммунотерапии, (iii) лучевой терапии и (iv) химиотерапии.

Вариант осуществления B 39. РНК по варианту осуществления B 37 или 38, где дополнительный вид терапии предусматривает введение дополнительного терапевтического средства.

Вариант осуществления B 40. РНК по варианту осуществления B 39, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой противораковое терапевтическое средство.

Вариант осуществления B 41. РНК по варианту осуществления B 39 или 40, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой модулятор контрольной точки.

Вариант осуществления B 42. РНК по варианту осуществления B 41, где модулятором контрольной точки является антитело к PD1, антитело к CTLA–4 или комбинация антитела к PD1 и антитела к CTLA–4.

Вариант осуществления B 43. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–42, где рак представляет собой саркому, карциному или лимфому.

Вариант осуществления B 44. РНК по любому из вариантов осуществления B 1–43, где рак представляет собой солидную опухоль.

Вариант осуществления В 45. РНК по варианту осуществления В 44, где солидная опухоль находится в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

Вариант осуществления В 46. РНК по варианту осуществления В 44 или 45, где солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, мелкоклеточную опухоль легкого, опухоль–нейробластому, опухоль яичка, опухоль–карциному, опухоль–аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому.

Вариант осуществления В 47. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–46, где РНК вводят внутрь опухоли или рядом с опухолью.

Вариант осуществления В 48. РНК по любому из вариантов осуществления В 39–47, где дополнительное терапевтическое средство вводится системно.

Вариант осуществления В 49. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–48, где субъектом является человек.

Вариант осуществления В 50. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–49, где РНК вводятся одновременно.

Вариант осуществления В 51. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–50, где РНК вводятся пnосредством введения композиции, содержащей комбинацию РНК.

Вариант осуществления В 52. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–49, где по меньшей мере две РНК вводятся в разное время.

Вариант осуществления В 53. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–49 и 52, где РНК вводятся путем введения по меньшей мере двух композиций, при этом каждая композиция содержит по меньшей мере одну из указанных РНК.

Вариант осуществления В 54. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–53, где лечение или предупреждение рака предусматривает уменьшение размера опухоли, предупреждение рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждение метастазирования рака у субъекта.

Вариант осуществления В 55. РНК по любому из вариантов осуществления В 1–54, которая представляет собой или содержит одну или несколько РНК, вводимых указанным способом.

Вариант осуществления В 56. РНК по варианту осуществления В 55, которая представляет собой или содержит одну или несколько выбранных из группы, состоящей из РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок GM–CSF, РНК, кодирующей белок IL–15sushi, РНК, кодирующей белок IL–2, и РНК, кодирующей белок IFNα.

Вариант осуществления B 57. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc.

Вариант осуществления B 58. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок GM–CSF.

Вариант осуществления B 59. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–15sushi.

Вариант осуществления B 60. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–2.

Вариант осуществления B 61. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления B 62. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc, и РНК, кодирующую белок GM–CSF.

Вариант осуществления B 63. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, и РНК, кодирующую белок IL–15sushi.

Вариант осуществления B 64. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, и РНК, кодирующую белок IL–2.

Вариант осуществления B 65. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, и РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления B 66. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, РНК, кодирующую белок IL–15sushi, и РНК, кодирующую белок IFNα.

Вариант осуществления B 67. РНК по варианту осуществления B 55 или 56, которая представляет собой или содержит РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок GM–CSF, РНК, кодирующую белок IL–2, и РНК, кодирующую белок IFNα.

ОПИСАНИЯ ФИГУР

[0008] На фиг. 1A–1G показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль B16F10, вводили внутрь опухоли mRNA на 8, 10, 12, 14 день и отслеживали рост отдельных опухолей до 41 дня. На фиг. 1A и фиг. 1D показаны результаты при применении mRNA IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModA). На фиг. 1B и фиг. 1E показаны mRNA IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModB). На фиг. 1C и фиг. 1F показаны результаты при применении mRNA люциферазы (ModA). На фиг. 1G показаны результаты при применении mRNA люциферазы (ModB). (N=10 мышей/группа для A–C и N=9 мышей/группа для D–G).

[0009] На фиг. 2A–2D показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль CT26, вводили внутрь опухоли mRNA на 19, 21, 24, 26, 28 и 31 день и отслеживали рост отдельных опухолей до 48 дня. На фиг. 2A показаны GM–CSF, IL–2, IL–

12sc (ModA). На фиг. 2B показаны GM–CSF, IL–2, IL–12sc (ModB). На фиг. 2C показана mRNA люциферазы (ModA) в качестве контроля. На фиг. 2D показан раствор Рингера в качестве контроля.

[0010] На фиг. 3A – 3C показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль CT26, вводили внутрь опухоли mRNA на 13, 15, 18, 20 и 22 день и отслеживали рост опухоли до 42 дня. На фиг. 3A показаны IL–2, GM–CSF, IL–12sc (ModB). На фиг. 3B показаны IL–15sushi, GM–CSF, IL–12sc (ModB). На фиг. 3C показана mRNA люциферазы (ModB) в качестве контроля.

[0011] На фиг. 4A – 4F показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль B16F10, вводили внутрь опухоли смеси mRNA цитокинов на 11, 13, 15, 17 день и отслеживали рост отдельных опухолей до 45 дня. На фиг. 4A показаны IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModA). Фиг. 4B является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 5A, показывающим IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModB). На фиг. 4C показаны IL–15sushi, IL–12sc и GM–CSF (ModA). Фиг. 4D является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 5B, показывающим IL–15sushi, IL–12sc и GM–CSF (ModB). На фиг. 4E показана контрольная mRNA люциферазы (ModA). Фиг. 4F является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 5D и 6D, показывающим контрольную mRNA люциферазы (ModB). (N=8 мышей/группа).

[0012] На фиг. 5A – 5D показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль B16F10, вводили внутрь опухоли смеси mRNA цитокинов на 11, 13, 15, 17 день и отслеживали рост отдельных опухолей до 45 дня. Фиг. 5A является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 4B, показывающим IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModB). Фиг. 5B является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 4D, показывающим IL–15sushi, IL–12sc и GM–CSF (ModB). Фиг. 5C является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 6C, показывающим IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB). Фиг. 5D является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 4F и 6D, показывающим mRNA люциферазы (ModB) в качестве контроля. (N=8 мышей/группа).

[0013] На фиг. 6A и 6B показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль CT26, вводили внутрь опухоли смеси mRNA цитокинов на 13, 15, 17, 19, 21, 23 день и наносили на график рост отдельных опухолей. Фиг. 6A является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 7A, показывающим GM–CSF, IL–2, IL–12sc, IFNα (ModB). Фиг. 6B является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 7C, показывающим mRNA люциферазы (ModB). N=8 мышей/группа.

[0014] На фиг. 6C и 6D показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль B16F10, вводили внутрь опухоли mRNA на 11, 13, 15, 17 день и наносили на график рост отдельных опухолей. Фиг. 6C является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 5C, показывающим GM–CSF, IL–2, IL–12sc, IFNα (ModB). Фиг. 6D является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 4F и 5D, показывающим mRNA люциферазы (ModB). N=8 мышей/группа.

[0015] На фиг. 6E и 6F показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль MC38, вводили внутрь опухоли смеси mRNA цитокинов на 11, 15, 19, 23 день и наносили на график рост отдельных опухолей. На фиг. 6E показаны GM–CSF, IL–2, IL–12sc, IFNα (ModB). На фиг. 6F показана mRNA люциферазы (ModB). N=5 мышей/группа.

[0016] На фиг. 7A – 7F показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль CT26, вводили внутрь опухоли смеси mRNA цитокинов на 13, 15, 17, 19, 21, 23 день и наносили на график рост отдельных опухолей. Фиг. 7A является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 6A, показывающим IL–2, IL–12sc, GM–CSF, IFNα (ModB). На фиг. 7B показаны IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα (ModB). Фиг. 7C является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 6B, показывающим контроль, представляющий собой mRNA люциферазы (ModB). В повторном исследовании с аналогичной схемой мышам, несущим опухоль CT26, внутрь опухоли вводили смеси mRNA цитокинов на 19, 21, 23, 26, 28 и 30 день и наносили на график рост отдельных опухолей. Фиг. 7D является дублирующим воспроизведением того же эксперимента, который описан на фиг. 9A, показывающим IL–2, IL–12sc, GM–CSF, IFNα (ModB). На фиг. 7E показаны IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα (ModB). Фиг. 7F является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 9F, показывающим контроль, представляющий собой mRNA люциферазы (ModB). N=8 мышей/группа для фигур A–C, и N=10–11 мышей/группа для фигур D–F.

[0017] На фиг. 8A – 8H показаны результаты экспериментов, в которых мышам, несущим опухоль CT26, вводили внутрь опухоли mRNA на 12, 15, 19 и 22 день и рост отдельных опухолей отслеживали и наносили на график до 35 дня. На фиг. 8A показаны IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα (ModB). На фиг. 8B показаны IL–15sushi, IL–12sc, IFNα (ModB). На фиг. 8C показаны IL–15sushi, GM–CSF, IFNα (ModB). На фиг. 8D показаны GM–CSF, IL–12sc, IFNα (ModB). На фиг. 8E показаны IL–15sushi, GM–CSF, IL–12sc (ModB). На фиг. 8F показан контроль, представляющий собой mRNA люциферазы (ModB). (N=10/группа). На фиг. 8G и 8H показана кинетика роста опухолей в исследовании, показанном на фиг. 8A–8F. На фиг. 8G показаны средние объемы опухолей до 33 дня для всех групп обработки. На фиг. 8H показано угнетение роста опухолей. T/C (опухоль/контроль на основе среднего объема опухоли) рассчитывали до 19 дня.

[0018] На фиг. 9A – 9F показаны эксперименты, в которых мышам, несущим опухоль CT26, вводили внутрь опухоли mRNA на 19, 21, 23, 26, 28 и 30 день и отслеживали рост опухоли до 50 дня. Фиг. 9A является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 7D, показывающим GM–CSF, IL–2, IL–12sc, IFNα

(ModB). На фиг. 9B показаны IL–2, IL–12sc, IFNα (ModB). На фиг. 9C показаны GM–CSF, IL–2, IFNα (ModB). На фиг. 9D показаны GM–CSF, IL–12sc, IFNα (ModB). На фиг. 9E показаны GM–CSF, IL–2, IL–12sc (ModB). Фиг. 9F является дублирующим воспроизведением в том же эксперименте, который описан на фиг. 7F, показывающим mRNA люциферазы (ModA) в качестве контроля. (N=11/группа для фиг. 9A–E; в группе mRNA люциферазы N=10 для фиг. 9F).

[0019] На фиг. 10A – 10B показана кинетика роста опухолей в исследовании, показанном на фигуре 9. На фиг. 10A показаны средние объемы опухолей до 36 дня для всех групп обработки. На фиг. 10B показано угнетение роста опухолей. T/C (опухоль/контроль на основе среднего объема опухоли) рассчитывали до 30 дня.

[0020] На фиг. 11 показана гистограмма данных из экспериментов, представленных на фиг. 9, показывающая смеси mRNA со значительным уменьшением объема опухоли, где показатель мышей в каждой из групп обработки со значительным уменьшением опухоли сравнивали с контрольной группой с люциферазой на основе Z–оценки объема опухоли и соотношения между изменением объема опухоли и средним значением контрольной группы.

[0021] На фиг. 12A – 12D показаны результаты экспериментов, в которых участвовали мыши, которые 1) не подвергались воздействию опухоли, или 2) ранее получили подкожно инъекцию 5×10^5 клеток B16F10 и отторгли исходную опухоль после внутриопухолевой обработки mRNA цитокинов. Обеим группам повторно вводили опухоли B16F10. На фиг. 12A показаны мыши–хозяева, не подвергшиеся воздействию опухоли. На фиг. 12B показаны мыши, которые ранее отторгли опухоли B16F10 после внутриопухолевой обработки mRNA цитокинов GM–CSF, IL–15sushi, IL–12sc, IFNα (ModB). Мышей отслеживали в течение 55 дней после инъекции B16F10 и наносили на график рост опухоли для каждой мыши. У всех девяти не подвергавшихся ранее воздействию мышей, которым трансплантировали клетки B16F10, развились опухоли (фиг. 12A), тогда как все восемь мышей без опухолей отторгли клетки B16F10 и не демонстрировали рост опухолей B16F10 (фиг. 12B). График на фиг. 12B не имеет видимой кривой данных, поскольку все наблюдения были нулевыми, т. е. перекрывали горизонтальную ось. На фиг. 12C показан пример локализованного витилиго в участке опухоли. На фиг. 12D показаны результаты экспериментов, в которых участвовали мыши, которые не подвергались воздействию опухоли (символ треугольника) или ранее получили подкожно инъекцию опухолевых клеток CT26 и отторгли исходную опухоль после внутриопухолевой обработки mRNA цитокинов (символ кружков). Обеим группам повторно вводили либо опухолевые клетки CT26 (CT26–WT), либо опухолевые клетки CT26–Δgp70, в которых эпитоп gp70 был нокаутирован. Мышей отслеживали в течение 21 дня после инъекции опухолевых клеток. У всех девяти, кроме одной, не подвергавшихся ранее воздействию мышей с трансплантированными клетками CT26–WT и у всех не подвергавшихся ранее воздействию мышей с трансплантированными клетками CT26–Δgp70 развились опухоли, в то время как у всех трех мышей без опухолей, отторгнувших опухолевые клетки CT26, не наблюдался рост опухолей CT26 и CT26–Δgp70 соответственно.

[0022] На фиг. 13A–13D показаны результаты экспериментов, в которых мышам имплантировали опухолевые клетки B16F10 на 0 день в правый (с инъекцией) и в левый бок (без инъекции) (фиг. 13A). Мыши получали серию из 4 внутриопухолевых инъекций mRNA цитокинов ModB (IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα) или контрольной mRNA ModB (люцифераза) в правую опухоль на 11, 15, 19 и 23 день. Средние объемы опухолей +/– SEM (n=12) показаны для опухолей с инъекцией (фиг. 13B) и контралатеральных опухолей без инъекции (фиг. 13C). Медиана выживаемости показана на фиг. 13D.

[0023] На фиг. 14A–14F показаны результаты экспериментов, в которых клеточные линии HEK293 человека (фиг. 14B) и меланомы (A101D (фиг. 14C), A2058 (фиг. 14D), A375 (фиг. 14E) и Hs294T (фиг. 14F)) трансфицировали смесью mRNA цитокинов человека (IL–12sc, GM–CSF, IL–15sushi и IFNα2b) в диапазоне доз mRNA. Собирали надосадочные жидкости через 24 часа после трансфекции и определяли концентрации белка с помощью цитокинспецифических ELISA. На фиг. 14A показана схема эксперимента.

[0024] На фиг. 15A–15B показаны схема (фиг. 15A) и результаты (фиг. 15B) исследования, в котором смесь mRNA цитокинов человека, кодирующих IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b, или mRNA отдельных цитокинов трансфицировали в клетки HEK293 и кондиционированную среду собирали через 24 часа, разбавляли и добавляли к PBMC человека. Уровень IFNγ измеряли в надосадочной жидкости культуры PBMC через 24 часа (среднее значение для N=6 доноров).

[0025] На фиг. 16A – 16E показаны результаты экспериментов, в которых мыши с иммунодефицитом, несущие ксенотрансплантаты опухоли A375 человека, получали однократную инъекцию смеси mRNA ModB, кодирующей цитокины человека (IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b; "смесь IL15sushi") или (IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b; "смесь IL2"). Лизаты опухолевых клеток получали через 2 часа, 4 часа, 8 часов, 24 часа, 48 часов и 72 часа после инъекции, и концентрацию каждого цитокина измеряли по отношению к общему белку в лизатах опухолей (n=3 мыши/момент времени, +/– SEM). На фиг. 16A показан IFNα2b, на фиг. 16B показан IL–2, на фиг. 16C показан IL–12sc, на фиг. 16D показан IL–15sushi и на фиг. 16E показан GM–CSF.

[0026] На фиг. 17A – 17C показаны результаты экспериментов, в которых mRNA выделяли из опухолей A375 через 2 часа, 4 часа, 8 часов, 24 часа, 48 часов и 72 часа после инъекции смеси mRNA цитокинов ModB (IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα2b) или (IL–2, IL–12sc, GM–CSF, IFNα2b). Экспрессию генов ответа интерферона–альфа отслеживали с помощью qPCR. На фиг. 17A показан ISG15 человека, на фиг. 17B показан ISG54 человека и на фиг. 17C показан MX1 человека.

[0027] На фиг. 18A – 18E показаны результаты экспериментов, в которых мышам имплантировали опухолевые клетки B16F10 и их обрабатывали смесями mRNA (FLT3L, IL–2, 41BBL и CD27L–CD40L) с IFNα или без него. Смеси mRNA без IFNα в стандартной (ModA, фиг. 18B) и модифицированной формах (ModB, фиг. 18C) сравнивали со смесями, которые включают IFNα в стандартной (ModA, фиг. 18D) и модифицированной формах (ModB, фиг. 18E). На фиг. 18А представлен отрицательный контроль, в котором была предоставлена среда Рингера без mRNA.

[0028] На фиг. 19А–19Е показаны результаты экспериментов, в которых мышам имплантировали опухоли на одном боку и делали IV инъекцию опухолевых клеток, экспрессирующих люциферазу, которые размещались в легком (фиг. 19А). Мыши в группе обработки получали внутриопухолевые инъекции смесей mRNA IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα только в опухоль на боку, тогда как опухоли в легком оставались без обработки. На фиг. 19В показаны иллюстративные измерения биолюминесценции в легких и изображения соответствующих легких, снятые в тот же день (20 день); опухолевые узлы визуально выглядят как черные метки; на фиг. 19С показан средний объем опухоли для опухолей на боку, определенный при измерении штангенциркулем; на фиг. 19D показан анализ общего потока в измерениях биолюминесценции на 20 день; на фиг. 19Е показана масса легких.

[0029] На фиг. 20A–20G показаны результаты экспериментов, предназначенных для оценки эффекта внутриопухолевой инъекции смесей mRNA в комбинации с системным введением антител на моделях опухолей с двумя боковыми участками. Мышам, которым имплантировали либо опухоль B16F10 в левый и правый бока, либо опухоли MC38 в левый и правый бока, вводили внутриопухолевые инъекции смеси mRNA IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (Mod B) в опухоль только на одном боку, в то время как опухоль на другом боку не обрабатывали. Мышам также вводили внутрибрюшинную (системную) инъекцию антитела к PD1. На фиг. 20 показана общая выживаемость на моделях опухолей B16F10 (фиг. 20A) и MC38 (фиг. 20B). На фиг. 20C–G показаны результаты эксперимента по оценке антитела к PD–1, в котором мышам имплантировали опухоли B16F10 на одном боку и делали IV инъекцию опухолевых клеток B16F10, экспрессирующих люциферазу, которые размещались в легком. Мышам вводили три внутриопухолевые инъекции смеси mRNA IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα, а также три внутрибрюшинные (системные) инъекции антитела к PD–1. Рост опухоли SC опухолей изображен на фиг. 20C–F. На фиг. 20C показаны контрольная mRNA и контрольное антитело; на фиг. 20D показана контрольная mRNA с антителом к PD1; на фиг. 20E показана смесь mRNA цитокинов с изотипическим контрольным антителом. На фиг. 20F показана mRNA цитокинов с антителом к PD–1. На фиг. 20G показан процент выживаемости во всех четырех группах обработки до 70 дня после IV инокуляции опухоли; группа обработки, получавшая mRNA с антителом к PD–1, показала самую сильную противоопухолевую активность, при этом у 6 из 15 мышей не было опухолей на 40 день после инокуляции опухоли.

[0030] На фиг. 21A – 21I показаны результаты дополнительных экспериментов, предназначенных для оценки эффекта внутриопухолевой инъекции смесей mRNA в комбинации с системным введением антител. Мышам, несущим опухоли CT26, вводили внутриопухолевые инъекции смеси mRNA IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα. Мышам также вводили внутрибрюшинную (системную) инъекцию антитела к CTLA–4. На фиг. 21A показано, что комбинированная терапия внутриопухолевыми инъецированными mRNA цитокинов и IP антителом к CTLA–4 приводила к самой сильной противоопухолевой активности, при этом у 12 из 16 мышей не было опухолей на 55 день после инокуляции опухоли. На фиг. 21B показана смесь mRNA цитокинов с изотипическим контрольным антителом; на фиг. 21C показана контрольная mRNA с антителом к CTLA–4; на фиг. 21D показаны контрольная mRNA и контрольное антитело. На фиг. 21E–21I показаны результаты экспериментов, предназначенных для оценки эффекта внутриопухолевой инъекции смесей mRNA в комбинации с антителом к CTLA–4 на модели опухоли B16F10. Мышам, несущим опухоли B16F10, вводили внутриопухолевые инъекции смеси mRNA IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα. Мышам также вводили внутрибрюшинную (системную) инъекцию антитела к CTLA–4. На фиг. 21E показано, что комбинированная терапия внутриопухолевыми инъецированными mRNA цитокинов и IP антителом к CTLA–4 приводила к самой сильной противоопухолевой активности, при этом у 6 из 9 мышей не было опухолей на 70 день после инокуляции опухоли. На фиг. 21F показана смесь mRNA цитокинов с изотипическим контрольным антителом; на фиг. 21G показана контрольная mRNA с антителом к CTLA–4; на фиг. 21H показаны контрольная mRNA и контрольное антитело. На фиг. 21I показан процент выживаемости во всех четырех группах обработки до 70 дня после инокуляции опухоли.

[0031] На фиг. 22A–22D показаны результаты экспериментов, предназначенных для оценки эффекта внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов (Mod B) в ксенотрансплантаты человеческих опухолей из различных видов рака человека. Показана внутриопухолевая экспрессия каждого из 4 кодируемых mRNA цитокинов: IL–12sc (фиг. 22A), IFNα2b (фиг. 22B), GM–CSF (фиг. 22C) и IL–15sushi (фиг. 22D).

[0032] На фиг. 23A – 23D показаны результаты экспериментов, предназначенных для оценки эффекта различных доз внутриопухолевой mRNA на экспрессию кодируемых цитокинов: IL–15sushi (фиг. 23A), IL–12sc (фиг. 23B), GM–CSF (фиг. 23C) и IFNα2b (фиг. 23D).

[0033] На фиг. 24A–24G показаны результаты экспериментов, в которых мышам имплантировали опухоль B16F10 и обрабатывали четырьмя внутриопухолевыми инъекциями смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα (ModB) или mRNA, кодирующей отдельный цитокин. Объем опухоли измеряли примерно до 70 дня. На фиг. 24A показан контроль с люциферазой; на фиг. 24B показана смесь четырех цитокинов; на фиг. 24C показана только mRNA IL–12sc; на фиг. 24D показана только mRNA GM–CSF; на фиг. 24E показана только mRNA IFNα и на фиг. 24F показан только IL–15sushi. На фиг. 24G показана общая выживаемость с опухолями B16F10, обработанными смесью mRNA цитокинов или отдельными mRNA, кодирующими цитокины. Данные выживаемости из эксперимента, представленного на фигурах 24A–F.

[0034] На фиг. 25 показан инфильтрат иммунных клеток CD8+ в подкожных опухолях после обработки контрольной mRNA ("плацебо") и mRNA цитокинов.

[0035] На фиг. 26A–26C показаны результаты измерений CD8+ T–клеток, специфичных к опухолевому антигену gp70, в крови мышей, несущих опухоль CT26, которые получили внутриопухолевое введение с помощью обработки mRNA цитокинов и контрольной mRNA соответственно. На фиг. 26C показана иллюстративная гистограмма FACS CD8+ T–клеток, окрашенных антителом к CD8 мыши и специфичным к gp70 тетрамером, полученным от животного, которое получило контрольную mRNA, а на фиг. 26B показан пример от одного животного, обработанного mRNA цитокинов. На фиг. 26C показан анализ процентного содержания gp70–специфичных CD8+ T–клеток в крови через 13 дней после начала обработки у 9 мышей, которые получали четыре инъекции контрольной mRNA, и 10 мышей, которые получили 4 инъекции mRNA цитокинов.

[0036] На фиг. 27A–27C показаны эксперименты, в которых мыши, несущие опухоли B16F10 на левом и правом боках, получали однократную внутриопухолевую инъекцию mRNA с mRNA цитокинов или контрольной mRNA только в одну опухоль. На 7 день после инъекции mRNA собирали левую и правую опухоли и подвергали РНК–секвенированию. На фиг. 27B показаны результаты анализа путей Ingenuity, сравнивающего изменения экспрессии генов между опухолями с обработкой mRNA цитокинов и опухолями, обработанными контрольной mRNA. Провели анализ причинно–следственной сети для стороны с обработанной опухолью (столбец 1) и стороны с необработанной опухолью (столбец 2), и проанализировали Z–оценку активации (верхняя половина) и Z–оценку подавления (нижняя половина), чтобы определить активируемые и угнетаемые пути соответственно. На фиг. 27 показан кластерный анализ опухолей с инъекцией и без инъекции, выполненный на основе 327 регулируемых гамма–интерфероном генов. Как с инъекцией, так и без инъекции опухоли мышей, обработанных mRNA цитокинов, показали активацию множества связанных с гамма–IFN генов по сравнению с мышами, обработанными контрольной mRNA.

[0037] На фиг. 28A–28D показаны микрофотографии флуоресценции клеток из модели с двойной опухолью B16F10. На панели A показана опухоль с инъекцией, обработанная mRNA цитокинов, а на панели B показана соответствующая опухоль без инъекции. На панели C показана опухоль с инъекцией, обработанная контрольной mRNA, а на панели D показана соответствующая опухоль без инъекции. Срезы окрашивали на клетки CD4+, CD8+ и FoxP3+.

[0038] На фиг. 28E–G показана частота встречаемости клеток CD4+, CD8+ и FOXP3+, количественно определенная на иммунофлуоресцентных изображениях. Частота встречаемости CD4+ и CD8+ клеток/мм^2 представлена на фиг. 28E и 28F. Соотношение частоты встречаемости CD8+, деленной на частоту встречаемости FOXP3+, представлено на фиг. 28G.

[0039] На фиг. 29A–29G показаны мыши с одиночной опухолью B16F10, которым вводили однократную инъекцию либо mRNA, кодирующей белок клеточной поверхности Thy1.1, либо только носителя (раствор Рингера). Примерно через 16–18 часов после внутриопухолевой инъекции опухоль удаляли, обрабатывали, окрашивали панелью антител и анализировали с помощью проточной цитометрии. Характеризовали тип клеток и частоту встречаемости клеток, экспрессирующих Thy1.1.

[0040] На фиг. 30A–30F показана экспрессия указанных белков после различных доз mRNA цитокинов или контрольной mRNA люциферазы, обнаруженная в лизатах опухолей, как описано в примере 15. "IFNy" на фиг. 30E обозначает IFNγ.

[0041] На фиг. 31A–31B показаны результаты проточной цитометрии для клеток CD8+ и FOXP3+ (Treg) после обработок контрольной mRNA или mRNA цитокинов, как описано в примере 15. Наблюдаемое соотношение клеток CD8+ к Treg показано на каждой панели.

[0042] На фиг. 31C–31D показаны результаты проточной цитометрии для полифункциональных CD8+ T–клеток после обработок контрольной mRNA или mRNA цитокинов, как описано в примере 15. Доля полифункциональных CD8+ T–клеток показана на каждой панели.

[0043] На фиг. 31E показан уровень PD–L1 на инфильтрирующих миелоидных клетках после обработок контрольной mRNA или mRNA цитокинов, как описано в примере 15.

[0044] На фиг. 31F показан уровень PD–1 на инфильтрирующих клетках CD8+ после обработок контрольной mRNA или mRNA цитокинов, как описано в примере 15.

[0045] На фиг. 31G–H показана частота встречаемости внутриопухолевых CD8+ T–клеток с гранзимом B после обработок контрольной mRNA или mRNA цитокинов, как описано в примере 15.

[0046] На фиг. 32A–32B показана экспрессия люциферазы в различных тканях после внутриопухолевой инъекции 50 мкг mRNA, кодирующей люциферазу светлячка, как описано в примере 16.

[0047] На фиг. 33 показаны данные, относящиеся к эксперименту по сути показанному на фигуре 12.

[0048] На фиг. 34 показано влияние истощения CD8+ T–клеток, CD4+ T–клеток или NK–клеток перед обработкой mRNA цитокинов на выживаемость у мышей, несущих опухоли B16F10, как описано в примере 17.

[0049] На фиг. 35 показана выживаемость мышей WT и IFNγ KO с имплантированными опухолевыми клетками B16F10, как описано в примере 1, и обработанных контрольной mRNA или mRNA цитокинов, как описано в примере 18.

ОПИСАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0050] В таблицах 1 и 2 представлен перечень определенных последовательностей, упоминаемых в данном документе.

ТАБЛИЦА 1. ОПИСАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ (человеческие последовательности)		
SEQ ID NO:	Описание	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
5'–UTR		

1	5'–UTR ModA (ДНК)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACC
2	5'–UTR ModA (РНК)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC
3	5'–UTR ModB (ДНК)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAACAAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTATTGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGCAATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAGCC
4	5'–UTR ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAACAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUCUAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCAAAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGAACGAUAGCC
5	Альтернативная модификация 5'–UTR (ДНК)	AGACGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACC
6	Альтернативная модификация 5'–UTR (РНК)	AGACGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC
3'–UTR		
7	3'–UTR ModA/B (ДНК)	CTCGAGCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCGAGACCTGGTCCAGAGTCGCTAGCCGCGTCGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

8	3’–UTR ModA/B (РНК)	CUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
IL–2		
9	IL–2 человека (аминокислоты)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
10	Неоптимизированный IL–2 человека (ДНК, CDS)	ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTTGATGA
11	Оптимизированный IL–2 человека	ATGTACAGAATGCAGCTGCTGTCTTGCATTGCTCTTTCTCTTGCTCTTGTGACAAATTCTGCTCCAACATCTT

	(ДНК, CDS)	CTTCAACAAAGAAAACACAGCTTCAGCTTGAACAC CTTCTTCTTGATCTTCAGATGATTCTGAATGGAATC AACAATTACAAAAATCCAAAACTGACAAGAATGCT GACATTTAAATTTTACATGCCAAAGAAAGCAACAG AACTGAAACACCTTCAGTGCCTTGAAGAAGAACTG AAACCTCTGGAAGAAGTGCTGAATCTGGCTCAGAG CAAAAATTTTCACCTGAGACCAAGAGATCTGATCA GCAACATCAATGTGATTGTGCTGGAACTGAAAGGA TCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAA ACAGCAACAATTGTGGAATTTCTGAACAGATGGAT CACATTTTGCCAGTCAATCATTTCAACACTGACATG ATGA
12	Неоптимизированный IL–2 человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGUACAGGAUGCAACUCCUGUCUUGCAUUGCAC UAAGUCUUGCACUUGUCACAAACAGUGCACCUAC UUCAAGUUCUACAAAGAAAACACAGCUACAACUG GAGCAUUUACUGCUGGAUUUACAGAUGAUUUUGA AUGGAAUUAAUAAUUACAAGAAUCCCAAACUCAC CAGGAUGCUCACAUUUAAGUUUUACAUGCCCAAG AAGGCCACAGAACUGAAACAUCUUCAGUGUCUAG AAGAAGAACUCAAACCUCUGGAGGAAGUGCUAAA UUUAGCUCAAAGCAAAAACUUUCACUUAAGACCC AGGGACUUAAUCAGCAAUAUCAACGUAAUAGUUC UGGAACUAAAGGGAUCUGAAACAACAUUCAUGUG UGAAUAUGCUGAUGAGACAGCAACCAUUGUAGAA UUUCUGAACAGAUGGAUUACCUUUUGUCAAAGCA UCAUCUCAACACUGACUUGAUGA
13	Оптимизированный IL–2 человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGUACAGAAUGCAGCUGCUGUCUUGCAUUGCUC UUUCUCUUGCUCUUGUGACAAAUUCUGCUCCAAC AUCUUCUUCAACAAAGAAAACACAGCUUCAGCUU GAACACCUUCUUCUUGAUCUUCAGAUGAUUCUGA AUGGAAUCAACAAUUACAAAAAUCCAAAACUGAC AAGAAUGCUGACAUUUAAAUUUUACAUGCCAAAG AAAGCAACAGAACUGAAACACCUUCAGUGCCUUG AAGAAGAACUGAAACCUCUGGAAGAAGUGCUGAA UCUGGCUCAGAGCAAAAAUUUUCACCUGAGACCA

		AGAGAUCUGAUCAGCAACAUCAAUGUGAUUGUGC UGGAACUGAAAGGAUCUGAAACAACAUUCAUGUG UGAAUAUGCUGAUGAAACAGCAACAAUUGUGGAA UUUCUGAACAGAUGGAUCACAUUUUGCCAGUCAA UCAUUUCAACACUGACAUGAUGA
IL–12sc		
14	IL–12sc человека (аминокислоты)	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELD WYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSG KTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKED GIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGD NKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLK YENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWE YPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSGSS GGGGSPGGGSSRNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAV SNMLQKARQTLEFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACL PLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCL SSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNML AVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
15	Неоптимизированный IL–12sc человека (ДНК, CDS) *Примечание к последовательности* CAPS: домен p40; CAPS: линкер; CAPS: p35.	ATGTGTCACCAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCC CTGGTTTTTCTGGCATCTCCCCTCGTGGCCATATGG GAACTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGA TTGGTATCCGGATGCCCCTGGAGAAATGGTGGTCCT CACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCT GGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCT GGCAAAACCCTGACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGG AGATGCTGGCCAGTACACCTGTCACAAAGGAGGCG AGGTTCTAAGCCATTCGCTCCTGCTGCTTCACAAAA AGGAAGATGGAATTTGGTCCACTGATATTTTAAAG GACCAGAAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAG ATGCGAGGCCAAGAATTATTCTGGACGTTTCACCTG CTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATTTGACATT CAGTGTCAAAAGCAGCAGAGGGTCTTCTGACCCCC

		AAGGGGTGACGTGCGGAGCTGCTACACTCTCTGCA GAGAGAGTCAGAGGGGACAACAAGGAGTATGAGT ACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCCA GCTGCTGAGGAGAGTCTGCCCATTGAGGTCATGGT GGATGCCGTTCACAAGCTCAAGTATGAAAACTACA CCAGCAGCTTCTTCATCAGGGACATCATCAAACCTG ACCCACCCAAGAACTTGCAGCTGAAGCCATTAAAG AATTCTCGGCAGGTGGAGGTCAGCTGGGAGTACCC TGACACCTGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCT GACATTCTGCGTTCAGGTCCAGGGCAAGAGCAAGA GAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTCACGGACAAGACC TCAGCCACGGTCATCTGCCGCAAAAATGCCAGCAT TAGCGTGCGGGCCCAGGACCGCTACTATAGCTCAT CTTGGAGCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGTGGCT CTAGCGGAGGGGGAGGCTCTCCTGGCGGGGGATCT AGCAGAAACCTCCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGG AATGTTCCCATGCCTTCACCACTCCCAAAACCTGCT GAGGGCCGTCAGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGAC AAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACTTCTGAGGAAA TTGATCATGAAGATATCACAAAAGATAAAACCAGC ACAGTGGAGGCCTGTTTACCATTGGAATTAACCAA GAATGAGAGTTGCCTAAATTCCAGAGAGACCTCTTT CATAACTAATGGGAGTTGCCTGGCCTCCAGAAAGA CCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTTA TGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGA CCATGAATGCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGG CAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTATT GATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGA GACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTTGAAGAACCGG ATTTTTATAAAACTAAAATCAAGCTCTGCATACTTC TTCATGCTTTCAGAATTCGGGCAGTGACTATTGATA GAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCTGATGA
16	Оптимизированный IL–12sc человека (ДНК, CDS)	ATGTGTCACCAGCAGCTGGTGATCTCATGGTTCTCC CTGGTATTTCTGGCATCTCCTCTTGTCGCAATCTGG GAACTGAAGAAAGACGTGTATGTCGTTGAGCTCGA

	Примечание к последовательности CAPS: домен p40; CAPS: линкер; CAPS: p35.	CTGGTATCCGGATGCGCCTGGCGAGATGGTGGTGC TGACCTGTGACACCCCAGAGGAGGATGGGATCACT TGGACCCTTGATCAATCCTCCGAAGTGCTCGGGTCT GGCAAGACTCTGACCATACAAGTGAAAGAGTTTGG CGATGCCGGGCAGTACACTTGCCATAAGGGCGGAG AAGTTCTGTCCCACTCACTGCTGCTGCACAAGA AAGAGGACGGAATTTGGAGTACCGATATCCTGAAA GATCAGAAAGAGCCCAAGAACAAAACCTTCTTGCG GTGCGAAGCCAAGAACTACTCAGGGAGATTTACTT GTTGGTGGCTGACGACGATCAGCACCGATCTGACTT TCTCCGTGAAATCAAGTAGGGGATCATCTGACCCTC AAGGAGTCACATGTGGAGCGGCTACTCTGAGCGCT GAACGCGTAAGAGGGGACAATAAGGAGTACGAGT ATAGCGTTGAGTGCCAAGAGGATAGCGCATGCCCC GCCGCCGAAGAATCATTGCCCATTGAAGTGATGGT GGATGCTGTACACAAGCTGAAGTATGAGAACTACA CAAGCTCCTTCTTCATCCGTGACATCATCAAACCAG ATCCTCCTAAGAACCTCCAGCTTAAACCTCTGAAGA ACTCTAGACAGGTGGAAGTGTCTTGGGAGTATCCC GACACCTGGTCTACACCACATTCCTACTTCAGTCTC ACATTCTGCGTTCAGGTACAGGGCAAGTCCAAAAG GGAGAAGAAGGATCGGGTCTTTACAGATAAAACAA GTGCCACCGTTATATGCCGGAAGAATGCCTCTATTT CTGTGCGTGCGCAGGACAGATACTATAGCAGCTCTT GGAGTGAATGGGCCAGTGTCCCATGTTCAGGGTCA TCCGGTGGTGGCGGCAGCCCCGGAGGCGGTAGCTC CAGAAATCTCCCTGTGGCTACACCTGATCCAGGCAT GTTTCCCTGTTTGCACCATAGCCAAAACCTCCTGAG AGCAGTCAGCAACATGCTCCAGAAAGCTAGACAAA CACTGGAATTCTACCCATGCACCTCCGAGGAAATA GATCACGAGGATATCACTAAGGACAAAACAAGCAC TGTCGAAGCATGCCTTCCCTTGGAACTGACAAAGA ACGAGAGTTGCCTTAATTCAAGAGAAACATCTTTCA TTACAAACGGTAGCTGCTTGGCAAGCAGAAAAACA TCTTTTATGATGGCCCTTTGTCTGAGCAGTATTTATG

		AGGATCTCAAAATGTACCAGGTGGAGTTTAAGACC ATGAATGCCAAGCTGCTGATGGACCCAAAGAGACA GATTTTCCTCGATCAGAATATGCTGGCTGTGATTGA TGAACTGATGCAGGCCTTGAATTTCAACAGCGAAA CCGTTCCCCAGAAAAGCAGTCTTGAAGAACCTGAC TTTTATAAGACCAAGATCAAACTGTGTATTCTCCTG CATGCCTTTAGAATCAGAGCAGTCACTATAGATAG AGTGATGTCCTACCTGAATGCTTCCTGATGA
17	Неоптимизированный IL–12sc человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGUGUCACCAGCAGUUGGUCAUCUCUUGGUUUU CCCUGGUUUUUCUGGCAUCUCCCCUCGUGGCCAU AUGGGAACUGAAGAAAGAUGUUUAUGUCGUAGAA UUGGAUUGGUAUCCGGAUGCCCCUGGAGAAAUGG UGGUCCUCACCUGUGACACCCCUGAAGAAGAUGG UAUCACCUGGACCUUGGACCAGAGCAGUGAGGUC UUAGGCUCUGGCAAAACCCUGACCAUCCAAGUCA AAGAGUUUGGAGAUGCUGGCCAGUACACCUGUCA CAAAGGAGGCGAGGUUCUAAGCCAUUCGCUCCUG CUGCUUCACAAAAAGGAAGAUGGAAUUUGGUCCA CUGAUAUUUAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAA UAAGACCUUUCUAAGAUGCGAGGCCAAGAAUUAU UCUGGACGUUUCACCUGCUGGUGGCUGACGACAA UCAGUACUGAUUUGACAUUCAGUGUCAAAAGCAG CAGAGGGUCUUCUGACCCCCAAGGGGUGACGUGC GGAGCUGCUACACUCUCUGCAGAGAGAGUCAGAG GGGACAACAAGGAGUAUGAGUACUCAGUGGAGUG CCAGGAGGACAGUGCCUGCCCAGCUGCUGAGGAG AGUCUGCCCAUUGAGGUCAUGGUGGAUGCCGUUC ACAAGCUCAAGUAUGAAAACUACACCAGCAGCUU CUUCAUCAGGGACAUCAUCAAACCUGACCCACCCA AGAACUUGCAGCUGAAGCCAUUAAAGAAUUCUCG GCAGGUGGAGGUCAGCUGGGAGUACCCUGACACC UGGAGUACUCCACAUUCCUACUUCUCCCUGACAU UCUGCGUUCAGGUCCAGGGCAAGAGCAAGAGAGA AAAGAAAGAUAGAGUCUUCACGGACAAGACCUCA GCCACGGUCAUCUGCCGCAAAAAUGCCAGCAUUA

		GCGUGCGGGCCCAGGACCGCUACUAUAGCUCAUC UUGGAGCGAAUGGGCAUCUGUGCCCUGCAGUGGC UCUAGCGGAGGGGGAGGCUCUCCUGGCGGGGGAU CUAGCAGAAACCUCCCCGUGGCCACUCCAGACCCA GGAAUGUUCCCAUGCCUUCACCACUCCCAAAACCU GCUGAGGGCCGUCAGCAACAUGCUCCAGAAGGCC AGACAAACUCUAGAAUUUACCCUUGCACUUCUG AGGAAAUUGAUCAUGAAGAUAUCACAAAAGAUAA AACCAGCACAGUGGAGGCCUGUUUACCAUUGGAA UUAACCAAGAAUGAGAGUUGCCUAAAUUCCAGAG AGACCUCUUUCAUAACUAAUGGGAGUUGCCUGGC CUCCAGAAAGACCUCUUUUAUGAUGGCCCUGUGC CUUAGUAGUAUUUAUGAAGACUUGAAGAUGUACC AGGUGGAGUUCAAGACCAUGAAUGCAAAGCUUCU GAUGGAUCCUAAGAGGCAGAUCUUUCUAGAUCAA AACAUGCUGGCAGUUAUUGAUGAGCUGAUGCAGG CCCUGAAUUUCAACAGUGAGACUGUGCCACAAAA AUCCUCCCUUGAAGAACCGGAUUUUUAUAAAACU AAAAUCAAGCUCUGCAUACUUCUUCAUGCUUUCA GAAUUCGGGCAGUGACUAUUGAUAGAGUGAUGAG CUAUCUGAAUGCUUCCUGAUGA
18	Оптимизированный IL–12sc человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGUGUCACCAGCAGCUGGUGAUCUCAUGGUUCU CCCUGGUAUUUCUGGCAUCUCCUCUUGUCGCAAU CUGGGAACUGAAGAAAGACGUGUAUGUCGUUGAG CUCGACUGGUAUCCGGAUGCGCCUGGCGAGAUGG UGGUGCUGACCUGUGACACCCCAGAGGAGGAUGG GAUCACUUGGACCCUUGAUCAAUCCUCCGAAGUG CUCGGGUCUGGCAAGACUCUGACCAUACAAGUGA AAGAGUUUGGCGAUGCCGGGCAGUACACUUGCCA UAAGGGCGGAGAAGUUCUGUCCCACUCACUGCUG CUGCUGCACAAGAAAGAGGACGGAAUUUGGAGUA CCGAUAUCCUGAAAGAUCAGAAAGAGCCCAAGAA CAAAACCUUCUUGCGGUGCGAAGCCAAGAACUAC UCAGGGAGAUUUACUUGUUGGUGGCUGACGACGA UCAGCACCGAUCUGACUUUCUCCGUGAAAUCAAG

		UAGGGGAUCAUCUGACCCUCAAGGAGUCACAUGU GGAGCGGCUACUCUGAGCGCUGAACGCGUAAGAG GGGACAAUAAGGAGUACGAGUAUAGCGUUGAGUG CCAAGAGGAUAGCGCAUGCCCCGCCGCCGAAGAA UCAUUGCCCAUUGAAGUGAUGGUGGAUGCUGUAC ACAAGCUGAAGUAUGAGAACUACACAAGCUCCUU CUUCAUCCGUGACAUCAUCAAACCAGAUCCUCCU AAGAACCUCCAGCUUAAACCUCUGAAGAACUCUA GACAGGUGGAAGUGUCUUGGGAGUAUCCCGACAC CUGGUCUACACCACAUUCCUACUUCAGUCUCACA UUCUGCGUUCAGGUACAGGGCAAGUCCAAAAGGG AGAAGAAGGAUCGGGUCUUUACAGAUAAAACAAG UGCCACCGUUAUAUGCCGGAAGAAUGCCUCUAUU UCUGUGCGUGCGCAGGACAGAUACUAUAGCAGCU CUUGGAGUGAAUGGGCCAGUGUCCCAUGUUCAGG GUCAUCCGGUGGUGGCGGCAGCCCCGGAGGCGGU AGCUCCAGAAAUCUCCCUGUGGCUACACCUGAUC CAGGCAUGUUUCCCUGUUUGCACCAUAGCCAAAA CCUCCUGAGAGCAGUCAGCAACAUGCUCCAGAAA GCUAGACAAACACUGGAAUUCUACCCAUGCACCU CCGAGGAAAUAGAUCACGAGGAUAUCACUAAGGA CAAAACAAGCACUGUCGAAGCAUGCCUUCCCUUG GAACUGACAAAGAACGAGAGUUGCCUUAAUUCAA GAGAAACAUCUUUCAUUACAAACGGUAGCUGCUU GGCAAGCAGAAAAACAUCUUUUAUGAUGGCCCUU UGUCUGAGCAGUAUUUAUGAGGAUCUCAAAAUGU ACCAGGUGGAGUUUAAGACCAUGAAUGCCAAGCU GCUGAUGGACCCAAAGAGACAGAUUUUCCUCGAU CAGAAUAUGCUGGCUGUGAUUGAUGAACUGAUGC AGGCCUUGAAUUUCAACAGCGAAACCGUUCCCCA GAAAAGCAGUCUUGAAGAACCUGACUUUUAUAAG ACCAAGAUCAAACUGUGUAUUCUCCUGCAUGCCU UUAGAAUCAGAGCAGUCACUAUAGAUAGAGUGAU GUCCUACCUGAAUGCUUCCUGAUGA
IFN–альфа 2b (IFNα2b)		

19	IFNα2b человека (аминокислоты)	MALTFALLVALLVLSCKSSCSVGCDLPQTHSLGSRRT LMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELY QQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRI TLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRS KE
20	Неоптимизированный IFNα2b человека (ДНК, CDS)	ATGGCCTTGACCTTTGCTTTACTGGTGGCCCTCCTG GTGCTCAGCTGCAAGTCAAGCTGCTCTGTGGGCTGT GATCTGCCTCAAACCCACAGCCTGGGTAGCAGGAG GACCTTGATGCTCCTGGCACAGATGAGGAGAATCT CTCTTTTCTCCTGCTTGAAGGACAGACATGACTTTG GATTTCCCCAGGAGGAGTTTGGCAACCAGTTCCAA AAGGCTGAAACCATCCCTGTCCTCCATGAGATGATC CAGCAGATCTTCAACCTTTTCAGCACAAAGGACTCA TCTGCTGCTTGGGATGAGACCCTCCTAGACAAATTC TACACTGAACTCTACCAGCAGCTGAATGACCTGGA AGCCTGTGTGATACAGGGGGTGGGGGTGACAGAGA CTCCCCTGATGAAGGAGGACTCCATTCTGGCTGTGA GGAAATACTTCCAAAGAATCACTCTCTATCTGAAA GAGAAGAAATACAGCCCTTGTGCCTGGGAGGTTGT CAGAGCAGAAATCATGAGATCTTTTTCTTTGTCAAC AAACTTGCAAGAAAGTTTAAGAAGTAAGGAATGAT GA
21	Оптимизированный IFNα2b человека (ДНК, CDS)	ATGGCCCTGACTTTTGCCCTTCTCGTGGCTTTGTTGG TGCTGAGTTGCAAATCTTCCTGTAGTGTCGGATGTG ATCTGCCTCAAACCCACAGTCTGGGATCTAGGAGA ACACTGATGCTGTTGGCACAGATGAGGAGAATTAG CCTCTTTTCCTGCCTGAAGGATAGACATGACTTCGG CTTTCCCCAAGAGGAGTTTGGCAATCAGTTCCAGAA AGCGGAAACGATTCCCGTTCTGCACGAGATGATCC AGCAGATCTTCAACCTCTTTTCAACCAAAGACAGCT CAGCAGCCTGGGATGAGACACTGCTGGACAAATTC TACACAGAACTGTATCAGCAGCTTAACGATCTGGA GGCATGCGTGATCCAAGGGGTTGGTGTGACTGAAA CTCCGCTTATGAAGGAGGACTCCATTCTGGCTGTAC

		GGAAGTACTTCCAGAGAATAACCCTCTATCTGAAG GAGAAGAAGTACTCACCATGTGCTTGGGAAGTCGT GAGAGCCGAAATCATGAGATCCTTCAGCCTTAGCA CCAATCTCCAGGAATCTCTGAGAAGCAAAGAGTGA TGA
22	Неоптимизированный IFNα2b человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGGCCUUGACCUUUGCUUUACUGGUGGCCCUCC UGGUGCUCAGCUGCAAGUCAAGCUGCUCUGUGGG CUGUGAUCUGCCUCAAACCCACAGCCUGGGUAGC AGGAGGACCUUGAUGCUCCUGGCACAGAUGAGGA GAAUCUCUCUUUUCUCCUGCUUGAAGGACAGACA UGACUUUGGAUUUCCCCAGGAGGAGUUUGGCAAC CAGUUCCAAAAGGCUGAAACCAUCCCUGUCCUCC AUGAGAUGAUCCAGCAGAUCUUCAACCUUUUCAG CACAAAGGACUCAUCUGCUGCUUGGGAUGAGACC CUCCUAGACAAAUUCUACACUGAACUCUACCAGC AGCUGAAUGACCUGGAAGCCUGUGUGAUACAGGG GGUGGGGGUGACAGAGACUCCCCUGAUGAAGGAG GACUCCAUUCUGGCUGUGAGGAAAUACUUCCAAA GAAUCACUCUCUAUCUGAAAGAGAAGAAAUACAG CCCUUGUGCCUGGGAGGUUGUCAGAGCAGAAAUC AUGAGAUCUUUUUCUUUGUCAACAAACUUGCAAG AAAGUUUAAGAAGUAAGGAAUGAUGA
23	Оптимизированный IFNα2b человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGGCCCUGACUUUUGCCCUUCUCGUGGCUUUGU UGGUGCUGAGUUGCAAAUCUUCCUGUAGUGUCGG AUGUGAUCUGCCUCAAACCCACAGUCUGGGAUCU AGGAGAACACUGAUGCUGUUGGCACAGAUGAGGA GAAUUAGCCUCUUUUCCUGCCUGAAGGAUAGACA UGACUUCGGCUUUCCCCAAGAGGAGUUUGGCAAU CAGUUCCAGAAAGCGGAAACGAUUCCCGUUCUGC ACGAGAUGAUCCAGCAGAUCUUCAACCUCUUUUC AACCAAAGACAGCUCAGCAGCCUGGGAUGAGACA CUGCUGGACAAAUUCUACACAGAACUGUAUCAGC AGCUUAACGAUCUGGAGGCAUGCGUGAUCCAAGG GGUUGGUGUGACUGAAACUCCGCUUAUGAAGGAG GACUCCAUUCUGGCUGUACGGAAGUACUUCCAGA

		GAAUAACCCUCUAUCUGAAGGAGAAGAAGUACUC ACCAUGUGCUUGGGAAGUCGUGAGAGCCGAAAUC AUGAGAUCCUUCAGCCUUAGCACCAAUCUCCAGG AAUCUCUGAGAAGCAAAGAGUGAUGA
IL–15sushi		
24	IL–15sushi человека (аминокислоты)	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMS VEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC VLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPGGGS GGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHI DATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASI HDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIK EFLQSFVHIVQMFINTS
25	IL–15sushi человека (ДНК, CDS) Примечания к последовательности CAPS: IL–15sushi; CAPS: линкер; CAPS: зрелый IL–15	ATGGCCCCGCGGCGGGCGCGCGGCTGCCGGACCCT CGGTCTCCCGGCGCTGCTACTGCTGCTGCTGCTCCG GCCGCCGGCGACGCGGGGCATCACGTGCCCTCCCC CCATGTCCGTGGAACACGCAGACATCTGGGTCAAG AGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGT AACTCTGGTTTCAAGCGTAAAGCCGGCACGTCCAG CCTGACGGAGTGCGTGTTGAACAAGGCCACGAATG TCGCCCACTGGACAACCCCCAGTCTCAAATGCATTA GAGACCCTGCCCTGGTTCACCAAAGGCCAGCGCCA CCCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGTGGGTCTGGCGG GGGATCTGGCGGAGGAGGAAGCTTACAGAACTGGG TGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAAATTGAAGAT CTTATTCAATCTATGCATATTGATGCTACTTTATATA CGGAAAGTGATGTTCACCCCAGTTGCAAAGTAACA GCAATGAAGTGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATT TCACTTGAGTCCGGAGATGCAAGTATTCATGATACA GTAGAAAATCTGATCATCCTAGCAAACAACAGTTT GTCTTCTAATGGGAATGTAACAGAATCTGGATGCA AAGAATGTGAGGAACTGGAGGAAAAAAATATTAA AGAATTTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCCAAAT GTTCATCAACACTTCTTGATGA
26	IL–15sushi человека (РНК, кодирующая	AUGGCCCCGCGGCGGGCGCGCGGCUGCCGGACCCU CGGUCUCCCGGCGCUGCUACUGCUGCUGCUGCUCC

	CDS)	GGCCGCCGGCGACGCGGGGCAUCACGUGCCCUCCC CCCAUGUCCGUGGAACACGCAGACAUCUGGGUCA AGAGCUACAGCUUGUACUCCAGGGAGCGGUACAU UUGUAACUCUGGUUUCAAGCGUAAAGCCGGCACG UCCAGCCUGACGGAGUGCGUGUUGAACAAGGCCA CGAAUGUCGCCCACUGGACAACCCCCAGUCUCAAA UGCAUUAGAGACCCUGCCCUGGUUCACCAAAGGC CAGCGCCACCCGGGGGAGGAUCUGGCGGCGGUGG GUCUGGCGGGGGAUCUGGCGGAGGAGGAAGCUUA CAGAACUGGGUGAAUGUAAUAAGUGAUUUGAAAA AAAUUGAAGAUCUUAUUCAAUCUAUGCAUAUUGA UGCUACUUUAUAUACGGAAAGUGAUGUUCACCCC AGUUGCAAAGUAACAGCAAUGAAGUGCUUUCUCU UGGAGUUACAAGUUAUUUCACUUGAGUCCGGAGA UGCAAGUAUUCAUGAUACAGUAGAAAAUCUGAUC AUCCUAGCAAACAACAGUUUGUCUUCUAAUGGGA AUGUAACAGAAUCUGGAUGCAAAGAAUGUGAGGA ACUGGAGGAAAAAAUAUUAAAGAAUUUUUGCAG AGUUUUGUACAUAUUGUCCAAAUGUUCAUCAACA CUUCUUGAUGA
GM–CSF		
27	GM–CSF человека (аминокислоты)	MWLQSLLLLGTVACSISAPARSPSPSTQPWEHVNAIQE ARRLLNLSRDTAAEMNETVEVISEMFDLQEPTCLQTR LELYKQGLRGSLTKLKGPLTMMASHYKQHCPPTPETS CATQIITFESFKENLKDFLLVIPFDCWEPVQE
28	GM–CSF человека (ДНК, CDS)	ATGTGGCTCCAGAGCCTGCTGCTCTTGGGCACTGTG GCCTGCTCCATCTCTGCACCCGCCCGCTCGCCCAGC CCCAGCACGCAGCCCTGGGAGCATGTGAATGCCAT CCAGGAGGCCCGGCGTCTGCTGAACCTGAGTAGAG ACACTGCTGCTGAGATGAATGAAACAGTAGAAGTC ATCTCAGAAATGTTTGACCTCCAGGAGCCGACCTGC CTACAGACCCGCCTGGAGCTGTACAAGCAGGGCCT GCGGGGCAGCCTCACCAAGCTCAAGGGCCCCTTGA CCATGATGGCCAGCCACTACAAGCAGCACTGCCCT CCAACCCCGGAAACTTCCTGTGCAACCCAGATTATC

		ACCTTTGAAAGTTTCAAAGAGAACCTGAAGGACTTTCTGCTTGTCATCCCCTTTGACTGCTGGGAGCCAGTCCAGGAGTGATGA
29	GM–CSF человека (РНК, кодирующая CDS)	AUGUGGCUCCAGAGCCUGCUGCUCUUGGGCACUGUGGCCUGCUCCAUCUCUGCACCCGCCCGCUCGCCCAGCCCCAGCACGCAGCCCUGGGAGCAUGUGAAUGCCAUCCAGGAGGCCCGGCGUCUGCUGAACCUGAGUAGAGACACUGCUGCUGAGAUGAAUGAAACAGUAGAAGUCAUCUCAGAAAUGUUUGACCUCCAGGAGCCGACCUGCCUACAGACCCGCCUGGAGCUGUACAAGCAGGGCCUGCGGGGCAGCCUCACCAAGCUCAAGGGCCCCUUGACCAUGAUGGCCAGCCACUACAAGCAGCACUGCCCUCCAACCCCGGAAACUUCCUGUGCAACCCAGAUUAUCACCUUUGAAAGUUUCAAAGAGAACCUGAAGGACUUUCUGCUUGUCAUCCCCUUUGACUGCUGGGAGCCAGUCCAGGAGUGAUGA
ТАБЛИЦА 2. ОПИСАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ (мышиные последовательности и другие последовательности по настоящему изобретению)		
SEQ ID NO:	Описание	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
IL–2 мыши		
30	IL–2 ModA (аминокислоты, IL–2 человека в комбинации с мышиной оптимизированной последовательностью для секреции)	MRVTAPRTLILLLSGALALTETWAGSGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
31	IL–2 ModA (ДНК:5'–UTR–CDS–3'–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACCATGAGAGTGACCGCCCCCAGAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCCTGACAGAGACATGGGCCGGAAGCGGATCCGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACTGGAGCATTTACTTCTGGATTTACAGATGATTTTGAA

		TGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACTCACCA GGATGCTCACATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGG CCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAA GAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGC TCAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACT TAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTA AAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGC TGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACA GATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACAC TGACTTGACTCGAGAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAA TTTCTATTAAAGGTTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACT ACTAAACTGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCA TCTGGATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCAT TGCTGCGTCGAGAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATT TCTATTAAAGGTTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACTA CTAAACTGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCAT CTGGATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCATT GCTGCGTCGAGACCTGGTCCAGAGTCGCTAGCAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATG ACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAA
32	IL–2 ModA (PHK)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGACCGCCCC CAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUG GCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGAUCCG CACCUACUUCAAGUUCUACAAAGAAAACACAGCU ACAACUGGAGCAUUUACUUCUGGAUUUACAGAUG AUUUUGAAUGGAAUUAAUAAUUACAAGAAUCCCA AACUCACCAGGAUGCUCACAUUUAAGUUUUACAU GCCCAAGAAGGCCACAGAACUGAAACAUCUUCAG UGUCUAGAAGAAGAACUCAAACCUCUGGAGGAAG UGCUAAAUUUAGCUCAAAGCAAAAACUUUCACUU AAGACCCAGGGACUUAAUCAGCAAUAUCAACGUA AUAGUUCUGGAACUAAAGGGAUCUGAAACAACAU

		UCAUGUGUGAAUAUGCUGAUGAGACAGCAACCAU UGUAGAAUUUCUGAACAGAUGGAUUACCUUUUGU CAAAGCAUCAUCUCAACACUGACUUGACUCGAGA GCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGG UUCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAAACUGG GGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUC UGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCUGCG UCGAGAGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAU UAAAGGUUCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUA AACUGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCU GGAUUCUGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUU GCUGCGUCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAU GACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA
33	IL–2 ModB (аминокислоты)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYM PKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWI TFCQSIISTLT
34	IL–2 ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGC TGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCTACACAGACAAGA GCTGGACCTGGATCCGCACCTACTTCAAGTTCTACA AAGAAAACACAGCTACAACTGGAGCATTTACTTCT GGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTA CAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACATTTA AGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAA CATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTG GAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTT TCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCA

		ACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACA ACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAAC CATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTTG TCAAAGCATCATCTCAACACTGACTTGACTCGACGT CCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTT TCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCG GGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACT CACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCAC GCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCAC ACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGC AATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCC AGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCCTCGAG CTAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA
35	IL–2 ModB (PHK)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGGCGCCAUGGCCCCUAGAACAU UGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUGGCCCCUACA CAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCGCACCUACUU CAAGUUCUACAAAGAAAACACAGCUACAACUGGA GCAUUUACUUCUGGAUUUACAGAUGAUUUUGAAU GGAAUUAAUAAUUACAAGAAUCCCAAACUCACCA GGAUGCUCACAUUUAAGUUUUACAUGCCCAAGAA GGCCACAGAACUGAAACAUCUUCAGUGUCUAGAA GAAGAACUCAAACCUCUGGAGGAAGUGCUAAAUU UAGCUCAAAGCAAAAACUUUCACUUAAGACCCAG GGACUUAAUCAGCAAUAUCAACGUAAUAGUUCUG GAACUAAAGGGAUCUGAAACAACAUUCAUGUGUG AAUAUGCUGAUGAGACAGCAACCAUUGUAGAAUU UCUGAACAGAUGGAUUACCUUUUGUCAAAGCAUC AUCUCAACACUGACUUGACUCGACGUCCUGGUAC

		UGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUC CUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCC AGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCA CCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAG CAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCC CCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAU AAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAG GGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAG CUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA
IL–12 мыши		
36	Мышиный IL–12 ModA (аминокислоты)	MRVTAPRTLILLLSGALALTETWAGSGSMWELEKDV YVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSDQRH GVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLL HKKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSW LVQRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGMASLSAEKVT LDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQ NKYENYSTSFFIRDIIKPDPPKNLQMKPLKNSQVEVSW EYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQ KGAFLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYNSSCSK WACVPCRVRSVPGVGVPGVGRVIPVSGPARCLSQSRN LLKTTDDMVKTAREKLKHYSCTAEDIDHEDITRDQTS TLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSL MMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNHNHQQIIL DKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRV KMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSA
37	Мышиный IL–12 ModA (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCA GAGAGAACCCGCCACCATGAGAGTGACCGCCCCCA GAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCC TGACAGAGACATGGGCCGGAAGCGGATCCATGTGG GAGCTGGAGAAAGACGTTTATGTTGTAGAGGTGGA CTGGACTCCCGATGCCCCTGGAGAAACAGTGAACC TCACCTGTGACACGCCTGAAGAAGATGACATCACC

		TGGACCTCAGACCAGAGACATGGAGTCATAGGCTC TGGAAAGACCCTGACCATCACTGTCAAAGAGTTTCT AGATGCTGGCCAGTACACCTGCCACAAAGGAGGCG AGACTCTGAGCCACTCACATCTGCTGCTCCACAAGA AGGAAAATGGAATTTGGTCCACTGAAATTTTAAAA AATTTCAAAAACAAGACTTTCCTGAAGTGTGAAGC ACCAAATTACTCCGGACGGTTCACGTGCTCATGGCT GGTGCAAAGAAACATGGACTTGAAGTTCAACATCA AGAGCAGTAGCAGTTCCCCTGACTCTCGGGCAGTG ACATGTGGAATGGCGTCTCTGTCTGCAGAGAAGGT CACACTGGACCAAAGGGACTATGAGAAGTATTCAG TGTCCTGCCAGGAGGATGTCACCTGCCCAACTGCCG AGGAGACCCTGCCCATTGAACTGGCGTTGGAAGCA CGGCAGCAGAATAAATATGAGAACTACAGCACCAG CTTCTTCATCAGGGACATCATCAAACCAGACCCGCC CAAGAACTTGCAGATGAAGCCTTTGAAGAACTCAC AGGTGGAGGTCAGCTGGGAGTACCCTGACTCCTGG AGCACTCCCCATTCCTACTTCTCCCTCAAGTTCTTTG TTCGAATCCAGCGCAAGAAAGAAAAGATGAAGGA GACAGAGGAGGGGTGTAACCAGAAAGGTGCGTTCC TCGTAGAGAAGACATCTACCGAAGTCCAATGCAAA GGCGGGAATGTCTGCGTGCAAGCTCAGGATCGCTA TTACAATTCCTCATGCAGCAAGTGGGCATGTGTTCC CTGCAGAGTCCGATCGGTTCCTGGAGTAGGGGTAC CTGGAGTGGGCAGGGTCATACCGGTCTCTGGACCT GCCAGGTGTCTTAGCCAGTCCCGAAACCTGCTGAA GACCACAGATGACATGGTGAAGACGGCCAGAGAA AAGCTGAAACATTATTCCTGCACTGCTGAAGACATC GATCATGAAGACATCACACGGGACCAAACCAGCAC ATTGAAGACCTGTTTACCACTGGAACTACACAAGA ACGAGAGTTGCCTGGCTACTAGAGAGACTTCTTCCA CAACAAGAGGGAGCTGCCTGCCCCCACAGAAGACG TCTTTGATGATGACCCTGTGCCTTGGTAGCATCTAT GAGGACTTGAAGATGTACCAGACAGAGTTCCAGGC CATCAACGCAGCACTTCAGAATCACAACCATCAGC

		AGATCATTCTAGACAAGGGCATGCTGGTGGCCATC GATGAGCTGATGCAGTCTCTGAATCATAATGGCGA GACTCTGCGCCAGAAACCTCCTGTGGGAGAAGCAG ACCCTTACAGAGTGAAAATGAAGCTCTGCATCCTG CTTCACGCCTTCAGCACCCGCGTCGTGACCATCAAC AGGGTGATGGGCTATCTGTCCAGCGCCTAATAGCTC GAGAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAA GGTTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACTACTAAACTGG GGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTG CCTAATAAAAAACATTTATTTTCATTGCTGCGTCGA GAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGG TTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACTACTAAACTGGGG GATATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTGCC TAATAAAAAACATTTATTTTCATTGCTGCGTCGAGA CCTGGTCCAGAGTCGCTAGCAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
38	Мышиный IL–12 ModA (РНК)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGACCGCCCC CAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUG GCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGAUCCA UGUGGGAGCUGGAGAAAGACGUUUAUGUUGUAGA GGUGGACUGGACUCCCGAUGCCCCUGGAGAAACA GUGAACCUCACCUGUGACACGCCUGAAGAAGAUG ACAUCACCUGGACCUCAGACCAGAGACAUGGAGU CAUAGGCUCUGGAAAGACCCUGACCAUCACUGUC AAAGAGUUUCUAGAUGCUGGCCAGUACACCUGCC ACAAAGGAGGCGAGACUCUGAGCCACUCACAUCU GCUGCUCCACAAGAAGGAAAAUGGAAUUUGGUCC ACUGAAAUUUUAAAAAAUUUCAAAAACAAGACUU UCCUGAAGUGUGAAGCACCAAAUUACUCCGGACG GUUCACGUGCUCAUGGCUGGUGCAAAGAAACAUG GACUUGAAGUUCAACAUCAAGAGCAGUAGCAGUU CCCCUGACUCUCGGGCAGUGACAUGUGGAAUGGC

		GUCUCUGUCUGCAGAGAAGGUCACACUGGACCAA AGGGACUAUGAGAAGUAUUCAGUGUCCUGCCAGG AGGAUGUCACCUGCCCAACUGCCGAGGAGACCCU GCCCAUUGAACUGGCGUUGGAAGCACGGCAGCAG AAUAAAUAUGAGAACUACAGCACCAGCUUCUUCA UCAGGGACAUCAUCAAACCAGACCCGCCCAAGAA CUUGCAGAUGAAGCCUUUGAAGAACUCACAGGUG GAGGUCAGCUGGGAGUACCCUGACUCCUGGAGCA CUCCCCAUUCCUACUUCUCCCUCAAGUUCUUUGUU CGAAUCCAGCGCAAGAAAGAAAAGAUGAAGGAGA CAGAGGAGGGGUGUAACCAGAAAGGUGCGUUCCU CGUAGAGAAGACAUCUACCGAAGUCCAAUGCAAA GGCGGGAAUGUCUGCGUGCAAGCUCAGGAUCGCU AUUACAAUUCCUCAUGCAGCAAGUGGGCAUGUGU UCCCUGCAGAGUCCGAUCGGUUCCUGGAGUAGGG GUACCUGGAGUGGGCAGGGUCAUACCGGUCUCUG GACCUGCCAGGUGUCUUAGCCAGUCCCGAAACCU GCUGAAGACCACAGAUGACAUGGUGAAGACGGCC AGAGAAAAGCUGAAACAUUAUUCCUGCACUGCUG AAGACAUCGAUCAUGAAGACAUCACACGGGACCA AACCAGCACAUUGAAGACCUGUUUACCACUGGAA CUACACAAGAACGAGAGUUGCCUGGCUACUAGAG AGACUUCUUCCACAACAAGAGGGAGCUGCCUGCC CCCACAGAAGACGUCUUUGAUGAUGACCCUGUGC CUUGGUAGCAUCUAUGAGGACUUGAAGAUGUACC AGACAGAGUUCCAGGCCAUCAACGCAGCACUUCA GAAUCACAACCAUCAGCAGAUCAUUCUAGACAAG GGCAUGCUGGUGGCCAUCGAUGAGCUGAUGCAGU CUCUGAAUCAUAAUGGCGAGACUCUGCGCCAGAA ACCUCCUGUGGGAGAAGCAGACCCUUACAGAGUG AAAAUGAAGCUCUGCAUCCUGCUUCACGCCUUCA GCACCCGCGUCGUGACCAUCAACAGGGUGAUGGG CUAUCUGUCCAGCGCCUAAUAGCUCGAGAGCUCG CUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGGUUCCU UUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGAU

		AUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCU AAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCUGCGUCGAG AGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAG GUUCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAAACUG GGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUU CUGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCUGC GUCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAA
39	Мышиный IL–12 ModB (аминокислоты)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSMWELEKD VYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSDQR HGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHL LLHKKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCS WLVQRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGMASLSAEKV TLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQ QNKYENYSTSFFIRDIIKPDPPKNLQMKPLKNSQVEVS WEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCN QKGAFLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYNSSCSK WACVPCRVRSVPGVGVPGVGRVIPVSGPARCLSQSRN LLKTTDDMVKTAREKLKHYSCTAEDIDHEDITRDQTS TLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSL MMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNHNHQQIIL DKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRV KMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSA
40	Мышиный IL–12 ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGC TGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCTACACAGACAAGA GCTGGACCTGGATCCATGTGGGAGCTGGAGAAAGA CGTTTATGTTGTAGAGGTGGACTGGACTCCCGATGC CCCTGGAGAAACAGTGAACCTCACCTGTGACACGC

		CTGAAGAAGATGACATCACCTGGACCTCAGACCAG AGACATGGAGTCATAGGCTCTGGAAAGACCCTGAC CATCACTGTCAAAGAGTTTCTAGATGCTGGCCAGTA CACCTGCCACAAAGGAGGCGAGACTCTGAGCCACT CACATCTGCTGCTCCACAAGAAGGAAAATGGAATT TGGTCCACTGAAATTTTAAAAAATTTCAAAAACAA GACTTTCCTGAAGTGTGAAGCACCAAATTACTCCGG ACGGTTCACGTGCTCATGGCTGGTGCAAAGAAACA TGGACTTGAAGTTCAACATCAAGAGCAGTAGCAGT TCCCCTGACTCTCGGGCAGTGACATGTGGAATGGC GTCTCTGTCTGCAGAGAAGGTCACACTGGACCAAA GGGACTATGAGAAGTATTCAGTGTCCTGCCAGGAG GATGTCACCTGCCCAACTGCCGAGGAGACCCTGCC CATTGAACTGGCGTTGGAAGCACGGCAGCAGAATA AATATGAGAACTACAGCACCAGCTTCTTCATCAGG GACATCATCAAACCAGACCCGCCCAAGAACTTGCA GATGAAGCCTTTGAAGAACTCACAGGTGGAGGTCA GCTGGGAGTACCCTGACTCCTGGAGCACTCCCCATT CCTACTTCTCCCTCAAGTTCTTTGTTCGAATCCAGC GCAAGAAAGAAAAGATGAAGGAGACAGAGGAGGG GTGTAACCAGAAAGGTGCGTTCCTCGTAGAGAAGA CATCTACCGAAGTCCAATGCAAAGGCGGGAATGTC TGCGTGCAAGCTCAGGATCGCTATTACAATTCCTCA TGCAGCAAGTGGGCATGTGTTCCCTGCAGAGTCCG ATCGGTTCCTGGAGTAGGGGTACCTGGAGTGGGCA GGGTCATACCGGTCTCTGGACCTGCCAGGTGTCTTA GCCAGTCCCGAAACCTGCTGAAGACCACAGATGAC ATGGTGAAGACGGCCAGAGAAAAGCTGAAACATTA TTCCTGCACTGCTGAAGACATCGATCATGAAGACAT CACACGGGACCAAACCAGCACATTGAAGACCTGTT TACCACTGGAACTACACAAGAACGAGAGTTGCCTG GCTACTAGAGAGACTTCTTCCACAACAAGAGGGAG CTGCCTGCCCCCACAGAAGACGTCTTTGATGATGAC CCTGTGCCTTGGTAGCATCTATGAGGACTTGAAGAT GTACCAGACAGAGTTCCAGGCCATCAACGCAGCAC

		TTCAGAATCACAACCATCAGCAGATCATTCTAGAC AAGGGCATGCTGGTGGCCATCGATGAGCTGATGCA GTCTCTGAATCATAATGGCGAGACTCTGCGCCAGA AACCTCCTGTGGGAGAAGCAGACCCTTACAGAGTG AAAATGAAGCTCTGCATCCTGCTTCACGCCTTCAGC ACCCGCGTCGTGACCATCAACAGGGTGATGGGCTA TCTGTCCAGCGCCTAATAGCTCGACGTCCTGGTACT GCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCT GGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAG GTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCT CTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAA TGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCA CGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAAC GAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTG GTCAATTTCGTGCCAGCCACACCCTCGAGCTAGCAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATAT GACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA
41	Мышиный IL–12 ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGGCGCCAUGGCCCCUAGAACAU UGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUGGCCCCUACA CAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCAUGUGGGAGC UGGAGAAAGACGUUUAUGUUGUAGAGGUGGACUG GACUCCCGAUGCCCCUGGAGAAACAGUGAACCUC ACCUGUGACACGCCUGAAGAAGAUGACAUCACCU GGACCUCAGACCAGAGACAUGGAGUCAUAGGCUC UGGAAAGACCCUGACCAUCACUGUCAAAGAGUUU CUAGAUGCUGGCCAGUACACCUGCCACAAAGGAG GCGAGACUCUGAGCCACUCACAUCUGCUGCUCCAC AAGAAGGAAAAUGGAAUUUGGUCCACUGAAAUUU UAAAAAAUUUCAAAAACAAGACUUUCCUGAAGUG

		UGAAGCACCAAAUUACUCCGGACGGUUCACGUGC UCAUGGCUGGUGCAAAGAAACAUGGACUUGAAGU UCAACAUCAAGAGCAGUAGCAGUUCCCCUGACUC UCGGGCAGUGACAUGUGGAAUGGCGUCUCUGUCU GCAGAGAAGGUCACACUGGACCAAAGGGACUAUG AGAAGUAUUCAGUGUCCUGCCAGGAGGAUGUCAC CUGCCCAACUGCCGAGGAGACCCUGCCCAUUGAAC UGGCGUUGGAAGCACGGCAGCAGAAUAAAUAUGA GAACUACAGCACCAGCUUCUUCAUCAGGGACAUC AUCAAACCAGACCCGCCCAAGAACUUGCAGAUGA AGCCUUUGAAGAACUCACAGGUGGAGGUCAGCUG GGAGUACCCUGACUCCUGGAGCACUCCCCAUUCCU ACUUCUCCCUCAAGUUCUUUGUUCGAAUCCAGCG CAAGAAAGAAAAGAUGAAGGAGACAGAGGAGGGG UGUAACCAGAAAGGUGCGUUCCUCGUAGAGAAGA CAUCUACCGAAGUCCAAUGCAAAGGCGGGAAUGU CUGCGUGCAAGCUCAGGAUCGCUAUUACAAUUCC UCAUGCAGCAAGUGGGCAUGUGUUCCCUGCAGAG UCCGAUCGGUUCCUGGAGUAGGGGUACCUGGAGU GGGCAGGGUCAUACCGGUCUCUGGACCUGCCAGG UGUCUUAGCCAGUCCCGAAACCUGCUGAAGACCA CAGAUGACAUGGUGAAGACGGCCAGAGAAAAGCU GAAACAUUAUUCCUGCACUGCUGAAGACAUCGAU CAUGAAGACAUCACACGGGACCAAACCAGCACAU UGAAGACCUGUUUACCACUGGAACUACACAAGAA CGAGAGUUGCCUGGCUACUAGAGAGACUUCUUCC ACAACAAGAGGGAGCUGCCUGCCCCCACAGAAGA CGUCUUUGAUGAUGACCCUGUGCCUUGGUAGCAU CUAUGAGGACUUGAAGAUGUACCAGACAGAGUUC CAGGCCAUCAACGCAGCACUUCAGAAUCACAACC AUCAGCAGAUCAUUCUAGACAAGGGCAUGCUGGU GGCCAUCGAUGAGCUGAUGCAGUCUCUGAAUCAU AAUGGCGAGACUCUGCGCCAGAAACCUCCUGUGG GAGAAGCAGACCCUUACAGAGUGAAAAUGAAGCU CUGCAUCCUGCUUCACGCCUUCAGCACCCGCGUCG

		UGACCAUCAACAGGGUGAUGGGCUAUCUGUCCAG CGCCUAAUAGCUCGACGUCCUGGUACUGCAUGCA CGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUAC CCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGC UCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCU AGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCA GCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGG AAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAA AGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGU CAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAU GACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA
IFNα (IFNα4) мыши		
42	Мышиный IFNα4 ModA (аминокислоты)	MRVTAPRTLILLLSGALALTETWAGSGSCDLPHTYNL GNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQ QIQKAQAILVLRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDS FCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLLAVRTYFH RITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARL SEEKE
43	Мышиный IFNα4 ModA (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCA GAGAGAACCCGCCACCATGAGAGTGACCGCCCCCA GAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCC TGACAGAGACATGGGCCGGAAGCGGATCCTGTGAC CTGCCTCACACTTATAACCTCGGGAACAAGAGGGC CTTGACAGTCCTGGAAGAAATGAGAAGACTCCCCC CTCTTTCCTGCCTGAAGGACAGGAAGGATTTTGGAT TCCCCTTGGAGAAGGTGGATAACCAACAGATCCAG AAGGCTCAAGCCATCCTTGTGCTAAGAGATCTTACC CAGCAGATTTTGAACCTCTTCACATCAAAAGACTTG TCTGCTACTTGGAATGCAACTCTCCTAGACTCATTC TGCAATGACCTCCATCAGCAGCTCAATGATCTCAAA GCCTGTGTGATGCAGGAACCTCCTCTGACCCAGGA AGACTCCCTGCTGGCTGTGAGGACATACTTCCACAG

		GATCACTGTGTACCTGAGAAAGAAGAAACACAGCC TCTGTGCCTGGGAGGTGATCAGAGCAGAAGTCTGG AGAGCCCTCTCTTCCTCAACCAACTTGCTGGCAAGA CTGAGTGAGGAGAAGGAGTGATAACTCGAGAGCTC GCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGTTCCTTT GTTCCCTAAGTCCAACTACTAAACTGGGGGATATTA TGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTGCCTAATAAA AAACATTTATTTTCATTGCTGCGTCGAGAGCTCGCT TTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGTTCCTTTGTT CCCTAAGTCCAACTACTAAACTGGGGGATATTATG AAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTGCCTAATAAAA AACATTTATTTTCATTGCTGCGTCGAGACCTGGTCC AGAGTCGCTAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
44	Мышиный IFNα4 ModA (PHK)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGACCGCCCC CAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUG GCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGAUCCU GUGACCUGCCUCACACUUAUAACCUCGGGAACAA GAGGGCCUUGACAGUCCUGGAAGAAAUGAGAAGA CUCCCCCCUCUUUCCUGCCUGAAGGACAGGAAGG AUUUUGGAUUCCCCUUGGAGAAGGUGGAUAACCA ACAGAUCCAGAAGGCUCAAGCCAUCCUUGUGCUA AGAGAUCUUACCCAGCAGAUUUGAACCUCUUCA CAUCAAAAGACUUGUCUGCUACUUGGAAUGCAAC UCUCCUAGACUCAUUCUGCAAUGACCUCCAUCAG CAGCUCAAUGAUCUCAAAGCCUGUGUGAUGCAGG AACCUCCUCUGACCCAGGAAGACUCCCUGCUGGCU GUGAGGACAUACUUCCACAGGAUCACUGUGUACC UGAGAAAGAAGAAACACAGCCUCUGUGCCUGGGA GGUGAUCAGAGCAGAAGUCUGGAGAGCCCUCUCU UCCUCAACCAACUUGCUGGCAAGACUGAGUGAGG AGAAGGAGUGAUAACUCGAGAGCUCGCUUUCUUG

		CUGUCCAAUUUCUAUUAAAGGUUCCUUUGUUCCC UAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGAUAUUAUGAA GGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAA ACAUUUAUUUUCAUUGCUGCGUCGAGAGCUCGCU UUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGGUUCCUUU GUUCCCUAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGAUAU UAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAA UAAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCUGCGUCGAGAC CUGGUCCAGAGUCGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
45	Мышиный IFNα4 ModB (аминокислоты)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSCDLPHTYN LGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDN QQIQKAQAILVLRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLL DSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLLAVRTY FHRITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLA RLSEEKE
46	Мышиный IFNα4 ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGC TGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCTACACAGACAAGA GCTGGACCTGGATCCTGTGACCTGCCTCACACTTAT AACCTCGGGAACAAGAGGGCCTTGACAGTCCTGGA AGAAATGAGAAGACTCCCCCCTCTTTCCTGCCTGAA GGACAGGAAGGATTTTGGATTCCCCTTGGAGAAGG TGGATAACCAACAGATCCAGAAGGCTCAAGCCATC CTTGTGCTAAGAGATCTTACCCAGCAGATTTTGAAC CTCTTCACATCAAAAGACTTGTCTGCTACTTGGAAT GCAACTCTCCTAGACTCATTCTGCAATGACCTCCAT CAGCAGCTCAATGATCTCAAAGCCTGTGTGATGCA GGAACCTCCTCTGACCCAGGAAGACTCCCTGCTGG CTGTGAGGACATACTTCCACAGGATCACTGTGTACC

		TGAGAAAGAAGAAACACAGCCTCTGTGCCTGGGAG GTGATCAGAGCAGAAGTCTGGAGAGCCCTCTCTTC CTCAACCAACTTGCTGGCAAGACTGAGTGAGGAGA AGGAGTGATAACTCGACGTCCTGGTACTGCATGCA CGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACC CCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTC CCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGT TCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTC AAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAAC AGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTT AACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTC GTGCCAGCCACACCCTCGAGCTAGCAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
47	Мышиный IFNα4 ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGGCGCCAUGGCCCCUAGAACAU UGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUGGCCCCUACA CAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCUGUGACCUGC CUCACACUUAUAACCUCGGGAACAAGAGGGCCUU GACAGUCCUGGAAGAAAUGAGAAGACUCCCCCCU CUUUCCUGCCUGAAGGACAGGAAGGAUUUUGGAU UCCCCUUGGAGAAGGUGGAUAACCAACAGAUCCA GAAGGCUCAAGCCAUCCUUGUGCUAAGAGAUCUU ACCCAGCAGAUUUUGAACCUCUUCACAUCAAAAG ACUUGUCUGCUACUUGGAAUGCAACUCUCCUAGA CUCAUUCUGCAAUGACCUCCAUCAGCAGCUCAAU GAUCUCAAAGCCUGUGUGAUGCAGGAACCUCCUC UGACCCAGGAAGACUCCCUGCUGGCUGUGAGGAC AUACUUCCACAGGAUCACUGUGUACCUGAGAAAG AAGAAACACAGCCUCUGUGCCUGGGAGGUGAUCA GAGCAGAAGUCUGGAGAGCCCUCUCUUCCUCAAC

		CAACUUGCUGGCAAGACUGAGUGAGGAGAAGGAG UGAUAACUCGACGUCCUGGUACUGCAUGCACGCA AUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCG AGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCC ACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUU CCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCA AAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACA GCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUU AACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUU UCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAA
IL–15sushi мыши		
48	Мышиный IL–15sushi ModA (аминокислоты)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSTTCPPPVSI EHADIRVKNYSVNSRERYVCNSGFKRKAGTSTLIECVI NKNTNVAHWTTPSLKCIRDPSLAGGSGGSGGSGGSG GSGGSGGNWIDVRYDLEKIESLIQSIHIDTTLYTDSDFH PSCKVTAMNCFLLELQVILHEYSNMTLNETVRNVLYL ANSTLSSNKNVAESGCKECEELEEKTFTEFLQSFIRIVQ MFINTS
49	Мышиный IL–15sushi ModA (ДНК:5'–UTR–CDS–3'–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCA GAGAGAACCCGCCACCATGGGCGCCATGGCCCCTA GAACATTGCTCCTGCTGCTGGCCGCTGCCCTGGCCC CTACACAGACAAGAGCTGGACCTGGATCCACCACG TGTCCACCTCCCGTATCTATTGAGCATGCTGACATC CGGGTCAAGAATTACAGTGTGAACTCCAGGGAGAG GTATGTCTGTAACTCTGGCTTTAAGCGGAAAGCTGG AACATCCACCCTGATTGAGTGTGTGATCAACAAGA ACACAAATGTTGCCCACTGGACAACTCCCAGCCTC AAGTGCATCAGAGACCCCTCCCTAGCTGGAGGGAG CGGAGGCTCTGGCGGAAGCGGCGGGTCTGGAGGCT CCGGGGGAAGCGGCGGAAATTGGATCGACGTGCGC TACGACCTGGAAAAGATCGAGAGCCTGATCCAGAG

		CATCCACATCGACACCACCCTGTACACCGACAGCG ACTTCCACCCCAGCTGCAAAGTGACCGCTATGAACT GCTTCCTGCTGGAACTGCAAGTGATCCTGCACGAGT ACAGCAACATGACCCTGAACGAGACAGTGCGGAAC GTGCTGTACCTGGCCAACAGCACCCTGAGCAGCAA CAAGAACGTGGCCGAGAGCGGCTGCAAAGAGTGCG AGGAACTGGAAGAAAAGACCTTCACCGAGTTTCTG CAGAGCTTCATCAGGATCGTGCAGATGTTCATCAAC ACCTCTTGATGAGTCGACGTCCTGGTACTGCATGCA CGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACC CCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTC CCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGT TCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTC AAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAAC AGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTT AACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTC GTGCCAGCCACACCCTCGAGCTAGCAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
50	Мышиный IL–15sushi ModA (РНК)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGGGCGCCAUGGCCCC UAGAACAUUGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUG GCCCCUACACAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCA CCACGUGUCCACCUCCCGUAUCUAUUGAGCAUGC UGACAUCCGGGUCAAGAAUUACAGUGUGAACUCC AGGGAGAGGUAUGUCUGUAACUCUGGCUUUAAGC GGAAAGCUGGAACAUCCACCCUGAUUGAGUGUGU GAUCAACAAGAACACAAAUGUUGCCCACUGGACA ACUCCCAGCCUCAAGUGCAUCAGAGACCCCUCCCU AGCUGGAGGGAGCGGAGGCUCUGGCGGAAGCGGC GGGUCUGGAGGCUCCGGGGGAAGCGGCGGAAAUU GGAUCGACGUGCGCUACGACCUGGAAAAGAUCGA GAGCCUGAUCCAGAGCAUCCACAUCGACACCACCC UGUACACCGACAGCGACUUCCACCCCAGCUGCAAA

		GUGACCGCUAUGAACUGCUUCCUGCUGGAACUGC AAGUGAUCCUGCACGAGUACAGCAACAUGACCCU GAACGAGACAGUGCGGAACGUGCUGUACCUGGCC AACAGCACCCUGAGCAGCAACAAGAACGUGGCCG AGAGCGGCUGCAAAGAGUGCGAGGAACUGGAAGA AAAGACCUUCACCGAGUUUCUGCAGAGCUUCAUC AGGAUCGUGCAGAUGUUCAUCAACACCUCUUGAU GAGUCGACGUCCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGC UAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUC UCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCU CCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAG ACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAAC GCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAG UGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACU AAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGU GCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
51	Мышиный IL–15sushi ModB (аминокислоты)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSTTCPPPVSI EHADIRVKNYSVNSRERYVCNSGFKRKAGTSTLIECVI NKNTNVAHWTTPSLKCIRDPSLAGGSGGSGGSGGSG GSGGSGGNWIDVRYDLEKIESLIQSIHIDTTLYTDSDFH PSCKVTAMNCFLLELQVILHEYSNMTLNETVRNVLYL ANSTLSSNKNVAESGCKECEELEEKTFTEFLQSFIRIVQ MFINTS
52	Мышиный IL–15sushi ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGC TGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCT*ACA*CAGACAAGAG CTGGACCTGGATCCACCACGTGTCCACCTCCCGTAT CTATTGAGCATGCTGACATCCGGGTCAAGAATTAC AGTGTGAACTCCAGGGAGAGGTATGTCTGTAACTC

		TGGCTTTAAGCGGAAAGCTGGAACATCCACCCTGA TTGAGTGTGTGATCAACAAGAACACAAATGTTGCC CACTGGACAACTCCCAGCCTCAAGTGCATCAGAGA CCCCTCCCTAGCTGGAGGGAGCGGAGGCTCTGGCG GAAGCGGCGGGTCTGGAGGCTCCGGGGGAAGCGGC GGAAATTGGATCGACGTGCGCTACGACCTGGAAAA GATCGAGAGCCTGATCCAGAGCATCCACATCGACA CCACCCTGTACACCGACAGCGACTTCCACCCCAGCT GCAAAGTGACCGCTATGAACTGCTTCCTGCTGGAA CTGCAAGTGATCCTGCACGAGTACAGCAACATGAC CCTGAACGAGACAGTGCGGAACGTGCTGTACCTGG CCAACAGCACCCTGAGCAGCAACAAGAACGTGGCC GAGAGCGGCTGCAAAGAGTGCGAGGAACTGGAAG AAAAGACCTTCACCGAGTTTCTGCAGAGCTTCATCA GGATCGTGCAGATGTTCATCAACACCTCTTGATGAG TCGACGTCCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCT GCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCC GACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTG CCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCC CAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCC TAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAAC CTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACT AACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACC CTCGAGCTAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
53	Мышиный IL–15sushi ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGGCGCCAUGGCCCCUAGAACAU UGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUGGCCCCUACA CAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCACCACGUGUC CACCUCCCGUAUCUAUUGAGCAUGCUGACAUCCG

		GGUCAAGAAUUACAGUGUGAACUCCAGGGAGAGG UAUGUCUGUAACUCUGGCUUUAAGCGGAAAGCUG GAACAUCCACCCUGAUUGAGUGUGUGAUCAACAA GAACACAAAUGUUGCCCACUGGACAACUCCCAGC CUCAAGUGCAUCAGAGACCCCUCCCUAGCUGGAG GGAGCGGAGGCUCUGGCGGAAGCGGCGGGUCUGG AGGCUCCGGGGGAAGCGGCGGAAAUUGGAUCGAC GUGCGCUACGACCUGGAAAAGAUCGAGAGCCUGA UCCAGAGCAUCCACAUCGACACCACCCUGUACACC GACAGCGACUUCCACCCCAGCUGCAAAGUGACCGC UAUGAACUGCUUCCUGCUGGAACUGCAAGUGAUC CUGCACGAGUACAGCAACAUGACCCUGAACGAGA CAGUGCGGAACGUGCUGUACCUGGCCAACAGCAC CCUGAGCAGCAACAAGAACGUGGCCGAGAGCGGC UGCAAAGAGUGCGAGGAACUGGAAGAAAAGACCU UCACCGAGUUUCUGCAGAGCUUCAUCAGGAUCGU GCAGAUGUUCAUCAACACCUCUUGAUGAGUCGAC GUCCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCC CCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGA CCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGC CCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCC CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGC CUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUA ACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUA UACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGC CACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
GM–CSF мыши		
54	Мышиный GM–CSF ModA (аминокислоты)	MWLQNLLFLGIVVYSLSAPTRSPITVTRPWKHVEAIKE ALNLLDDMPVTLNEEVEVVSNEFSFKKLTCVQTRLKI FEQGLRGNFTKLKGALNMTASYYQTYCPPTPETDCET QVTTYADFIDSLKTFLTDIPFECKKPGQK
55	Мышиный GM–	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCA

	CSF ModA (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GAGAGAACCCGCCACCATGTGGCTGCAGAACCTGC TGTTCCTGGGCATCGTGGTGTACAGCCTGAGCGCCC CCACCAGGAGCCCCATCACCGTGACCAGGCCCTGG AAGCACGTGGAGGCCATCAAGGAGGCCCTGAACCT GCTGGACGACATGCCCGTGACCCTGAACGAGGAGG TGGAGGTGGTGAGCAACGAGTTCAGCTTCAAGAAG CTGACCTGCGTGCAGACCAGGCTGAAGATCTTCGA GCAGGGCCTGAGGGGCAACTTCACCAAGCTGAAGG GCGCCCTGAACATGACCGCCAGCTACTACCAGACC TACTGCCCCCCCACCCCCGAGACCGACTGCGAGAC CCAGGTGACCACCTACGCCGACTTCATCGACAGCCT GAAGACCTTCCTGACCGACATCCCCTTCGAGTGCAA GAAGCCCGGCCAGAAGTGATGACTCGAGCTGGTAC TGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCC TGGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAG GTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCT CTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAA TGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCA CGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAAC GAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTG GTCAATTTCGTGCCAGCCACACCGAGACCTGGTCCA GAGTCGCTAGCCGCGTCGCTAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
56	Мышиный GM–CSF ModA (РНК)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGUGGCUGCAGAACC UGCUGUUCCUGGGCAUCGUGGUGUACAGCCUGAG CGCCCCCACCAGGAGCCCCAUCACCGUGACCAGGC CCUGGAAGCACGUGGAGGCCAUCAAGGAGGCCCU GAACCUGCUGGACGACAUGCCCGUGACCCUGAAC GAGGAGGUGGAGGUGGUGAGCAACGAGUUCAGCU UCAAGAAGCUGACCUGCGUGCAGACCAGGCUGAA GAUCUUCGAGCAGGGCCUGAGGGGCAACUUCACC AAGCUGAAGGGCGCCCUGAACAUGACCGCCAGCU

		ACUACCAGACCUACUGCCCCCCACCCCCGAGACC GACUGCGAGACCCAGGUGACCACCUACGCCGACU UCAUCGACAGCCUGAAGACCUUCCUGACCGACAU CCCCUUCGAGUGCAAGAAGCCCGGCCAGAAGUGA UGACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUA GCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUC CCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCC ACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGAC ACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGC UUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGU GAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUA AGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUG CCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGC CGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAA
57	Мышиный GM–CSF ModB (аминокислоты)	MWLQNLLFLGIVVYSLSAPTRSPITVTRPWKHVEAIKE ALNLLDDMPVTLNEEVEVVSNEFSFKKLTCVQTRLKI FEQGLRGNFTKLKGALNMTASYYQTYCPPTPETDCET QVTTYADFIDSLKTFLTDIPFECKKPGQK
58	Мышиный GM–CSF ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGTGGCTGCAGAACCTGCTGTTCCTGGGCATCG TGGTGTACAGCCTGAGCGCCCCCACCAGGAGCCCC ATCACCGTGACCAGGCCCTGGAAGCACGTGGAGGC CATCAAGGAGGCCCTGAACCTGCTGGACGACATGC CCGTGACCCTGAACGAGGAGGTGGAGGTGGTGAGC AACGAGTTCAGCTTCAAGAAGCTGACCTGCGTGCA GACCAGGCTGAAGATCTTCGAGCAGGGCCTGAGGG GCAACTTCACCAAGCTGAAGGGCGCCCTGAACATG ACCGCCAGCTACTACCAGACCTACTGCCCCCCCACC CCCGAGACCGACTGCGAGACCCAGGTGACCACCTA

		CGCCGACTTCATCGACAGCCTGAAGACCTTCCTGAC CGACATCCCCTTCGAGTGCAAGAAGCCCGGCCAGA AGTGATGACTCGAGCTGGTACTGCATGCACGCAAT GCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGT CTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCT CCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGA CACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACG CTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGT GATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAA GCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCA GCCACACCGAGACCTGGTCCAGAGTCGCTAGCCGC GTCGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA
59	Мышиный GM–CSF ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGUGGCUGCAGAACCUGCUGUUCC UGGGCAUCGUGGUGUACAGCCUGAGCGCCCCCAC CAGGAGCCCCAUCACCGUGACCAGGCCCUGGAAGC ACGUGGAGGCCAUCAAGGAGGCCCUGAACCUGCU GGACGACAUGCCCGUGACCCUGAACGAGGAGGUG GAGGUGGUGAGCAACGAGUUCAGCUUCAAGAAGC UGACCUGCGUGCAGACCAGGCUGAAGAUCUUCGA GCAGGGCCUGAGGGGCAACUUCACCAAGCUGAAG GGCGCCCUGAACAUGACCGCCAGCUACUACCAGAC CUACUGCCCCCCCACCCCCGAGACCGACUGCGAGA CCCAGGUGACCACCUACGCCGACUUCAUCGACAGC CUGAAGACCUUCCUGACCGACAUCCCCUUCGAGU GCAAGAAGCCCGGCCAGAAGUGAUGACUCGAGCU GGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUU CCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCG GGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCAC

		UCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
FLT3L мыши		
60	FLT3L ModA (аминокислоты, FLT3L человека в комбинации с мышиной оптимизированной последовательностью для секреции)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSTQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTEIHFVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFSRCLELQCQPDSSTLPPPWSPRPLEATAPTAPQPP
61	FLT3L ModA (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGCTGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCTACACAGACAAGAGCTGGACCTGGATCCACCCAGGACTGCAGCTTCCAGCACTCCCCTATCTCCTCCGACTTCGCCGTGAAGATCCGGGAGCTGTCCGATTACCTGCTGCAGGACTACCCTGTGACCGTGGCCAGCAACCTGCAGGACGAAGAACTGTGTGGCGGCCTGTGGCGGCTGGTGCTGGCCCAGCGGTGGATGGAACGGCTGAAAACCGTGGCCGGCTCCAAGATGCAGGGCCTGCTCGAGCGGGTGAACACCGAGATCCACTTCGTGACCAAGTGCGCCTTCCAGCCTCCTCCTTCCTGCCTGCGGTTCGTGCAGACCAACATCTCCCGGCTGCTGCAGGAAACCTCCGAGCAGCTGGTCGCCCTGAAGCCTTGGATCACCCGGCAGAACTTCTCCCGGTGTCTGGAACTCCAGTGTCAGCCCGACTCCTCCACCCTGCCTCCTCCCTGGTCC

		CCCAGGCCTCTGGAAGCCACCGCCCCTACCGCCCC ACAGCCTCCTTGATAGGTCGACGTCCTGGTACTGCA TGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGG TACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTAT GCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGC TAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCA GCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGG AAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAA GTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAA TTTCGTGCCAGCCACACCCTCGAGCTAGCAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACT AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAA
62	FLT3L ModA (PHK)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGGGCGCCAUGGCCCC UAGAACAUUGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUG GCCCCUACACAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCA CCCAGGACUGCAGCUUCCAGCACUCCCCUAUCUCC UCCGACUUCGCCGUGAAGAUCCGGGAGCUGUCCG AUUACCUGCUGCAGGACUACCCUGUGACCGUGGC CAGCAACCUGCAGGACGAAGAACUGUGUGGCGGC CUGUGGCGGCUGGUGCUGGCCCAGCGGUGGAUGG AACGGCUGAAAACCGUGGCCGGCUCCAAGAUGCA GGGCCUGCUCGAGCGGGUGAACACCGAGAUCCAC UUCGUGACCAAGUGCGCCUUCCAGCCUCCUCCUUC CUGCCUGCGGUUCGUGCAGACCAACAUCUCCCGGC UGCUGCAGGAAACCUCCGAGCAGCUGGUCGCCCU GAAGCCUUGGAUCACCCGGCAGAACUUCUCCCGG UGUCUGGAACUCCAGUGUCAGCCCGACUCCUCCAC CCUGCCUCCUCCCUGGUCCCCCAGGCCUCUGGAAG CCACCGCCCCUACCGCCCCACAGCCUCCUUGAUAG GUCGACGUCCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUA GCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUC CCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCC

		ACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGAC ACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGC UUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGU GAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUA AGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUG CCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
63	FLT3L ModB (аминокислоты, FLT3L человека в комбинации с мышиной оптимизированной последовательностью для секреции)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSTQDCSFQH SPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGG LWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTEIHF VTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWI TRQNFSRCLELQCQPDSSTLPPPWSPRPLEATAPTAPQ PP
64	FLT3L ModB (ДНК:5'–UTR–CDS–3'–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGC TGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCTACACAGACAAGA GCTGGACCTGGATCCACCCAGGACTGCAGCTTCCA GCACTCCCCTATCTCCTCCGACTTCGCCGTGAAGAT CCGGGAGCTGTCCGATTACCTGCTGCAGGACTACCC TGTGACCGTGGCCAGCAACCTGCAGGACGAAGAAC TGTGTGGCGGCCTGTGGCGGCTGGTGCTGGCCCAG CGGTGGATGGAACGGCTGAAAACCGTGGCCGGCTC CAAGATGCAGGGCCTGCTCGAGCGGGTGAACACCG AGATCCACTTCGTGACCAAGTGCGCCTTCCAGCCTC CTCCTTCCTGCCTGCGGTTCGTGCAGACCAACATCT CCCGGCTGCTGCAGGAAACCTCCGAGCAGCTGGTC GCCCTGAAGCCTTGGATCACCCGGCAGAACTTCTCC CGGTGTCTGGAACTCCAGTGTCAGCCCGACTCCTCC

		ACCCTGCCTCCTCCCTGGTCCCCCAGGCCTCTGGAA GCCACCGCCCCTACCGCCCCACAGCCTCCTTGATAG GTCGACGTCCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGC TGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCC CGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCT GCCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTC CCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGC CTAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAA CCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATAC TAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACAC CCTCGAGCTAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
65	Мышиный FLT3L ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGGCGCCAUGGCCCCUAGAACAU UGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUGGCCCCUACA CAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCACCCAGGACU GCAGCUUCCAGCACUCCCCUAUCUCCUCCGACUUC GCCGUGAAGAUCCGGGAGCUGUCCGAUUACCUGC UGCAGGACUACCCUGUGACCGUGGCCAGCAACCU GCAGGACGAAGAACUGUGUGGCGGCCUGUGGCGG CUGGUGCUGGCCCAGCGGUGGAUGGAACGGCUGA AAACCGUGGCCGGCUCCAAGAUGCAGGGCCUGCU CGAGCGGGUGAACACCGAGAUCCACUUCGUGACC AAGUGCGCCUUCCAGCCUCCUCCUUCCUGCCUGCG GUUCGUGCAGACCAACAUCUCCCGGCUGCUGCAG GAAACCUCCGAGCAGCUGGUCGCCCUGAAGCCUU GGAUCACCCGGCAGAACUUCUCCCGGUGUCUGGA ACUCCAGUGUCAGCCCGACUCCUCCACCCUGCCUC CUCCCUGGUCCCCCAGGCCUCUGGAAGCCACCGCC CCUACCGCCCCACAGCCUCCUUGAUAGGUCGACGU

		CCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCC UUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACC UCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCC CACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCA AGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCU AGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAAC CUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUA CUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCA CACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
41BBL мыши		
66	Мышиный 41BBL ModA (аминокислоты)	MDQHTLDVEDTADARHPAGTSCPSDAALLRDTGLLA DAALLSDTVRPTNAALPTDAAYPAVNVRDREAAWPP ALNFCSRHPKLYGLVALVLLLLIAACVPIFTRTEPRPA LTITTSPNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSPVF AKLLAKNQASLCNTTLNWHSQDGAGSSYLSQGLRYE EDKKELVVDSPGLYYVFLELKLSPTFTNTGHKVQGW VSLVLQAKPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRS WSQLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSY PNTTSFGLFLVKPDNPWE
67	Мышиный 41BBL ModA (ДНК:5'–UTR–CDS–3'–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCA GAGAGAACCCGCCACCATGGACCAGCACACACTTG ATGTGGAGGATACCGCGGATGCCAGACATCCAGCA GGTACTTCGTGCCCCTCGGATGCGGCGCTCCTCAGA GATACCGGGCTCCTCGCGGACGCTGCGCTCCTCTCA GATACTGTGCGCCCCACAAATGCCGCGCTCCCCAC GGATGCTGCCTACCCTGCGGTTAATGTTCGGGATCG CGAGGCCGCGTGGCCGCCTGCACTGAACTTCTGTTC CCGCCACCCAAAGCTCTATGGCCTAGTCGCTTTGGT TTTGCTGCTTCTGATCGCCGCCTGTGTTCCTATCTTC ACCCGCACCGAGCCTCGGCCAGCGCTCACAATCAC CACCTCGCCCAACCTGGGTACCCGAGAGAATAATG CAGACCAGGTCACCCCTGTTTCCCACATTGGCTGCC

		CCAACACTACACAACAGGGCTCTCCTGTGTTCGCCA AGCTACTGGCTAAAAACCAAGCATCGTTGTGCAAT ACAACTCTGAACTGGCACAGCCAAGATGGAGCTGG GAGCTCATACCTATCTCAAGGTCTGAGGTACGAAG AAGACAAAAAGGAGTTGGTGGTAGACAGTCCCGGG CTCTACTACGTATTTTTGGAACTGAAGCTCAGTCCA ACATTCACAAACACAGGCCACAAGGTGCAGGGCTG GGTCTCTCTTGTTTTGCAAGCAAAGCCTCAGGTAGA TGACTTTGACAACTTGGCCCTGACAGTGGAACTGTT CCCTTGCTCCATGGAGAACAAGTTAGTGGACCGTTC CTGGAGTCAACTGTTGCTCCTGAAGGCTGGCCACCG CCTCAGTGTGGGTCTGAGGGCTTATCTGCATGGAGC CCAGGATGCATACAGAGACTGGGAGCTGTCTTATC CCAACACCACCAGCTTTGGACTCTTTCTTGTGAAAC CCGACAACCCATGGGAATGATAGGGATCCGATCTG GTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCC GTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTC CCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACC ACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAG CAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCC CCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATA AACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGG TTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCCTCGAGCTAG CAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCA TATGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
68	Мышиный 41BBL ModA (РНК)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGGACCAGCACACACU UGAUGUGGAGGAUACCGCGGAUGCCAGACAUCCA GCAGGUACUUCGUGCCCCUCGGAUGCGGCGCUCC UCAGAGAUACCGGGCUCCUCGCGGACGCUGCGCU CCUCUCAGAUACUGUGCGCCCCACAAAUGCCGCGC UCCCCACGGAUGCUGCCUACCCUGCGGUUAAUGU UCGGGAUCGCGAGGCCGCGUGGCCGCCUGCACUG

		AACUUCUGUUCCCGCCACCCAAAGCUCUAUGGCCUAGUCGCUUUGGUUUUGCUGCUUCUGAUCGCCGCCUGUGUUCCUAUCUUCACCCGCACCGAGCCUCGGCCAGCGCUCACAAUCACCACCUCGCCCAACCUGGGUACCCGAGAGAAUAAUGCAGACCAGGUCACCCCUGUUUCCCACAUUGGCUGCCCCAACACUACACAACAGGGCUCUCCUGUGUUCGCCAAGCUACUGGCUAAAAACCAAGCAUCGUUGUGCAAUACAACUCUGAACUGGCACAGCCAAGAUGGAGCUGGGAGCUCAUACCUAUCUCAAGGUCUGAGGUACGAAGAAGACAAAAAGGAGUUGGUGGUAGACAGUCCCGGGCUCUACUACGUAUUUUUGGAACUGAAGCUCAGUCCAACAUUCACAAACACAGGCCACAAGGUGCAGGGCUGGGUCUCUCUUGUUUUGCAAGCAAAGCCUCAGGUAGAUGACUUUGACAACUUGGCCCUGACAGUGGAACUGUUCCCUUGCUCCAUGGAGAACAAGUUAGUGGACCGUUCCUGGAGUCAACUGUUGCUCCUGAAGGCUGGCCACCGCCUCAGUGUGGGUCUGAGGGCUUAUCUGCAUGGAGCCCAGGAUGCAUACAGAGACUGGGAGCUGUCUUAUCCCAACACCACCAGCUUUGGACUCUUUCUUGUGAAACCCGACAACCCAUGGGAAUGAUAGGGAUCCGAUCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
69	Мышиный 41BBL ModB	MDQHTLDVEDTADARHPAGTSCPSDAALLRDTGLLADAALLSDTVRPTNAALPTDAAYPAVNVRDREAAWPP

	(аминокислоты)	ALNFCSRHPKLYGLVALVLLLLIAACVPIFTRTEPRPALTITTSPNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSPVFAKLLAKNQASLCNTTLNWHSQDGAGSSYLSQGLRYEEDKKELVVDSPGLYYVFLELKLSPTFTNTGHKVQGWVSLVLQAKPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRSWSQLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNTTSFGLFLVKPDNPWE
70	Мышиный 41BBL ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAACAAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTATTGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGCAATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAGCCATGGACCAGCACACACTTGATGTGGAGGATACCGCGGATGCCAGACATCCAGCAGGTACTTCGTGCCCCTCGGATGCGGCGCTCCTCAGAGATACCGGGCTCCTCGCGGACGCTGCGCTCCTCTCAGATACTGTGCGCCCCACAAATGCCGCGCTCCCCACGGATGCTGCCTACCCTGCGGTTAATGTTCGGGATCGCGAGGCCGCGTGGCCGCCTGCACTGAACTTCTGTTCCCGCCACCCAAAGCTCTATGGCCTAGTCGCTTTGGTTTTGCTGCTTCTGATCGCCGCCTGTGTTCCTATCTTCACCCGCACCGAGCCTCGGCCAGCGCTCACAATCACCACCTCGCCCAACCTGGGTACCCGAGAGAATAATGCAGACCAGGTCACCCCTGTTTCCCACATTGGCTGCCCCAACACTACACAACAGGGCTCTCCTGTGTTCGCCAAGCTACTGGCTAAAAACCAAGCATCGTTGTGCAATACAACTCTGAACTGGCACAGCCAAGATGGAGCTGGGAGCTCATACCTATCTCAAGGTCTGAGGTACGAAGAAGACAAAAAGGAGTTGGTGGTAGACAGTCCCGGGCTCTACTACGTATTTTTGGAACTGAAGCTCAGTCCAACATTCACAAACACAGGCCACAAGGTGCAGGGCTGGGTCTCTCTTGTTTTGCAAGCAAAGCCTCAGGTAGATGACTTTGACAACTTGGCCCTGACAGTGGAACTGTTCCCTTGCTCCATGGAGAACAAGTTAGTGGACCGTTCCTGGAGTCAACTGTTGCTCCTGAAGGCTGGCCACCGCCTCAGTGTGGGTCTGAGGGCTTATCTGCATGGAGCCCAGGATGCATACA

		GAGACTGGGAGCTGTCTTATCCCAACACCACCAGC TTTGGACTCTTTCTTGTGAAACCCGACAACCCATGG GAATGATAGGGATCCGATCTGGTACTGCATGCACG CAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCC GAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCC ACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTC CAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAA AACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGAAACAG CAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAA CTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGT GCCAGCCACACCCTCGAGCTAGCAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
71	Мышиный 41BBL ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGACCAGCACACACUUGAUGUGG AGGAUACCGCGGAUGCCAGACAUCCAGCAGGUAC UUCGUGCCCCUCGGAUGCGGCGCUCCUCAGAGAU ACCGGGCUCCUCGCGGACGCUGCGCUCCUCUCAGA UACUGUGCGCCCCACAAAUGCCGCGCUCCCCACGG AUGCUGCCUACCCUGCGGUUAAUGUUCGGGAUCG CGAGGCCGCGUGGCCGCCUGCACUGAACUUCUGU UCCCGCCACCCAAAGCUCUAUGGCCUAGUCGCUUU GGUUUUGCUGCUUCUGAUCGCCGCCUGUGUUCCU AUCUUCACCCGCACCGAGCCUCGGCCAGCGCUCAC AAUCACCACCUCGCCCAACCUGGGUACCCGAGAGA AUAAUGCAGACCAGGUCACCCCUGUUUCCCACAU UGGCUGCCCCAACACUACACAACAGGGCUCUCCUG UGUUCGCCAAGCUACUGGCUAAAAACCAAGCAUC GUUGUGCAAUACAACUCUGAACUGGCACAGCCAA GAUGGAGCUGGGAGCUCAUACCUAUCUCAAGGUC UGAGGUACGAAGAAGACAAAAAGGAGUUGGUGGU

		AGACAGUCCCGGGCUCUACUACGUAUUUUGGAA CUGAAGCUCAGUCCAACAUUCACAAACACAGGCC ACAAGGUGCAGGGCUGGGUCUCUCUUGUUUUGCA AGCAAAGCCUCAGGUAGAUGACUUUGACAACUUG GCCCUGACAGUGGAACUGUUCCCUUGCUCCAUGG AGAACAAGUUAGUGGACCGUUCCUGGAGUCAACU GUUGCUCCUGAAGGCUGGCCACCGCCUCAGUGUG GGUCUGAGGGCUUAUCUGCAUGGAGCCCAGGAUG CAUACAGAGACUGGGAGCUGUCUUAUCCCAACAC CACCAGCUUUGGACUCUUUCUUGUGAAACCCGAC AACCCAUGGGAAUGAUAGGGAUCCGAUCUGGUAC UGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUC CUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCC AGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCA CCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAG CAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCC CCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAU AAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAG GGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAG CUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA
CD27L–CD40L мыши		
72	Мышиный CD27L–CD40L ModA (аминокислоты) Примечания к последовательности CAPS: CD27L; CAPS: линкер; CAPS: CD40L	MRVTAPRTLILLLSGALALTETWAGSGSHPEPHTAEL QLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLR IHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRATLAVGICSP AAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLT LPLLPSRNADETFFGVQWICPGGGSGGGHPEPHTAEL QLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLR IHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRATLAVGICSP AAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLT LPLLPSRNADETFFGVQWICPGGGSGGGHPEPHTAEL QLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLR IHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRATLAVGICSP

		AAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLT LPLLPSRNADETFFGVQWICPGGGGSGGGGSGGGGSG DEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKGYYTMKSN LVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCSNREPSSQR PFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLCEQQSVHL GGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSSFGLLKLG GGSGGGGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKG YYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCS NREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLC EQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSS FGLLKLGGGSGGGGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVL QWAKKGYYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVY TQVTFCSNREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKAAN THSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQV IHRVGFSSFGLLKL
73	Мышиный CD27L–CD40L ModA (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCA GAGAGAACCCGCCACCATGAGAGTGACCGCCCCCA GAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCC TGACAGAGACATGGGCCGGAAGCGGATCCCACCCC GAGCCCCACACCGCCGAACTGCAGCTGAACCTGAC CGTGCCCAGAAAGGACCCCACCCTGAGATGGGGAG CTGGCCCTGCTCTGGGCAGATCCTTTACACACGGCC CCGAGCTGGAAGAAGGCCACCTGAGAATCCACCAG GACGGCCTGTACAGACTGCACATCCAAGTGACCCT GGCCAACTGCAGCAGCCCTGGCTCTACCCTGCAGC ACAGAGCCACACTGGCCGTGGGCATCTGTAGCCCT GCTGCTCACGGAATCAGCCTGCTGAGAGGCAGATT CGGCCAGGACTGTACCGTGGCCCTGCAGAGGCTGA CCTATCTGGTGCATGGCGACGTGCTGTGCACCAACC TGACACTGCCTCTGCTGCCCAGCAGAAACGCCGAC GAAACATTCTTTGGAGTGCAGTGGATTTGTCCTGGC GGAGGGTCCGGGGGAGGACACCCAGAACCTCATAC AGCTGAACTGCAGCTGAACCTGACCGTGCCCAGAA AGGACCCCACCCTGAGATGGGGAGCTGGCCCTGCT CTGGGCAGATCCTTTACACACGGCCCCGAGCTGGA

		AGAAGGCCACCTGAGAATCCACCAGGACGGCCTGT ACAGACTGCACATCCAAGTGACCCTGGCCAACTGC AGCAGCCCTGGCTCTACCCTGCAGCACAGAGCCAC ACTGGCCGTGGGCATCTGTAGCCCTGCTGCTCACGG AATCAGCCTGCTGAGAGGCAGATTCGGCCAGGACT GTACCGTGGCCCTGCAGAGGCTGACCTATCTGGTGC ATGGCGACGTGCTGTGCACCAACCTGACACTGCCTC TGCTGCCCAGCAGAAACGCCGACGAAACATTCTTT GGAGTGCAGTGGATTTGTCCTGGGGGAGGCTCCGG AGGCGGACACCCTGAACCTCATACAGCTGAACTGC AGCTGAACCTGACCGTGCCCAGAAAGGACCCCACC CTGAGATGGGGAGCTGGCCCTGCTCTGGGCAGATC CTTTACACACGGCCCCGAGCTGGAAGAAGGCCACC TGAGAATCCACCAGGACGGCCTGTACAGACTGCAC ATCCAAGTGACCCTGGCCAACTGCAGCAGCCCTGG CTCTACCCTGCAGCACAGAGCCACACTGGCCGTGG GCATCTGTAGCCCTGCTGCTCACGGAATCAGCCTGC TGAGAGGCAGATTCGGCCAGGACTGTACCGTGGCC CTGCAGAGGCTGACCTATCTGGTGCATGGCGACGT GCTGTGCACCAACCTGACACTGCCTCTGCTGCCCAG CAGAAACGCCGACGAGACCTTCTTCGGCGTCCAGT GGATCTGCCCCGGAGGCGGTGGTAGTGGAGGTGGC GGGTCCGGTGGAGGTGGAAGCGGCGACGAGGACCC CCAGATCGCCGCCCACGTGGTGTCTGAGGCCAACA GCAACGCCGCCTCTGTGCTGCAGTGGGCCAAGAAA GGCTACTACACCATGAAGTCCAACCTCGTGATGCTG GAAAACGGCAAGCAGCTGACCGTGAAGCGCGAGG GCCTGTACTATGTGTACACCCAAGTGACATTCTGCA GCAACCGCGAGCCCAGCAGCCAGAGGCCTTTTATC GTGGGCCTGTGGCTGAAGCCTAGCAGCGGCAGCGA GAGAATCCTGCTGAAGGCCGCCAACACCCACAGCA GCTCTCAGCTGTGCGAGCAGCAGTCTGTGCACCTGG GAGGCGTGTTCGAGCTGCAAGCTGGCGCTTCCGTGT TCGTGAACGTGACCGAGGCCAGCCAAGTGATCCAC AGAGTGGGCTTCAGCAGCTTTGGACTGCTCAAACT

		GGGCGGAGGGTCCGGCGGAGGCGGAGATGAAGAT CCTCAGATTGCTGCCCACGTGGTGTCTGAGGCCAAC AGCAACGCCGCCTCTGTGCTGCAGTGGGCCAAGAA AGGCTACTACACCATGAAGTCCAACCTCGTGATGCT GGAAAACGGCAAGCAGCTGACCGTGAAGCGCGAG GGCCTGTACTATGTGTACACCCAAGTGACATTCTGC AGCAACCGCGAGCCCAGCAGCCAGAGGCCTTTTAT CGTGGGCCTGTGGCTGAAGCCTAGCAGCGGCAGCG AGAGAATCCTGCTGAAGGCCGCCAACACCCACAGC AGCTCTCAGCTGTGCGAGCAGCAGTCTGTGCACCTG GGAGGCGTGTTCGAGCTGCAAGCTGGCGCTTCCGT GTTCGTGAACGTGACCGAGGCCAGCCAAGTGATCC ACAGAGTGGGCTTCAGCAGCTTTGGACTGCTCAAA CTGGGAGGCGGCTCCGGAGGCGGAGGAGATGAAG ATCCTCAGATTGCTGCCCACGTGGTGTCTGAGGCCA ACAGCAACGCCGCCTCTGTGCTGCAGTGGGCCAAG AAAGGCTACTACACCATGAAGTCCAACCTCGTGAT GCTGGAAAACGGCAAGCAGCTGACCGTGAAGCGCG AGGGCCTGTACTATGTGTACACCCAAGTGACATTCT GCAGCAACCGCGAGCCCAGCAGCCAGAGGCCTTTT ATCGTGGGCCTGTGGCTGAAGCCTAGCAGCGGCAG CGAGAGAATCCTGCTGAAGGCCGCCAACACCCACA GCAGCTCTCAGCTGTGCGAGCAGCAGTCTGTGCAC CTGGGAGGCGTGTTCGAGCTGCAAGCTGGCGCTTC CGTGTTCGTGAACGTGACCGAGGCCAGCCAAGTGA TCCACAGAGTGGGCTTCTCCTCCTTCGGCCTCCTGA AGCTGTGACTCGAGAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAA TTTCTATTAAAGGTTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACT ACTAAACTGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCA TCTGGATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCAT TGCTGCGTCGAGAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATT TCTATTAAAGGTTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACTA CTAAACTGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCAT CTGGATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCATT GCTGCGTCGAGACCTGGTCCAGAGTCGCTAGCAAA

		AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATG ACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAA
74	Мышиный CD27L–CD40L ModA (РНК)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACU CAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGACCGCCCC CAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUG GCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGCGGAUCCC ACCCCGAGCCCCACACCGCCGAACUGCAGCUGAAC CUGACCGUGCCCAGAAAGGACCCCACCCUGAGAU GGGGAGCUGGCCCUGCUCUGGGCAGAUCCUUUAC ACACGGCCCCGAGCUGGAAGAAGGCCACCUGAGA AUCCACCAGGACGGCCUGUACAGACUGCACAUCC AAGUGACCCUGGCCAACUGCAGCAGCCCUGGCUC UACCCUGCAGCACAGAGCCACACUGGCCGUGGGC AUCUGUAGCCCUGCUGCUCACGGAAUCAGCCUGC UGAGAGGCAGAUUCGGCCAGGACUGUACCGUGGC CCUGCAGAGGCUGACCUAUCUGGUGCAUGGCGAC GUGCUGUGCACCAACCUGACACUGCCUCUGCUGCC CAGCAGAAACGCCGACGAAACAUUCUUUGGAGUG CAGUGGAUUUGUCCUGGCGGAGGGUCCGGGGGAG GACACCCAGAACCUCAUACAGCUGAACUGCAGCU GAACCUGACCGUGCCCAGAAAGGACCCCACCCUGA GAUGGGGAGCUGGCCCUGCUCUGGGCAGAUCCUU UACACACGGCCCCGAGCUGGAAGAAGGCCACCUG AGAAUCCACCAGGACGGCCUGUACAGACUGCACA UCCAAGUGACCCUGGCCAACUGCAGCAGCCCUGGC UCUACCCUGCAGCACAGAGCCACACUGGCCGUGG GCAUCUGUAGCCCUGCUGCUCACGGAAUCAGCCU GCUGAGAGGCAGAUUCGGCCAGGACUGUACCGUG GCCCUGCAGAGGCUGACCUAUCUGGUGCAUGGCG ACGUGCUGUGCACCAACCUGACACUGCCUCUGCU GCCCAGCAGAAACGCCGACGAAACAUUCUUUGGA GUGCAGUGGAUUUGUCCUGGGGGAGGCUCCGGAG GCGGACACCCUGAACCUCAUACAGCUGAACUGCA

		GCUGAACCUGACCGUGCCCAGAAAGGACCCCACCC UGAGAUGGGGAGCUGGCCCUGCUCUGGGCAGAUC CUUUACACACGGCCCCGAGCUGGAAGAAGGCCAC CUGAGAAUCCACCAGGACGGCCUGUACAGACUGC ACAUCCAAGUGACCCUGGCCAACUGCAGCAGCCCU GGCUCUACCCUGCAGCACAGAGCCACACUGGCCGU GGGCAUCUGUAGCCCUGCUGCUCACGGAAUCAGC CUGCUGAGAGGCAGAUUCGGCCAGGACUGUACCG UGGCCCUGCAGAGGCUGACCUAUCUGGUGCAUGG CGACGUGCUGUGCACCAACCUGACACUGCCUCUGC UGCCCAGCAGAAACGCCGACGAGACCUUCUUCGG CGUCCAGUGGAUCUGCCCCGGAGGCGGUGGUAGU GGAGGUGGCGGGUCCGGUGGAGGUGGAAGCGGCG ACGAGGACCCCCAGAUCGCCGCCCACGUGGUGUCU GAGGCCAACAGCAACGCCGCCUCUGUGCUGCAGU GGGCCAAGAAAGGCUACUACACCAUGAAGUCCAA CCUCGUGAUGCUGGAAAACGGCAAGCAGCUGACC GUGAAGCGCGAGGGCCUGUACUAUGUGUACACCC AAGUGACAUUCUGCAGCAACCGCGAGCCCAGCAG CCAGAGGCCUUUUAUCGUGGGCCUGUGGCUGAAG CCUAGCAGCGGCAGCGAGAGAAUCCUGCUGAAGG CCGCCAACACCCACAGCAGCUCUCAGCUGUGCGAG CAGCAGUCUGUGCACCUGGGAGGCGUGUUCGAGC UGCAAGCUGGCGCUUCCGUGUUCGUGAACGUGAC CGAGGCCAGCCAAGUGAUCCACAGAGUGGGCUUC AGCAGCUUUGGACUGCUCAAACUGGGCGGAGGGU CCGGCGGAGGCGGAGAUGAAGAUCCUCAGAUUGC UGCCCACGUGGUGUCUGAGGCCAACAGCAACGCC GCCUCUGUGCUGCAGUGGGCCAAGAAAGGCUACU ACACCAUGAAGUCCAACCUCGUGAUGCUGGAAAA CGGCAAGCAGCUGACCGUGAAGCGCGAGGGCCUG UACUAUGUGUACACCCAAGUGACAUUCUGCAGCA ACCGCGAGCCCAGCAGCCAGAGGCCUUUUAUCGU GGGCCUGUGGCUGAAGCCUAGCAGCGGCAGCGAG AGAAUCCUGCUGAAGGCCGCCAACACCCACAGCA

		GCUCUCAGCUGUGCGAGCAGCAGUCUGUGCACCU GGGAGGCGUGUUCGAGCUGCAAGCUGGCGCUUCC GUGUUCGUGAACGUGACCGAGGCCAGCCAAGUGA UCCACAGAGUGGGCUUCAGCAGCUUUGGACUGCU CAAACUGGGAGGCGGCUCCGGAGGCGGAGGAGAU GAAGAUCCUCAGAUUGCUGCCCACGUGGUGUCUG AGGCCAACAGCAACGCCGCCUCUGUGCUGCAGUG GGCCAAGAAAGGCUACUACACCAUGAAGUCCAAC CUCGUGAUGCUGGAAAACGGCAAGCAGCUGACCG UGAAGCGCGAGGGCCUGUACUAUGUGUACACCCA AGUGACAUUCUGCAGCAACCGCGAGCCCAGCAGC CAGAGGCCUUUUAUCGUGGGCCUGUGGCUGAAGC CUAGCAGCGGCAGCGAGAGAAUCCUGCUGAAGGC CGCCAACACCCACAGCAGCUCUCAGCUGUGCGAGC AGCAGUCUGUGCACCUGGGAGGCGUGUUCGAGCU GCAAGCUGGCGCUUCCGUGUUCGUGAACGUGACC GAGGCCAGCCAAGUGAUCCACAGAGUGGGCUUCU CCUCCUUCGGCCUCCUGAAGCUGUGACUCGAGAG CUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGGU UCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAAACUGGG GGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCU GCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCUGCGU CGAGAGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUU AAAGGUUCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAA ACUGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUG GAUUCUGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUUG CUGCGUCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUG ACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAA
75	Мышиный CD27L–CD40L ModB (аминокислоты)	MGAMAPRTLLLLLAAALAPTQTRAGPGSHPEPHTAEL QLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLR IHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRATLAVGICSP AAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLT

		LPLLPSRNADETFFGVQWICPGGGSGGGHPEPHTAEL QLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLR IHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRATLAVGICSP AAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLT LPLLPSRNADETFFGVQWICPGGGSGGGHPEPHTAEL QLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLR IHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRATLAVGICSP AAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLT LPLLPSRNADETFFGVQWICPGGGGSGGGGSGGGGSG DEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKGYYTMKSN LVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCSNREPSSQR PFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLCEQQSVHL GGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSSFGLLKLG GGSGGGGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKG YYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCS NREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLC EQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSS FGLLKLGGGSGGGGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVL QWAKKGYYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVY TQVTFCSNREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKAAN THSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQV IHRVGFSSFGLLKL
76	Мышиный CD27L–CD40L ModB (ДНК:5’–UTR–CDS–3’–UTR)	GGAATAAACTAGTCTCAACACAACATATACAAAAC AAACGAATCTCAAGCAATCAAGCATTCTACTTCTAT TGCAGCAATTTAAATCATTTCTTTTAAAGCAAAAGC AATTTTCTGAAAATTTTCACCATTTACGAACGATAG CCATGGGCGCCATGGCCCCTAGAACATTGCTCCTGC TGCTGGCCGCTGCCCTGGCCCCTACACAGACAAGA GCTGGACCTGGATCCCACCCCGAGCCCCACACCGC CGAACTGCAGCTGAACCTGACCGTGCCCAGAAAGG ACCCCACCCTGAGATGGGGAGCTGGCCCTGCTCTG GGCAGATCCTTTACACACGGCCCCGAGCTGGAAGA AGGCCACCTGAGAATCCACCAGGACGGCCTGTACA GACTGCACATCCAAGTGACCCTGGCCAACTGCAGC AGCCCTGGCTCTACCCTGCAGCACAGAGCCACACT

		GGCCGTGGGCATCTGTAGCCCTGCTGCTCACGGAAT CAGCCTGCTGAGAGGCAGATTCGGCCAGGACTGTA CCGTGGCCCTGCAGAGGCTGACCTATCTGGTGCATG GCGACGTGCTGTGCACCAACCTGACACTGCCTCTGC TGCCCAGCAGAAACGCCGACGAAACATTCTTTGGA GTGCAGTGGATTTGTCCTGGCGGAGGGTCCGGGGG AGGACACCCAGAACCTCATACAGCTGAACTGCAGC TGAACCTGACCGTGCCCAGAAAGGACCCCACCCTG AGATGGGGAGCTGGCCCTGCTCTGGGCAGATCCTTT ACACACGGCCCCGAGCTGGAAGAAGGCCACCTGAG AATCCACCAGGACGGCCTGTACAGACTGCACATCC AAGTGACCCTGGCCAACTGCAGCAGCCCTGGCTCT ACCCTGCAGCACAGAGCCACACTGGCCGTGGGCAT CTGTAGCCCTGCTGCTCACGGAATCAGCCTGCTGAG AGGCAGATTCGGCCAGGACTGTACCGTGGCCCTGC AGAGGCTGACCTATCTGGTGCATGGCGACGTGCTG TGCACCAACCTGACACTGCCTCTGCTGCCCAGCAGA AACGCCGACGAAACATTCTTTGGAGTGCAGTGGAT TTGTCCTGGGGGAGGCTCCGGAGGCGGACACCCTG AACCTCATACAGCTGAACTGCAGCTGAACCTGACC GTGCCCAGAAAGGACCCCACCCTGAGATGGGGAGC TGGCCCTGCTCTGGGCAGATCCTTTACACACGGCCC CGAGCTGGAAGAAGGCCACCTGAGAATCCACCAGG ACGGCCTGTACAGACTGCACATCCAAGTGACCCTG GCCAACTGCAGCAGCCCTGGCTCTACCCTGCAGCA CAGAGCCACACTGGCCGTGGGCATCTGTAGCCCTG CTGCTCACGGAATCAGCCTGCTGAGAGGCAGATTC GGCCAGGACTGTACCGTGGCCCTGCAGAGGCTGAC CTATCTGGTGCATGGCGACGTGCTGTGCACCAACCT GACACTGCCTCTGCTGCCCAGCAGAAACGCCGACG AGACCTTCTTCGGCGTCCAGTGGATCTGCCCCGGAG GCGGTGGTAGTGGAGGTGGCGGGTCCGGTGGAGGT GGAAGCGGCGACGAGGACCCCCAGATCGCCGCCCA CGTGGTGTCTGAGGCCAACAGCAACGCCGCCTCTG TGCTGCAGTGGGCCAAGAAAGGCTACTACACCATG

		AAGTCCAACCTCGTGATGCTGGAAAACGGCAAGCA GCTGACCGTGAAGCGCGAGGGCCTGTACTATGTGT ACACCCAAGTGACATTCTGCAGCAACCGCGAGCCC AGCAGCCAGAGGCCTTTTATCGTGGGCCTGTGGCTG AAGCCTAGCAGCGGCAGCGAGAGAATCCTGCTGAA GGCCGCCAACACCCACAGCAGCTCTCAGCTGTGCG AGCAGCAGTCTGTGCACCTGGGAGGCGTGTTCGAG CTGCAAGCTGGCGCTTCCGTGTTCGTGAACGTGACC GAGGCCAGCCAAGTGATCCACAGAGTGGGCTTCAG CAGCTTTGGACTGCTCAAACTGGGCGGAGGGTCCG GCGGAGGCGGAGATGAAGATCCTCAGATTGCTGCC CACGTGGTGTCTGAGGCCAACAGCAACGCCGCCTC TGTGCTGCAGTGGGCCAAGAAAGGCTACTACACCA TGAAGTCCAACCTCGTGATGCTGGAAAACGGCAAG CAGCTGACCGTGAAGCGCGAGGGCCTGTACTATGT GTACACCCAAGTGACATTCTGCAGCAACCGCGAGC CCAGCAGCCAGAGGCCTTTTATCGTGGGCCTGTGGC TGAAGCCTAGCAGCGGCAGCGAGAGAATCCTGCTG AAGGCCGCCAACACCCACAGCAGCTCTCAGCTGTG CGAGCAGCAGTCTGTGCACCTGGGAGGCGTGTTCG AGCTGCAAGCTGGCGCTTCCGTGTTCGTGAACGTGA CCGAGGCCAGCCAAGTGATCCACAGAGTGGGCTTC AGCAGCTTTGGACTGCTCAAACTGGGAGGCGGCTC CGGAGGCGGAGGAGATGAAGATCCTCAGATTGCTG CCCACGTGGTGTCTGAGGCCAACAGCAACGCCGCC TCTGTGCTGCAGTGGGCCAAGAAAGGCTACTACAC CATGAAGTCCAACCTCGTGATGCTGGAAAACGGCA AGCAGCTGACCGTGAAGCGCGAGGGCCTGTACTAT GTGTACACCCAAGTGACATTCTGCAGCAACCGCGA GCCCAGCAGCCAGAGGCCTTTTATCGTGGGCCTGTG GCTGAAGCCTAGCAGCGGCAGCGAGAGAATCCTGC TGAAGGCCGCCAACACCCACAGCAGCTCTCAGCTG TGCGAGCAGCAGTCTGTGCACCTGGGAGGCGTGTT CGAGCTGCAAGCTGGCGCTTCCGTGTTCGTGAACGT GACCGAGGCCAGCCAAGTGATCCACAGAGTGGGCT

		TCTCCTCCTTCGGCCTCCTGAAGCTGTGACTCGACG TCCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCT TTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTC GGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCAC TCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCA CGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCA CACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAG CAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCC CAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCCTCGA GCTAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAGCATATGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA
77	Мышиный CD27L–CD40L ModB (РНК)	GGAAUAAACUAGUCUCAACACAACAUAUACAAAA CAAACGAAUCUCAAGCAAUCAAGCAUUCUACUUC UAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAGCA AAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGA ACGAUAGCCAUGGGCGCCAUGGCCCCUAGAACAU UGCUCCUGCUGCUGGCCGCUGCCCUGGCCCCUACA CAGACAAGAGCUGGACCUGGAUCCCACCCCGAGCC CCACACCGCCGAACUGCAGCUGAACCUGACCGUGC CCAGAAAGGACCCCACCCUGAGAUGGGGAGCUGG CCCUGCUCUGGGCAGAUCCUUUACACACGGCCCCG AGCUGGAAGAAGGCCACCUGAGAAUCCACCAGGA CGGCCUGUACAGACUGCACAUCCAAGUGACCCUG GCCAACUGCAGCAGCCCUGGCUCUACCCUGCAGCA CAGAGCCACACUGGCCGUGGGCAUCUGUAGCCCU GCUGCUCACGGAAUCAGCCUGCUGAGAGGCAGAU UCGGCCAGGACUGUACCGUGGCCCUGCAGAGGCU GACCUAUCUGGUGCAUGGCGACGUGCUGUGCACC AACCUGACACUGCCUCUGCUGCCCAGCAGAAACGC CGACGAAACAUUCUUUGGAGUGCAGUGGAUUUGU CCUGGCGGAGGGUCCGGGGGAGGACACCCAGAAC CUCAUACAGCUGAACUGCAGCUGAACCUGACCGU GCCCAGAAAGGACCCCACCCUGAGAUGGGGAGCU

		GGCCCUGCUCUGGGCAGAUCCUUUACACACGGCCCCGAGCUGGAAGAAGGCCACCUGAGAAUCCACCAGGACGGCCUGUACAGACUGCACAUCCAAGUGACCCUGGCCAACUGCAGCAGCCCUGGCUCUACCCUGCAGCACAGAGCCACACUGGCCGUGGGCAUCUGUAGCCCUGCUGCUCACGGAAUCAGCCUGCUGAGAGGCAGAUUCGGCCAGGACUGUACCGUGGCCCUGCAGAGGCUGACCUAUCUGGUGCAUGGCGACGUGCUGUGCACCAACCUGACACUGCCUCUGCUGCCCAGCAGAAACGCCGACGAAACAUUCUUUGGAGUGCAGUGGAUUUGUCCUGGGGGAGGCUCCGGAGGCGGACACCCUGAACCUCAUACAGCUGAACUGCAGCUGAACCUGACCGUGCCCAGAAAGGACCCCACCCUGAGAUGGGGAGCUGGCCCUGCUCUGGGCAGAUCCUUUACACACGGCCCCGAGCUGGAAGAAGGCCACCUGAGAAUCCACCAGGACGGCCUGUACAGACUGCACAUCCAAGUGACCCUGGCCAACUGCAGCAGCCCUGGCUCUACCCUGCAGCACAGAGCCACACUGGCCGUGGGCAUCUGUAGCCCUGCUGCUCACGGAAUCAGCCUGCUGAGAGGCAGAUUCGGCCAGGACUGUACCGUGGCCCUGCAGAGGCUGACCUAUCUGGUGCAUGGCGACGUGCUGUGCACCAACCUGACACUGCCUCUGCUGCCCAGCAGAAACGCCGACGAGACCUUCUUCGGCGUCCAGUGGAUCUGCCCCGGAGGCGGUGGUAGUGGAGGUGGCGGGUCCGGUGGAGGUGGAAGCGGCGACGAGGACCCCCAGAUCGCCGCCCACGUGGUGUCUGAGGCCAACAGCAACGCCGCCUCUGUGCUGCAGUGGGCCAAGAAAGGCUACUACACCAUGAAGUCCAACCUCGUGAUGCUGGAAAACGGCAAGCAGCUGACCGUGAAGCGCGAGGGCCUGUACUAUGUGUACACCCAAGUGACAUUCUGCAGCAACCGCGAGCCCAGCAGCCAGAGGCCUUUUAUCGUGGGCCUGUGGCUGAAGCCUAGCAGCGGCAGCGAGAGAAUCCUGCUGAAGGCCGCCAACACCCACAGCAGCUCUCAGCUGUGCGAGCAGCAGUCUGUGCACCUGGGAGGCGUGUUCGAGCUGCAAGCUGG

		CGCUUCCGUGUUCGUGAACGUGACCGAGGCCAGC CAAGUGAUCCACAGAGUGGGCUUCAGCAGCUUUG GACUGCUCAAACUGGGCGGAGGGUCCGGCGGAGG CGGAGAUGAAGAUCCUCAGAUUGCUGCCCACGUG GUGUCUGAGGCCAACAGCAACGCCGCCUCUGUGC UGCAGUGGGCCAAGAAAGGCUACUACACCAUGAA GUCCAACCUCGUGAUGCUGGAAAACGGCAAGCAG CUGACCGUGAAGCGCGAGGGCCUGUACUAUGUGU ACACCCAAGUGACAUUCUGCAGCAACCGCGAGCCC AGCAGCCAGAGGCCUUUUAUCGUGGGCCUGUGGC UGAAGCCUAGCAGCGGCAGCGAGAGAAUCCUGCU GAAGGCCGCCAACACCCACAGCAGCUCUCAGCUGU GCGAGCAGCAGUCUGUGCACCUGGGAGGCGUGUU CGAGCUGCAAGCUGGCGCUUCCGUGUUCGUGAAC GUGACCGAGGCCAGCCAAGUGAUCCACAGAGUGG GCUUCAGCAGCUUUGGACUGCUCAAACUGGGAGG CGGCUCCGGAGGCGGAGGAGAUGAAGAUCCUCAG AUUGCUGCCCACGUGGUGUCUGAGGCCAACAGCA ACGCCGCCUCUGUGCUGCAGUGGGCCAAGAAAGG CUACUACACCAUGAAGUCCAACCUCGUGAUGCUG GAAAACGGCAAGCAGCUGACCGUGAAGCGCGAGG GCCUGUACUAUGUGUACACCCAAGUGACAUUCUG CAGCAACCGCGAGCCCAGCAGCCAGAGGCCUUUU AUCGUGGGCCUGUGGCUGAAGCCUAGCAGCGGCA GCGAGAGAAUCCUGCUGAAGGCCGCCAACACCCA CAGCAGCUCUCAGCUGUGCGAGCAGCAGUCUGUG CACCUGGGAGGCGUGUUCGAGCUGCAAGCUGGCG CUUCCGUGUUCGUGAACGUGACCGAGGCCAGCCA AGUGAUCCACAGAGUGGGCUUCUCCUCCUUCGGC CUCCUGAAGCUGUGACUCGACGUCCUGGUACUGC AUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUG GGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGG UAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCU CUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAA UGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCA

		CGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAA CGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGU UGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUA GCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGC AUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA
Другие последовательности по настоящему изобретению		
78	Поли–А	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAU AUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAA
79	Тяжелая цепь Mab к PD1	EVQLLESGGV LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NFGMTWVRQA PGKGLEWVSG ISGGGRDTYF ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLKGED TAVYYCVKWG NIYFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
80	Легкая цепь Mab к PD1	DIQMTQSPSS LSASVGDSIT ITCRASLSIN TFLNWYQQKP GKAPNLLIYA ASSLHGGVPS RFSGSGSGTD FTLTIRTLQP EDFATYYCQQ SSNTPFTFGP GTVVDFRRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
81	HCDR1	GFTFSNFG

82	HCDR2	ISGGGRDT
83	HCDR3	VKWGNIYFDY
84	LCDR1	LSINTF
85	LCDR2	AAS
86	LCDR3	QQSSNTPFT
87	VH Mab к PD1	EVQLLESGGV LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NFGMTWVRQA PGKGLEWVSG ISGGGRDTYF ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLKGED TAVYYCVKWG NIYFDYWGQG TLVTVSS
88	VL Mab к PD1	DIQMTQSPSS LSASVGDSIT ITCRASLSIN TFLNWYQQKP GKAPNLLIYA ASSLHGGVPS RFSGSGSGTD FTLTIRTLQP EDFATYYCQQ SSNTPFTFGP GTVVDFR

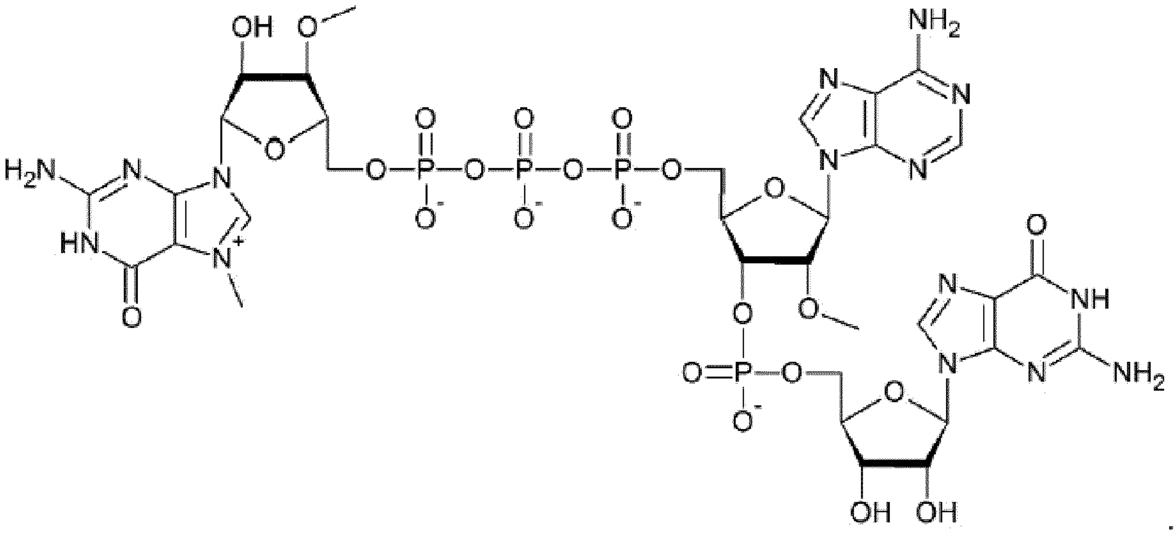
ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

I. Определения

[0051] Термин "ModB" описывает РНК, содержащую модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного (например, каждого) уридина и дополнительно содержащую Cap1–структуру на 5’–конце РНК. В некоторых вариантах осуществления 5’–UTR из РНК ModB содержит SEQ ID NO: 4 или 6. РНК ModB была обработана для уменьшения количества двухцепочечной РНК (dsRNA). "Cap1"–структуру можно получать после трансляции in vitro с помощью ферментативного кэппирования или во время трансляции in vitro (ко–транскрипционное кэппирование).

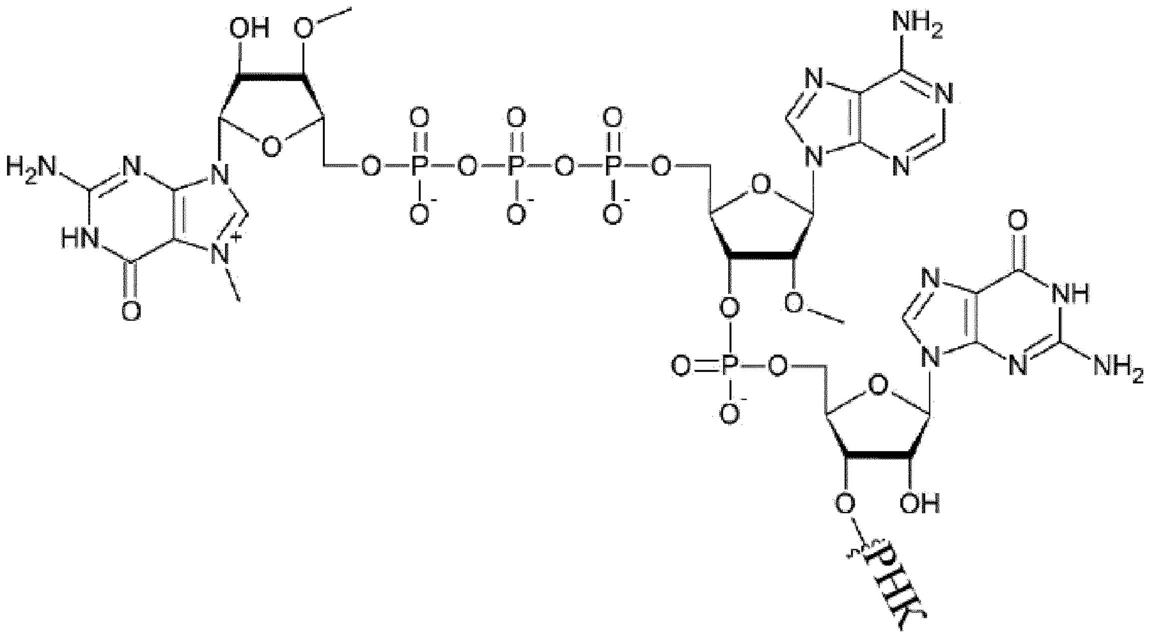
[0052] В некоторых вариантах осуществления кэппирующая последовательности, представляющая собой строительный блок, для модифицированной РНК ModB, которую используют при ко–транскрипционном кэппировании, является следующей:

$m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ (также иногда упоминается как $m_2^{7,3`O}G(5')ppp(5')m^{2'-O}ApG$), которая имеет следующую структуру:



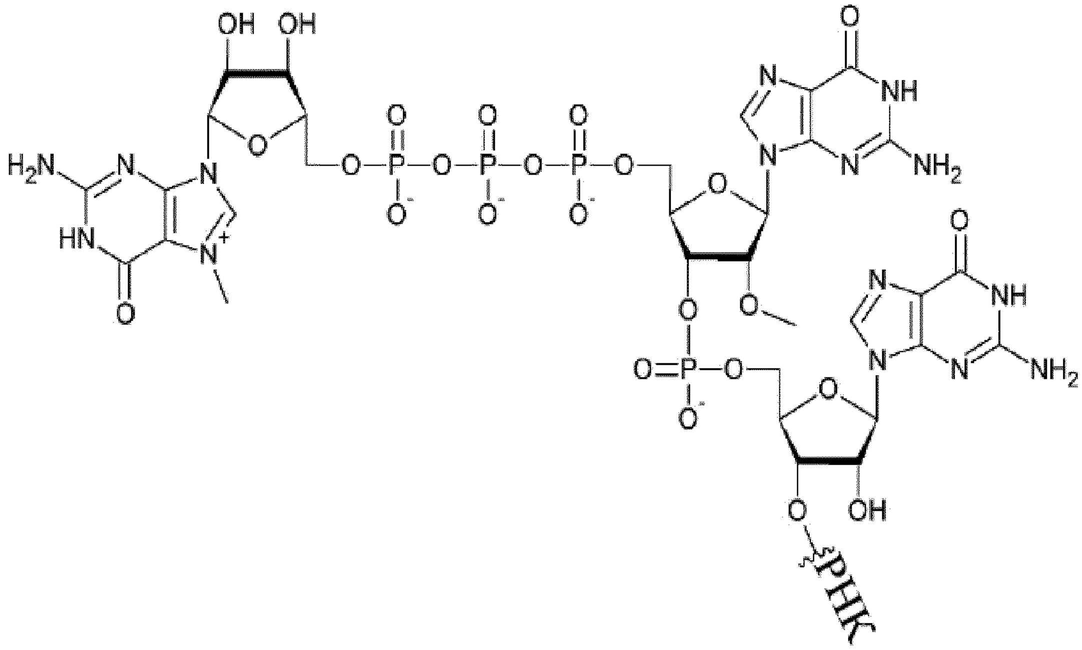
.

[0053] Ниже приведен пример РНК Cap1 после ко–транскрипционного кэппирования, который предусматривает РНК и $m_2^{7,3'O}$G(5')ppp(5')$m^{2'-O}$ApG:

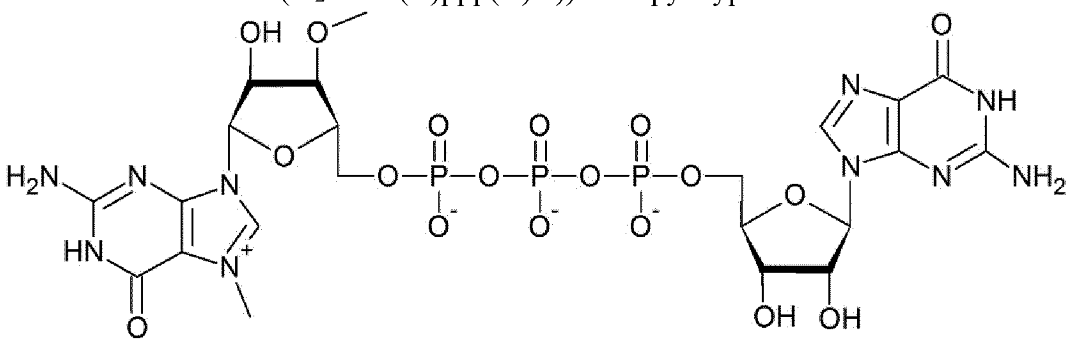


.

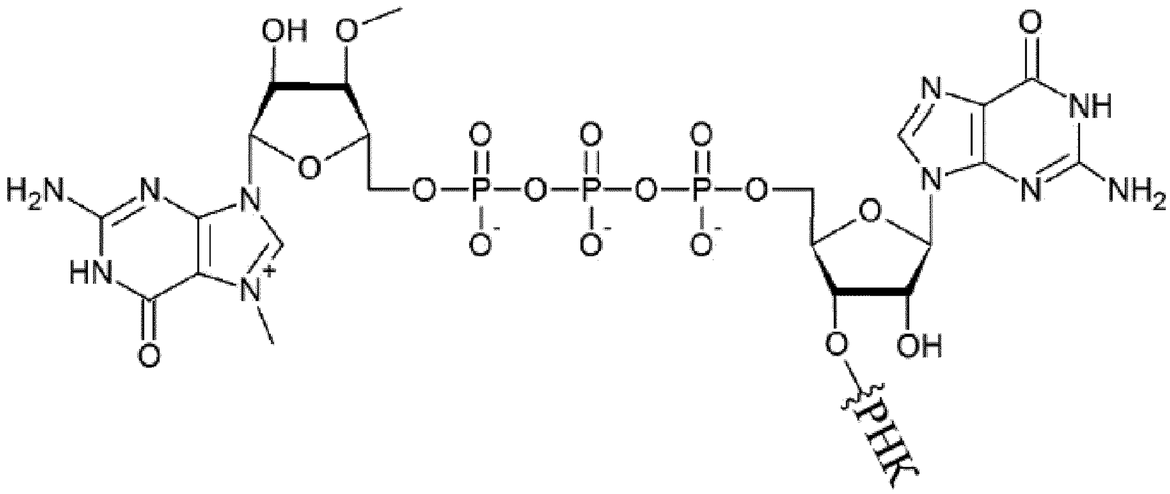
[0054] Ниже приведен другой пример РНК Cap1 после ферментативного кэппирования (без аналога кэппирующей последовательности):



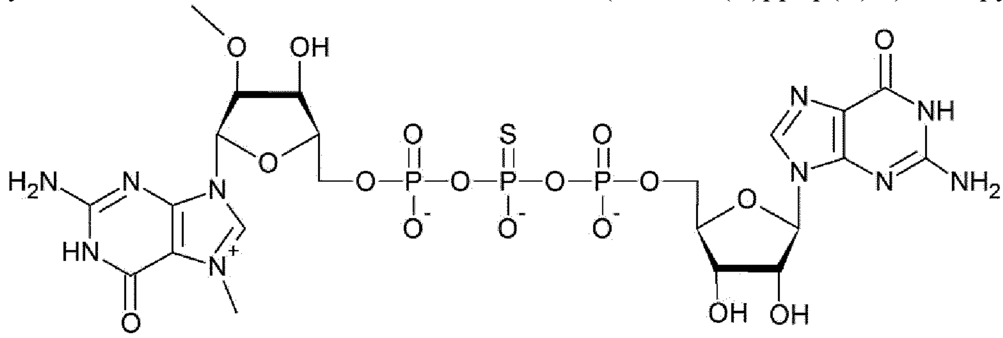
[0055] Термин "ModA" описывает РНК без уменьшения содержания dsRNA, которая не содержит модифицированное нуклеиновое основание вместо по меньшей мере одного уридина. РНК ModA содержит Cap0–структуру на 5'–конце РНК. 5'–UTR из РНК ModA может содержать SEQ ID NO: 2. "Cap0"–структуры образуются во время трансляции in vitro (ко–транскрипционное кэппирование) с использованием в одном варианте осуществления аналога кэппирующей последовательности с правильной ориентацией (кэппирующая последовательность ARCA ($m_2^{7,3`O}$G(5')ppp(5')G)) со структурой:



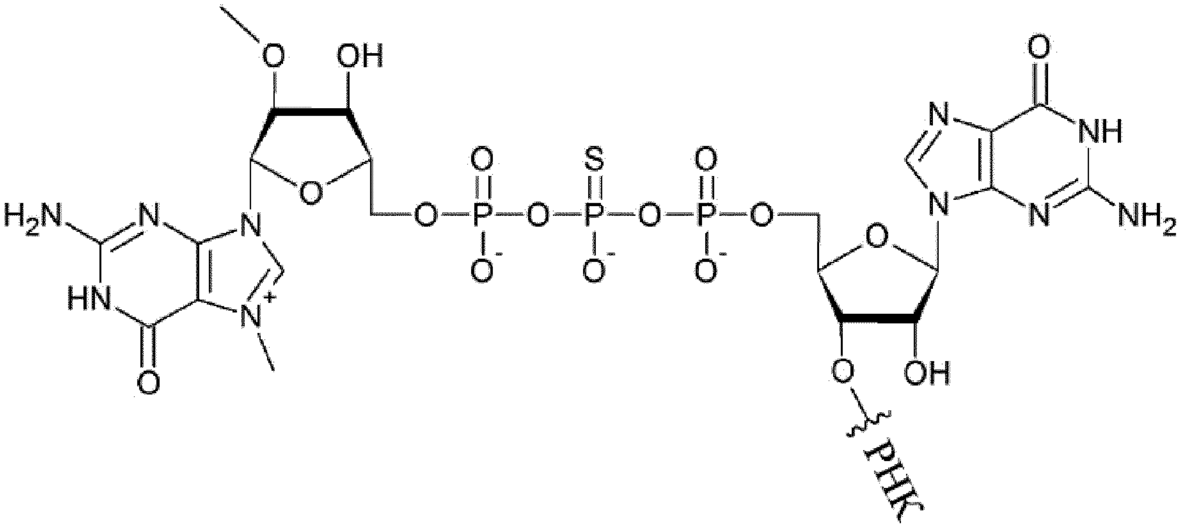
[0056] Ниже приведен пример РНК Cap0, включающий РНК и $m_2^{7,3`O}$G(5')ppp(5')G:



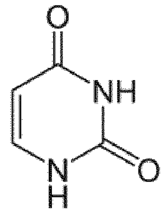
[0057] В некоторых вариантах осуществления "Cap0"–структуры образуются во время трансляции in vitro (ко–транскрипционное кэппирование) с использованием аналога кэппирующей последовательности Beta–S–ARCA ($m_2^{7,2`O}$G(5')ppSp(5')G) со структурой:



[0058] Ниже приведен пример РНК Cap0, включающий Beta–S–ARCA ($m_2^{7,2`O}$G(5')ppSp(5')G) и РНК.

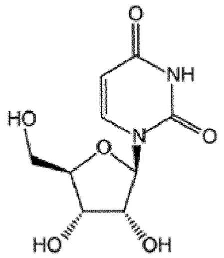


[0059] Используемый в данном документе термин "урацил" описывает одно из нуклеиновых оснований, которое может присутствовать в нуклеиновой кислоте РНК. Структура урацила представляет собой:



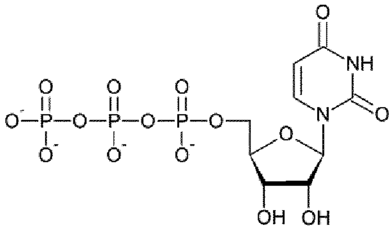
.

[0060] Используемый в данном документе термин "уридин" описывает один из нуклеозидов, который может присутствовать в РНК. Структура уридина представляет собой:



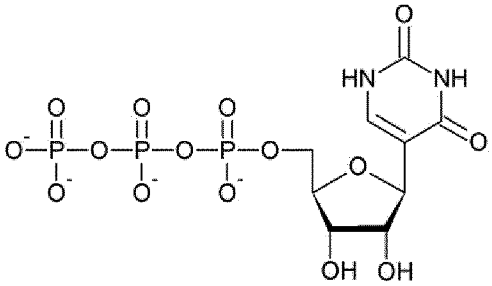
.

[0061] UTP (уридин 5'–трифосфат) имеет следующую структуру:



.

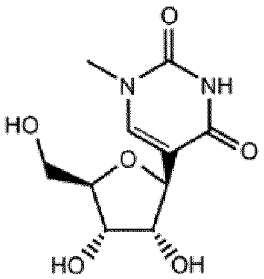
[0062] Псевдо–UTP (псевдоуридин 5'–трифосфат) имеет следующую структуру:



.

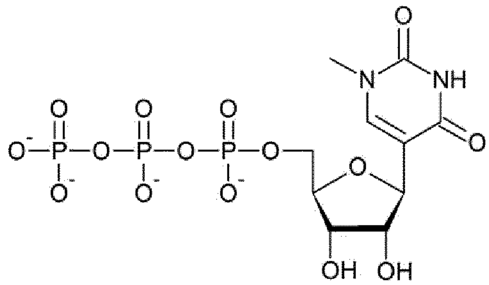
[0063] "Псевдоуридин" представляет собой один из примеров модифицированного нуклеозида, который является изомером уридина, где урацил присоединен к пентозному кольцу через углерод–углеродную связь вместо азот–углеродной гликозидной связи. Псевдоуридин описан, например, в Charette and Gray, *Life*; 49:341–351 (2000).

[0064] Другим иллюстративным модифицированным нуклеозидом является N1–метилпсевдоуридин (m1Ψ), который имеет структуру:



.

[0065] N1–метилпсевдо–UTP имеет следующую структуру:



.

[0066] Используемый в данном документе термин "поли–А–хвост" или "поли–А–последовательность" относится к непрерывной или прерывистой последовательности аденилатных остатков, которая обычно расположена на 3'–конце молекулы РНК. Поли–А–хвосты или поли–А–последовательности известны специалистам в данной области и могут следовать за 3'–UTR в описанных в данном документе РНК. Непрерывный поли–А–хвост характеризуется непрерывно следующими друг за другом аденилатными остатками. В природе типичным является непрерывный поли–А–хвост. Раскрытые в данном документе РНК могут иметь поли–А–хвост, присоединенный к свободному 3'–концу РНК с помощью независимой от матрицы РНК–полимеразы после транскрипции, или поли–А–хвост, кодируемый ДНК и транскрибируемый с помощью зависимой от матрицы РНК–полимеразы.

[0067] Было продемонстрировано, что поли–А–хвост из приблизительно 120 нуклеотидов А оказывает благотворное влияние на уровни РНК в трансфицированных эукариотических клетках, а также на уровни белка, который транслируется с открытой рамки считывания, которая присутствует выше (к 5') от поли–А–хвоста (*Holtkamp et al*., 2006, Blood, vol. 108, pp. 4009–4017).

[0068] Поли–А–хвост может быть любой длины. В одном варианте осуществления поли–А–хвост содержит, по сути состоит, или состоит из по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 80 или по меньшей мере от 100 и до 500, до 400, до 300, до 200 или до 150 нуклеотидов А и, в частности, приблизительно 120 нуклеотидов А. В данном контексте "по сути состоит из" означает, что большинство нуклеотидов в поли–А–хвосте, как правило, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% по количеству нуклеотидов в поли–А–хвосте представляет собой нуклеотиды А, но допускается, что оставшиеся нуклеотиды являются нуклеотидами, отличными от нуклеотидов A, такими как нуклеотиды U (уридилат), нуклеотиды G (гуанилат) или нуклеотиды C (цитидилат). В данном контексте "состоит из" означает, что все нуклеотиды в поли–A–хвосте, т. е. 100% по количеству нуклеотидов в поли–A–хвосте, являются нуклеотидами A. Термин "нуклеотид A" или "A" относится к аденилату.

[0069] В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост присоединяется во время транскрипции РНК, например во время получения in vitro транскрибированной РНК на основе ДНК–матрицы, содержащей повторяющиеся нуклеотиды dT (дезокситимидилат) в цепи, комплементарной кодирующей цепи. Последовательность ДНК, кодирующая поли–A–хвост (кодирующая цепь), упоминается как поли–A–кассета.

[0070] В одном варианте осуществления настоящего изобретения поли–A–кассета, присутствующая в кодирующей цепи ДНК, по сути состоит из нуклеотидов dA, но прерывается случайной последовательностью из четырех нуклеотидов (dA, dC, dG и dT). Такая случайная последовательность может иметь длину от 5 до 50, от 10 до 30 или от 10 до 20 нуклеотидов. Такая кассета раскрыта в WO 2016/005324 A1, включенной в данный документ посредством ссылки. Любую поли–A–кассету, раскрытую в WO 2016/005324 A1, можно использовать в настоящем изобретении. Поли–A–кассета, которая по сути состоит из нуклеотидов dA, но прерывается случайной последовательностью, имеющей равное распределение четырех нуклеотидов (dA, dC, dG, dT) и длину, например, 5–50 нуклеотидов, показывает, на уровне ДНК, постоянное размножение плазмидной ДНК в E. coli и все еще соотносится, на уровне РНК, с полезными свойствами в отношении поддержания стабильности и эффективности трансляции РНК. Следовательно, в одном варианте осуществления настоящего изобретения поли–A–хвост, содержащийся в молекуле РНК, описанной в данном документе, по сути состоит из нуклеотидов A, но прерывается случайной последовательностью из четырех нуклеотидов (A, C, G, U). Такая случайная последовательность может иметь длину от 5 до 50, от 10 до 30 или от 10 до 20 нуклеотидов.

[0071] В одном варианте осуществления настоящего изобретения никакие нуклеотиды кроме нуклеотидов A не фланкируют поли–A–хвост на его 3’–конце, т. е. поли–A–хвост не маскируют на его 3’–конце нуклеотидом, отличным от A или он не следует за ним.

[0072] В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит последовательность:
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAA (SEQ ID NO: 78), которая также показана в таблице 2 после последовательности 3’–UTR.

[0073] Термины "РНК" и "mRNA"используют в данном документе взаимозаменяемо.

[0074] Термин "IFNα" используют в данном документе в общем смысле для описания любого цитокина интерферона–альфа типа I, включая IFNα2b и IFNα4. В экспериментах, описанных в разделе "Примеры", использовали IFNα2b человека и IFNα4 мыши. Любой IFNα можно включить в композиции и использовать в описанных в данном документе способах.

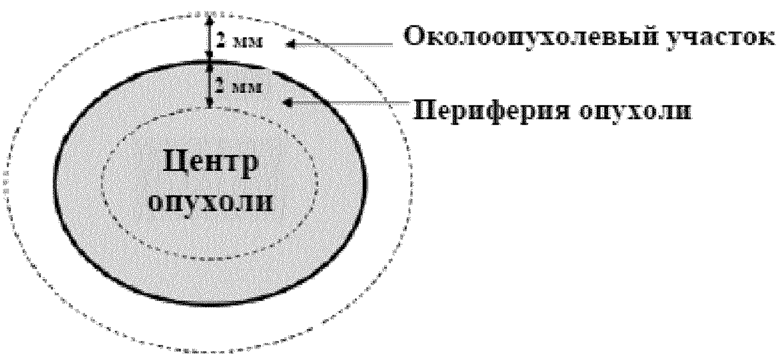
[0075] Используемый в данном документе термин "лечение" охватывает любое введение или применение терапевтического средства в отношении заболевания у субъекта и включает в себя подавление заболевания, прекращение его развития, ослабление одного или нескольких симптомов заболевания, излечение заболевания или предупреждение рецидива заболевания. Например, лечение солидной опухоли может включать ослабление симптомов, связанных с солидной опухолью, уменьшение размера солидной опухоли, устранение солидной опухоли, уменьшение дальнейшего роста опухоли или уменьшение или устранение рецидива солидной опухоли после лечения. Лечение также можно измерить в виде изменения уровня биомаркера эффективности или при визуализирующем или рентгенографическом измерении.

[0076] Используемый в данном документе термин "предупреждение" означает подавление или остановку развития рака, включая солидные опухоли, у субъекта, который считается свободным от рака.

[0077] "Метастазирование" означает процесс, посредством которого рак распространяется от места, в котором он впервые возник как первичная опухоль, к другим участкам тела.

[0078] Используемый в данном документе термин "внутрь опухоли" означает в опухоль. Например, внутриопухолевая инъекция означает инъекцию терапевтического средства в любое место, которое соотносится с опухолью.

[0079] Используемый в данном документе термин "рядом с опухолью" или "околоопухолевый" представляет собой область шириной приблизительно 2 мм и является смежной с инвазивным фронтом периферии опухоли. Околоопухолевая область предусматривает ткань хозяина. См., например:



[0080] "Введение" означает предоставление фармацевтических средства или композиции субъекту и включает, без ограничения, введение, осуществленное медицинским работником, и самостоятельное введение.

[0081] В настоящем изобретении описаны последовательности нуклеиновых кислот и аминокислотные последовательности, характеризующиеся определенной степенью идентичности с данной последовательностью нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательностью, соответственно (эталонная последовательность).

[0082] "Идентичность последовательностей" двух последовательностей нуклеиновых кислот указывает на процентное содержание нуклеотидов, которые являются идентичными в двух последовательностях. "Идентичность последовательностей" двух аминокислотных последовательностей указывает на процентное содержание аминокислот, которые являются идентичными в двух последовательностях.

[0083] Термины "идентичный %", "% идентичность" или подобные термины предназначены для обозначения, в частности, процентного содержания нуклеотидов или аминокислот, которые являются идентичными при оптимальном выравнивании в сравниваемых последовательностях. Указанное процентное содержание является чисто статистическим, и различия между двумя последовательностями могут быть, но не обязательно, случайным образом распределены по всей длине сравниваемых последовательностей. Сравнение двух последовательностей обычно выполняют путем сравнения указанных последовательностей после оптимального выравнивания относительно сегмента или "окна сравнения", чтобы идентифицировать локальные области соответствующих последовательностей. Оптимальное выравнивание для сравнения можно выполнить вручную или с помощью алгоритма поиска локальной гомологии по Smith and Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482, с помощью алгоритма поиска локальной гомологии по Neddleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48, 443, с помощью способа поиска совпадений по Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2444, или с помощью компьютерных программ, в которых применяют указанные алгоритмы (GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Мэдисон, Висконсин).

[0084] Процент идентичности получают путем определения числа идентичных положений, при которых сравниваемые последовательности совпадают, деления этого числа на число сравниваемых положений (например, число положений в эталонной последовательности) и умножения этого результата на 100.

[0085] В некоторых вариантах осуществления степень идентичности дана для области, которая составляет по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90% или приблизительно 100% от полной длины эталонной последовательности. Например, если эталонная последовательность нуклеиновой кислоты состоит из 200 нуклеотидов, то степень идентичности дана для по меньшей мере приблизительно 100, по меньшей мере приблизительно 120, по меньшей мере приблизительно 140, по меньшей мере приблизительно 160, по меньшей мере приблизительно 180 или приблизительно 200 нуклеотидов, в некоторых вариантах осуществления для непрерывных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления степень идентичности дана для полной длины эталонной последовательности.

[0086] Последовательности нуклеиновой кислоты или аминокислотные последовательности, характеризующиеся определенной степенью идентичности с данной последовательностью нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательностью соответственно, могут иметь по меньшей мере одно функциональное свойство данной указанной последовательности, например, и в некоторых случаях функционально эквивалентны данной указанной последовательности. Одно важное свойство предусматривает способность действовать в качестве цитокина, в частности, при введении субъекту. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты или аминокислотная последовательность, характеризующаяся определенной степенью идентичности с данной последовательностью нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательностью, функционально эквивалентна данной указанной последовательности.

II. Композиции и медицинские препараты

A. Интерлейкин–2 (IL–2)

[0087] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, кодирующую интерлейкин–2 (IL–2) (SEQ ID NO: 9). В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК, кодирующая IL–2, представлена под SEQ ID NO: 10.

[0088] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК, кодирующую IL–2. В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная последовательность ДНК содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК с 83%, 84%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 11.

[0089] Выравнивание кодон–оптимизированного IL–2 с нативным IL–2 показано ниже, где "Q" представляет собой нативный IL–2 (NM_000586.3; SEQ ID NO: 10), и "S" представляет собой кодон–оптимизированный IL–2 (SEQ ID NO: 11). Процент идентичности составляет 82,79%.

```
Q:      1 ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT 60
          |||||||| ||||| || |||||||||||||| ||   |||||| ||||| |||||   |
S:      1 ATGTACAGAATGCAGCTGCTGTCTTGCATTGCTCTTTCTCTTGCTCTTGTGACAAATTCT 60

Q:     61 GCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACTGGAGCATTTACTGCTGGAT 120
          || || || ||   ||| ||||||||||||||||| || || || ||  | || || |||
S:     61 GCTCCAACATCTTCTTCAACAAAGAAAACACAGCTTCAGCTTGAACACCTTCTTCTTGAT 120

Q:    121 TTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTC 180
           | ||||||||| |||||||||| || |||||||| ||||| ||||| || || ||||| 
S:    121 CTTCAGATGATTCTGAATGGAATCAACAATTACAAAAATCCAAAACTGACAAGAATGCTG 180

Q:    181 ACATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAA 240
          |||||||| ||||||||||| ||||| || |||||||||||||| |||||||| || |||
S:    181 ACATTTAAATTTTACATGCCAAAGAAAGCAACAGAACTGAAACACCTTCAGTGCCTTGAA 240

Q:    241 GAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTTTCACTTA 300
          |||||||| ||||||||||| |||||||| ||| | ||||| |||||||| |||||| | 
S:    241 GAAGAACTGAAACCTCTGGAAGAAGTGCTGAATCTGGCTCAGAGCAAAAATTTTCACCTG 300

Q:    301 AGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAA 360
          ||||| || ||  | |||||||| ||||| || || || |||||||| || |||||||||
S:    301 AGACCAAGAGATCTGATCAGCAACATCAATGTGATTGTGCTGGAACTGAAAGGATCTGAA 360

Q:    361 ACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGA 420
          ||||||||||||||||||||||||||||| |||||||| ||||| |||||||||||||||
S:    361 ACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAAACAGCAACAATTGTGGAATTTCTGAACAGA 420

Q:    421 TGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACT 459
          ||||| || ||||| ||    ||||| ||||||||||| 
S:    421 TGGATCACATTTTGCCAGTCAATCATTTCAACACTGACA 459
```

[0090] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, транскрибированную с последовательности ДНК, кодирующей IL–2. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 10 или 11. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из SEQ ID NO: 12 или 13. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из последовательности РНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 12 или 13.

[0091] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–2 заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

[0092] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–2 содержит измененный нуклеотид на 5'–конце. В некоторых вариантах осуществления РНК IL–2 содержит 5'–кэппирующую последовательность. Можно применять любую 5'–кэппирующую последовательность, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 5'–5'–трифосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 5'–5'–трифосфатную связь, включая тиофосфатную модификацию. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 2′–*O*– или 3′–*O*–рибозо–метилированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит модифицированный гуанозиновый нуклеотид или модифицированный аденозиновый нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 7–метилгуанилат. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность представляет собой Cap0 или Cap1. Иллюстративные кэп–структуры включают m7G(5')ppp(5')G, m7,2`*O*–mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2`*O*–mG и m7,3`*O*–mG(5')ppp(5')2`*O*–mA.

[0093] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–2 содержит 5'–нетранслируемую область (UTR). В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR находится выше инициирующего кодона. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR регулирует трансляцию РНК. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR является стабилизирующей последовательностью. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR увеличивает время полужизни РНК. Можно применять любую 5'–UTR, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1, 3 или 5. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 2, 4 или 6. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

[0094] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–2 содержит 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR следует за кодоном терминации трансляции. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR регулирует полиаденилирование, эффективность трансляции, локализацию или стабильность РНК. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 8.

[0095] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–2 содержит как 5'–UTR, так и 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит только 5'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит только 3'–UTR.

[0096] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–2 содержит поли–A–хвост. В некоторых вариантах осуществления РНК содержит поли–A–хвост из по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 50, по меньшей мере приблизительно 70 или по меньшей мере приблизительно 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит 200 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит или состоит из SEQ ID NO: 78.

[0097] В некоторых вариантах осуществления РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую IL–2, 3'–UTR и поли–А–хвост в этом порядке.

[0098] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 10 или 11 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 1, 3 или 5.

[0099] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 10 или 11 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–2 заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00100] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 10 или 11 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00101] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 10 или 11 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–2 заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00102] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит

последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 10 или 11; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00103] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 10 или 11; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно.

[00104] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–2 заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00105] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 12 или 13; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 2, 4 или 6 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–2 заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

B. Одноцепочечный интерлейкин–12 (IL–12sc)

[00106] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, кодирующую одноцепочечный интерлейкин–12 (IL–12sc) (например, SEQ ID NO: 14), которая содержит IL–12p40 (иногда упоминаемый как IL–12B), линкер, такой как GS–линкер, и IL–12p35 (иногда упоминаемый как IL–12A). В некоторых вариантах осуществления IL–12p40, линкер и IL–12p35 являются последовательными без

промежуточных нуклеотидов. Иллюстративная последовательность ДНК, кодирующая IL–12sc, представлена под SEQ ID NO: 15.

[00107] Выравнивание кодон–оптимизированного IL–12p40 с нативным IL–12p40 показано ниже, где "S" представляет собой нативный IL–12p40 (NM_002187.2; нуклеотиды 1–984 из SEQ ID NO: 15), и "Q" представляет собой кодон–оптимизированный IL–12p40 (нуклеотиды 1–984 из SEQ ID NO: 16). Процент идентичности составляет 77%.

```
Q:    1 ATGTGTCACCAGCAGCTGGTGATCTCATGGTTCTCCCTGGTATTTCTGGCATCTCCTCTT 60
S:    1 ATGTGTCACCAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTTCTGGCATCTCCCCTC 60

Q:   61 GTCGCAATCTGGGAACTGAAGAAAGACGTGTATGTCGTTGAGCTCGACTGGTATCCGGAT 120
S:   61 GTGGCCATATGGGAACTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATCCGGAT 120

Q:  121 GCGCCTGGCGAGATGGTGGTGCTGACCTGTGACACCCCAGAGGAGGATGGGATCACTTGG 180
S:  121 GCCCCTGGAGAAATGGTGGTCCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGG 180

Q:  181 ACCCTTGATCAATCCTCCGAAGTGCTCGGGTCTGGCAAGACTCTGACCATACAAGTGAAA 240
S:  181 ACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCTGGCAAAACCCTGACCATCCAAGTCAAA 240

Q:  241 GAGTTTGGCGATGCCGGGCAGTACACTTGCCATAAGGGCGGAGAAGTTCTGTCCCACTCA 300
S:  241 GAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCACAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTCG 300

Q:  301 CTGCTGCTGCTGCACAAGAAAGAGGACGGAATTTGGAGTACCGATATCCTGAAAGATCAG 360
S:  301 CTCCTGCTGCTTCACAAAAAGGAAGATGGAATTTGGTCCACTGATATTTTAAAGGACCAG 360

Q:  361 AAAGAGCCCAAGAACAAAACCTTCTTGCGGTGCGAAGCCAAGAACTACTCAGGGAGATTT 420
S:  361 AAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGAGGCCAAGAATTATTCTGGACGTTTC 420

Q:  421 ACTTGTTGGTGGCTGACGACGATCAGCACCGATCTGACTTTCTCCGTGAAATCAAGTAGG 480
S:  421 ACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATTTGACATTCAGTGTCAAAAGCAGCAGA 480

Q:  481 GGATCATCTGACCCTCAAGGAGTCACATGTGGAGCGGCTACTCTGAGCGCTGAACGCGTA 540
S:  481 GGCTCTTCTGACCCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGCTACACTCTCTGCAGAGAGAGTC 540

Q:  541 AGAGGGGACAATAAGGAGTACGAGTATAGCGTTGAGTGCCAAGAGGATAGCGCATGCCCC 600
S:  541 AGAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCCA 600

Q:  601 GCCGCCGA--AGAATCATTGCCCATTGAAGTGATGGTGGATGCTGTACACAAGCTGAAGT 658
S:  601 GCTGCTGAGGAGAGTC-T-GCCCATTGAGGTCATGGTGGATGCCGTTCACAAGCTCAAGT 658

Q:  659 ATGAGAACTACACAAGCTCCTTCTTCATCCGTGACATCATCAAACCAGATCCTCCTAAGA 718
S:  659 ATGAAAACTACACCAGCAGCTTCTTCATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCACCCAAGA 718

Q:  719 ACCTCCAGCTTAAACCTCTGAAGAACTCTAGACAGGTGGAAGTGTCTTGGGAGTATCCCG 778
S:  719 ACTTGCAGCTGAAGCCATTAAAGAATTCTCGGCAGGTGGAGGTCAGCTGGGAGTACCCTG 778

Q:  779 ACACCTGGTCTACACCACATTCCTACTTCAGTCTCACATTCTGCGTTCAGGTACAGGGCA 838
S:  779 ACACCTGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCTGCGTTCAGGTCCAGGGCA 838

Q:  839 AGTCCAAAAGGGAGAAGAAGGATCGGGTCTTTACAGATAAAACAAGTGCCACCGTTATAT 898
S:  839 AGAGCAAGAGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTCACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCATCT 898
```

```
Q:   899 GCCGGAAGAATGCCTCTATTTCTGTGCGTGCGCAGGACAGATACTATAGCAGCTCTTGGA 958
         |||| || ||||||   |||   ||||| || |||||| | |||||||||   |||||||
S:   899 GCCGCAAAAATGCCAGCATTAGCGTGCGGGCCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGA 958

Q:   959 GTGAATGGGC--CAGTGTCCCATGTTCA 984
         | ||||||||  | ||| ||| ||  ||
S:   959 GCGAATGGGCATCTGTG-CCC-TG--CA 982
```

[00108] Выравнивание кодон–оптимизированного IL–12p35 с нативным IL–12p35 показано ниже, где "S" представляет собой нативный IL–12p35 (NM_00882.3; нуклеотиды 1027–1623 из SEQ ID NO: 15), и "Q" представляет собой кодон–оптимизированный IL–12p35 (нуклеотиды 1027–1623 из SEQ ID NO: 16). Процент идентичности составляет 80%.

```
Q:     1 AGAAATCTCCCTGTGGCTACACCTGATCCAGGCATGTTTCCCTGTTTGCACCATAGCCAA 60
         ||||| ||||| ||||| || || || ||||| ||||| || ||  | |||||   ||||
S:     1 AGAAACCTCCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTCACCACTCCCAA 60

Q:    61 AACCTCCTGAGAGCAGTCAGCAACATGCTCCAGAAAGCTAGACAAACACTGGAATTCTAC 120
         ||||| ||||| || |||||||||||||||||||| || |||||||| || ||||| |||
S:    61 AACCTGCTGAGGGCCGTCAGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGACAAACTCTAGAATTTTAC 120

Q:   121 CCATGCACCTCCGAGGAAATAGATCACGAGGATATCACTAAGGACAAAACAAGCACTGTC 180
         || ||||| || || || || ||||| || |||||||| || || ||||| ||||| || 
S:   121 CCTTGCACTTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCACAAAAGATAAAACCAGCACAGTG 180

Q:   181 GAAGCATGCCTTCCCTTGGAACTGACAAAGAACGAGAGTTGCCTTAATTCAAGAGAAACA 240
         || || ||  | || |||||| | || ||||| ||||||||||| ||||| ||||| || 
S:   181 GAGGCCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCTAAATTCCAGAGAGACC 240

Q:   241 TCTTTCATTACAAACGGTAGCTGCTTGGCAAGCAGAAAAACATCTTTTATGATGGCCCTT 300
         |||||||| || || || || ||| ||||   |||||| || ||||||||||||||||| 
S:   241 TCTTTCATAACTAATGGGAGTTGCCTGGCCTCCAGAAAGACCTCTTTTATGATGGCCCTG 300

Q:   301 TGTCTGAGCAGTATTTATGAGGATCTCAAAATGTACCAGGTGGAGTTTAAGACCATGAAT 360
         || || || ||||||||||| ||  | || ||||||||||||||||| ||||||||||||
S:   301 TGCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGACCATGAAT 360

Q:   361 GCCAAGCTGCTGATGGACCCAAAGAGACAGATTTTCCTCGATCAGAATATGCTGGCTGTG 420
         || ||||| |||||||| || ||||| ||||| || || ||||| || |||||||| || 
S:   361 GCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTT 420

Q:   421 ATTGATGAACTGATGCAGGCCTTGAATTTCAACAGCGAAACCGTTCCCCAGAAAAGCAGT 480
         |||||||| |||||||||||| ||||||||||||| || || || || || |||  |   
S:   421 ATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCC 480

Q:   481 CTTGAAGAACCTGACTTTTATAAGACCAAGATCAAACTGTGTATTCTCCTGCATGCCTTT 540
         ||||||||||| || |||||||| || || ||||| || || || || || ||||| || 
S:   481 CTTGAAGAACCGGATTTTTATAAAACTAAAATCAAGCTCTGCATACTTCTTCATGCTTTC 540

Q:   541 AGAATCAGAGCAGTCACTATAGATAGAGTGATGTCCTACCTGAATGCTTCC 591
         |||||  | ||||| ||||| ||||||||||||  ||| ||||||||||||
S:   541 AGAATTCGGGCAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCC 591
```

[00109] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК, кодирующую IL–12sc. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК, кодирующую IL–12p40. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК, кодирующую IL–12p35. В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная

последовательность ДНК содержит или состоит из SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная последовательность ДНК, кодирующая IL–12p40, содержит нуклеотиды, кодирующие IL–12sc–p40 (нуклеотиды 1–984 из SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная последовательность ДНК, кодирующая IL–12p35, содержит нуклеотиды, кодирующие IL–12sc–p35 (нуклеотиды 1027–1623 из SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная последовательность ДНК, кодирующая IL–12sc, содержит нуклеотиды, кодирующие части IL–12sc–p40 (нуклеотиды 1–984 из SEQ ID NO: 16) и –p35 (нуклеотиды 1027–1623 из SEQ ID NO: 16) из SEQ ID NO: 16 и дополнительно содержит нуклеотиды между частями p40 и p35 (например, нуклеотиды 985–1026 из SEQ ID NO: 16), кодирующие линкерный полипептид, соединяющий части p40 и p35. Можно применять любой линкер, известный специалисту в данной области. Часть p40 может быть 5' или 3' относительно части p35.

[00110] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, кодирующей IL–12sc. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 15 или 16. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из SEQ ID NO: 17 или 18. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из последовательности РНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 17 или 18. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит нуклеотиды, кодирующие части IL–12sc–p40 (нуклеотиды 1–984 из SEQ ID NO: 17 или 18) и –p35 (нуклеотиды 1027–1623 из SEQ ID NO: 17 или 18) из SEQ ID NO: 17 или 18. В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная последовательность РНК, кодирующая IL–12sc, содержит нуклеотиды, кодирующие части IL–12sc–p40 (нуклеотиды 1–984 из SEQ ID NO: 18) и –p35 (нуклеотиды 1027–1623 из SEQ ID NO: 18) из SEQ ID NO: 18 и дополнительно содержит нуклеотиды между частями p40 и p35, кодирующие линкерный полипептид, соединяющий части p40 и p35. Можно применять любой линкер, известный специалисту в данной области.

[00111] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–12sc заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00112] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc содержит измененный нуклеотид на 5'–конце. В некоторых вариантах осуществления РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность. Можно применять любую 5'–кэппирующую последовательность, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 5'–5'–трифосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 5'–5'–трифосфатную связь, включая тиофосфатную модификацию. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 2′–*O*– или 3′–*O*–рибозо–метилированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит модифицированный гуанозиновый нуклеотид или модифицированный аденозиновый нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 7–метилгуанилат. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность представляет собой Cap0 или Cap1. Иллюстративные кэп–структуры включают m7G(5')ppp(5')G, m7,2`*O*–mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2`*O*–mG и m7,3`*O*–mG(5')ppp(5')2`*O*–mA.

[00113] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc содержит 5'–нетранслируемую область (UTR). В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR находится выше инициирующего кодона. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR регулирует трансляцию РНК. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR является стабилизирующей последовательностью. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR увеличивает время полужизни РНК. Можно применять любую 5'–UTR, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR транскрибирована с SEQ ID NO: 1, 3 или 5. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 2, 4 или 6. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

[00114] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc содержит 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR следует за кодоном терминации трансляции. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR регулирует полиаденилирование, эффективность трансляции, локализацию или стабильность РНК. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR транскрибирована с SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 8.

[00115] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–12sc содержит как 5'–UTR, так и 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция IL–12sc содержит только 5'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция IL–12sc содержит только 3'–UTR.

[00116] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc содержит поли–A–хвост. В некоторых вариантах осуществления РНК содержит поли–A–хвост из по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 50 нуклеотидов, по меньшей мере приблизительно 70 нуклеотидов или по меньшей мере приблизительно 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит 200 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит или состоит из SEQ ID NO: 78.

[00117] В некоторых вариантах осуществления РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую IL–12sc, 3'–UTR и поли–A–хвост в этом порядке.

[00118] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 15 или 16 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 1, 3 или 5.

[00119] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 15 или 16 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–12sc заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00120] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 15 или 16 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00121] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 15 или 16 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%,

98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–12sc заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00122] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 15 или 16; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00123] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 15 или 16; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–12sc заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00124] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 17 или 18; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 2, 4 или 6 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–12sc заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин,

представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

C. Интерферон–альфа (IFNα)

[00125] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, кодирующую интерферон–альфа (IFNα) (например, SEQ ID NO: 19). Иллюстративная последовательность ДНК, кодирующая этот IFNα, представлена под SEQ ID NO: 20.

[00126] Выравнивание кодон–оптимизированного IFNα с нативным IFNα показано ниже, где "S" представляет собой нативный IFNα (NM_000605.3; SEQ ID NO: 20), и "Q" представляет собой кодон–оптимизированный IFNα (SEQ ID NO: 21). Процент идентичности составляет 79%.

```
Q:    1 ATGGCCCTGACTTTTGCCCTTCTCGTGGCTTTGTTGGTGCTGAGTTGCAAATCTTCCTGT 60
        |||||| |||| |||||  | || |||||  |  ||||||| || ||||| ||   ||| 
S:    1 ATGGCCTTGACCTTTGCTTTACTGGTGGCCCTCCTGGTGCTCAGCTGCAAGTCAAGCTGC 60

Q:   61 AGTGTCGGATGTGATCTGCCTCAAACCCACAGTCTGGG-ATCTAGGAGAACACTGATGCT 119
          ||| || ||||||||||||||||||||||| ||||| | | ||||| ||  |||||||
S:   61 TCTGTGGGCTGTGATCTGCCTCAAACCCACAGCCTGGGTAGC-AGGAGGACCTTGATGCT 119

Q:  120 GTTGGCACAGATGAGGAGAAT-TAGC-CTCTTTTCCTGCCTGAAGGATAGACATGACTTC 177
          ||||||||||||||||||| |  | || || |||||| ||||||| ||||||||||| 
S:  120 CCTGGCACAGATGAGGAGAATCT--CTCTTTTCTCCTGCTTGAAGGACAGACATGACTTT 177

Q:  178 GGCTTTCCCCAAGAGGAGTTTGGCAATCAGTTCCAGAAAGCGGAAACGATTCCCGTTCTG 237
        || |||||||| |||||||||||||| |||||||| || || ||||| || || || || 
S:  178 GGATTTCCCCAGGAGGAGTTTGGCAACCAGTTCCAAAAGGCTGAAACCATCCCTGTCCTC 237

Q:  238 CACGAGATGATCCAGCAGATCTTCAACCTCTTTTCAAC-CAAAG-ACAGCTCAGCAGCCT 295
        || ||||||||||||||||||||||| |||||  || | ||||| ||   || || || |
S:  238 CATGAGATGATCCAGCAGATCTTCAATCTCTT--CAGCACAAAGGACTCATCTGCTGCTT 295

Q:  296 GGGATGAGACACTGCTGGACAAATTCTACACAGAACTGTATCAGCAGCTTAACGATCTGG 355
        |||||||||| || || |||||||||||||| ||||| || |||||||| || || ||||
S:  296 GGGATGAGACCCTCCTAGACAAATTCTACACTGAACTCTACCAGCAGCTGAATGACCTGG 355

Q:  356 AGGCATGCGTGATCCAAGGGGTTGGTGTGACTGAAACTCCGCTTATGAAGGAGGACTCCA 415
        | || || ||||| || ||||| ||  ||||| || ||||| || ||||||||||||||||
S:  356 AAGCCTGTGTGATACAGGGGGTGGGGGTGACAGAGACTCCCCTGATGAAGGAGGACTCCA 415

Q:  416 TTCTGGCTGTACGGAAGTACTTCCAGAGAATAACCCTCTATCTGAAGGAGAAGAAGTACT 475
        ||||||||||  |||| |||||||| ||||| || ||||||||||| |||||||| ||| 
S:  416 TTCTGGCTGTGAGGAAATACTTCCAAAGAATCACTCTCTATCTGAAAGAGAAGAAATACA 475

Q:  476 CACCATGTGCTTGGGAAGTCGTGAGAGCCGAAATCATGAGATCCTTCAGCCTTAG-CACC 534
          || ||||| ||||| || || ||||| |||||||||||||| ||   | || | || |
S:  476 GCCCTTGTGCCTGGGAGGTTGTCAGAGCAGAAATCATGAGATC-TTTTTC-TTTGTCAAC 533

Q:  535 AATC-TCCAGGAATCTCTGAGAAGCAAAGAG 564
        || | | || |||  | | ||||| || || 
S:  534 AAACTTGCAAGAAAGTTTAAGAAGTAAGGAA 564
```

[00127] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит кодон–оптимизированную последовательность ДНК, кодирующую IFNα. В некоторых вариантах осуществления кодон–оптимизированная последовательность ДНК содержит или состоит из нуклеотидов из SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления

последовательность ДНК содержит или состоит из кодон–оптимизированной последовательности ДНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 21.

[00128] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, кодирующей IFNα. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 20 или 21. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из SEQ ID NO: 22 или 23. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из последовательности РНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 22 или 23.

[00129] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления каждый уридин в РНК является модифицированным. В некоторых вариантах осуществления каждый уридин в РНК модифицирован N1–метилпсевдоуридином ($m^1\psi$).

[00130] В некоторых вариантах осуществления РНК IFNα содержит измененный нуклеотид на 5'–конце. В некоторых вариантах осуществления РНК IFNα содержит 5'–кэппирующую последовательность. Можно применять любую 5'–кэппирующую последовательность, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 5'–5'–трифосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 5'–5'–трифосфатную связь, включая тиофосфатную модификацию. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 2′–*O*– или 3′–*O*–рибозо–метилированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит модифицированный гуанозиновый нуклеотид или модифицированный аденозиновый нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 7–метилгуанилат. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность представляет собой Cap0 или Cap1. Иллюстративные кэп–структуры включают m7G(5')ppp(5')G, m7,2`*O*–mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2`*O*–mG и m7,3`*O*–mG(5')ppp(5')2`*O*–mA.

[00131] В некоторых вариантах осуществления РНК IFNα содержит 5'–нетранслируемую область (UTR). В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR находится выше инициирующего кодона. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR регулирует трансляцию РНК. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR является стабилизирующей последовательностью. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR увеличивает время полужизни РНК. Можно применять любую 5'–UTR, известную из

уровня техники. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1, 3 или 5. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 2, 4 или 6. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

[00132] В некоторых вариантах осуществления РНК IFNα содержит 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR следует за кодоном терминации трансляции. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR регулирует полиаденилирование, эффективность трансляции, локализацию или стабильность РНК. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 8.

[00133] В некоторых вариантах осуществления композиция IFNα содержит как 5'–UTR, так и 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит только 5'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит только 3'–UTR.

[00134] В некоторых вариантах осуществления РНК IFNα содержит поли–А–хвост. В некоторых вариантах осуществления РНК IFNα содержит поли–А–хвост из по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 50 нуклеотидов, по меньшей мере приблизительно 70 нуклеотидов или по меньшей мере приблизительно 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–А–хвост содержит 200 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–А–хвост содержит или состоит из SEQ ID NO: 78.

[00135] В некоторых вариантах осуществления РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую IFNα, 3'–UTR и поли–А–хвост в этом порядке.

[00136] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 20 или 21 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 1, 3 или 5.

[00137] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 20 или 21 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5. РНК также может быть получена

рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00138] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 20 или 21 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00139] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 20 или 21 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00140] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 20 или 21; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00141] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 20 или 21; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или

несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 22 или 23; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 2, 4 или 6 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

D. IL–15sushi

[00142] Используемый в данном документе термин "IL–15sushi" описывает конструкцию, содержащую sushi–домен растворимого альфа–рецептора интерлейкина–15 (IL–15) и зрелый интерлейкин–альфа (IL–15) в виде слитого белка. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, кодирующую IL–15sushi (SEQ ID NO: 24), которая содержит цепь (sushi) растворимого альфа–рецептора IL–15, за которой следует глицин–сериновый (GS) линкер, за которым следует зрелая последовательность IL–15. Последовательность ДНК, кодирующая этот IL–15sushi, представлена под SEQ ID NO: 25.

[00143] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, кодирующей IL–15sushi. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК транскрибирована с нуклеотидной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды, кодирующие линкер, могут полностью отсутствовать или заменяться частично или полностью любыми нуклеотидами, кодирующими подходящий линкер. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит последовательность РНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК или РНК, кодирующая IL–15sushi, содержит нуклеотиды, кодирующие sushi–домен альфа–рецептора IL–15 (например, нуклеотиды 1–321 из SEQ ID NO: 25 или 26) и зрелый IL–15 (например, нуклеотиды 382–729 из SEQ ID NO: 25 или 26). В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК или РНК, кодирующая

IL–15sushi, содержит нуклеотиды, кодирующие sushi–домен альфа–рецептора IL–15 (например, нуклеотиды 1–321 из SEQ ID NO: 25 или 26) и зрелый IL–15 (например, нуклеотиды 382–729 из SEQ ID NO: 25 или 26), и дополнительно содержит нуклеотиды между этими частями, кодирующие линкерный полипептид, соединяющий части. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит нуклеотиды 322–381 из SEQ ID NO: 25 или 26. Можно применять любой линкер, известный специалисту в данной области.

[00144] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IL–15sushi заменяют модифицированным нуклеозидом, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00145] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–15sushi содержит измененный нуклеотид на 5’–конце. В некоторых вариантах осуществления РНК IL–15sushi содержит 5’–кэппирующую последовательность. Можно применять любую 5’–кэппирующую последовательность, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 5’–5’–трифосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 5’–5’–трифосфатную связь, включая тиофосфатную модификацию. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 2′–*O*– или 3′–*O*–рибозо–метилированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит модифицированный гуанозиновый нуклеотид или модифицированный аденозиновый нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 7–метилгуанилат. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность представляет собой Cap0 или Cap1. Иллюстративные кэп–структуры включают m7G(5')ppp(5')G, m7,2`*O*–mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2`*O*–mG и m7,3`*O*–mG(5')ppp(5')2`*O*–mA.

[00146] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–15sushi содержит 5’–нетранслируемую область (UTR). В некоторых вариантах осуществления 5’–UTR находится выше инициирующего кодона. В некоторых вариантах осуществления 5’–UTR регулирует трансляцию РНК. В некоторых вариантах осуществления 5’–UTR является стабилизирующей последовательностью. В некоторых вариантах осуществления 5’–UTR увеличивает время полужизни РНК. Можно применять любую 5’–UTR, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5’–UTR транскрибирована с SEQ ID NO: 1, 3 или 5. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5’–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 2, 4 или 6. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5’–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

[00147] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–15sushi содержит 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR следует за кодоном терминации трансляции. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR регулирует полиаденилирование, эффективность трансляции, локализацию или стабильность РНК. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR транскрибирована с SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 8.

[00148] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит как 5'–UTR, так и 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит только 5'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит только 3'–UTR.

[00149] В некоторых вариантах осуществления РНК IL–15sushi содержит поли–А–хвост. В некоторых вариантах осуществления РНК содержит поли–А–хвост из по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 50 нуклеотидов, по меньшей мере приблизительно 70 нуклеотидов или по меньшей мере приблизительно 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–А–хвост содержит 200 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–А–хвост содержит или состоит из SEQ ID NO: 78.

[00150] В некоторых вариантах осуществления РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, нуклеиновую кислоту, кодирующую IL–15sushi, 3'–UTR и поли–А–хвост в этом порядке.

[00151] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 25 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 1, 3 или 5.

[00152] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 25 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления

модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00153] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 25 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00154] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 25 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00155] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 25; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00156] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 25; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00157] В некоторых вариантах осуществления композиция IL–15sushi содержит последовательность РНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 26; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 2, 4 или 6 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК IFNα заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

E. Гранулоцитарно–макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM–CSF)

[00158] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность ДНК, кодирующую гранулоцитарно–макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM–CSF) (например, SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК, кодирующая GM–CSF, представлена под SEQ ID NO: 28.

[00159] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, кодирующей GM–CSF. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК транскрибирована с SEQ ID NO: 28. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит или состоит из SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК содержит последовательность РНК с 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью с SEQ ID NO: 29.

[00160] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК GM–CSF заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$). В некоторых вариантах осуществления РНК GM–CSF содержит измененный нуклеотид на 5’–конце. В некоторых вариантах осуществления РНК содержит 5’–кэппирующую последовательность. Можно применять любую 5’–кэппирующую последовательность, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 5’–5’–трифосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 5’–5’–трифосфатную связь, включая тиофосфатную модификацию. В некоторых вариантах осуществления 5’–кэппирующая последовательность содержит 2′–*O*– или 3′–*O*–рибозо–метилированный

нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит модифицированный гуанозиновый нуклеотид или модифицированный аденозиновый нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность содержит 7–метилгуанилат. В некоторых вариантах осуществления 5'–кэппирующая последовательность представляет собой Cap0 или Cap1. Иллюстративные кэп–структуры включают m7G(5')ppp(5')G, m7,2`*O*–mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2`*O*–mG и m7,3`*O*–mG(5')ppp(5')2`*O*–mA.

[00161] В некоторых вариантах осуществления РНК GM–CSF содержит 5'–нетранслируемую область (UTR). В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR находится выше инициирующего кодона. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR регулирует трансляцию РНК. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR является стабилизирующей последовательностью. В некоторых вариантах осуществления 5'–UTR увеличивает время полужизни РНК. Можно применять любую 5'–UTR, известную из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR транскрибирована с SEQ ID NO: 1, 3 или 5. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 2, 4 или 6. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 5'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 2, 4 или 6.

[00162] В некоторых вариантах осуществления РНК GM–CSF содержит 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR следует за кодоном терминации трансляции. В некоторых вариантах осуществления 3'–UTR регулирует полиаденилирование, эффективность трансляции, локализацию или стабильность РНК. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR транскрибирована с SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR содержит или состоит из SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления последовательность РНК 3'–UTR на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентична SEQ ID NO: 8.

[00163] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит как 5'–UTR, так и 3'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит только 5'–UTR. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит только 3'–UTR.

[00164] В некоторых вариантах осуществления РНК GM–CSF содержит поли–A–хвост. В некоторых вариантах осуществления РНК содержит поли–A–хвост из по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 50 нуклеотидов, по меньшей мере приблизительно 70 нуклеотидов или по меньшей мере приблизительно 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит 200 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления поли–A–хвост содержит или состоит из SEQ ID NO: 78.

[00165] В некоторых вариантах осуществления РНК GM–CSF содержит 5'–

кэппирующую последовательность, 5'–UTR, нуклеотиды, кодирующие GM–CSF, 3'–UTR и поли–A–хвост в этом порядке.

[00166] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 28 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична SEQ ID NO: 1, 3 или 5.

[00167] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 28 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК GM–CSF заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00168] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 28 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00169] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 28 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК GM–CSF заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00170] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит

последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 28; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7.

[00171] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит последовательность РНК, которая, например, транскрибирована с последовательности ДНК, содержащей или состоящей из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 28; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 1, 3 или 5 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 7. РНК также может быть получена рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК GM–CSF заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$).

[00172] В некоторых вариантах осуществления композиция GM–CSF содержит последовательность РНК, содержащую или состоящую из последовательности нуклеиновой кислоты, на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 29; на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 2, 4 или 6 и на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК GM–CSF заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

F. Модификации

[00173] Каждая из описанных в данном документе РНК и композиций может быть модифицирована любым способом, известным специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления модификации представляют собой "ModA" или "ModB", модифицированные, как описано в данном документе.

[00174] В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК заменяют модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид представляет собой модифицированный уридин.

[00175] В некоторых вариантах осуществления модифицированный уридин, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин (m1ψ) или 5–метилуридин (m5U).

[00176] В некоторых вариантах осуществления один или несколько цитозинов, аденинов или гуанинов в РНК заменяют модифицированным(–и) нуклеиновым(–и) основанием(–и). В одном варианте осуществления модифицированное нуклеиновое основание, заменяющее цитозин, представляет собой 5–метилцитозин (m^5C). В другом варианте осуществления модифицированное нуклеиновое основание, заменяющее аденин, представляет собой N^6–метиладенин (m^6A). В другом варианте осуществления можно применять любое другое модифицированное нуклеиновое основание, известное из уровня техники для снижения иммуногенности молекулы.

[00177] Модифицированный нуклеозид, заменяющий один или несколько уридинов в РНК, может представлять собой любой один или несколько из 3–метилуридина (m^3U), 5–метоксиуридина (mo^5U), 5–азауридина, 6–азауридина, 2–тио–5–азауридина, 2–тиоуридина (s^2U), 4–тиоуридина (s^4U), 4–тиопсевдоуридина, 2–тиопсевдоуридина, 5–гидроксиуридина (ho^5U), 5–аминоаллилуридина, 5–галогеноуридина (например, 5–йодуридина или 5–бромуридина), уридин–5–оксиуксусной кислоты (cmo^5U), сложного метилового эфира уридин–5–оксиуксусной кислоты ($mcmo^5U$), 5–карбоксиметилуридина (cm^5U), 1–карбоксиметилпсевдоуридина, 5–карбоксигидроксиметилуридина (chm^5U), сложного метилового эфира 5–карбоксигидроксиметилуридина ($mchm^5U$), 5–метоксикарбонилметилуридина (mcm^5U), 5–метоксикарбонилметил–2–тиоуридина (mcm^5s^2U), 5–аминометил–2–тиоуридина (nm^5s^2U), 5–метиламинометилуридина (mnm^5U), 1–этилпсевдоуридина, 5–метиламинометил–2–тиоуридина (mnm^5s^2U), 5–метиламинометил–2–селеноуридина (mnm^5se^2U), 5–карбамоилметилуридина (ncm^5U), 5–карбоксиметиламинометилуридина ($cmnm^5U$), 5–карбоксиметиламинометил–2–тиоуридина ($cmnm^5s^2U$), 5–пропинилуридина, 1–пропинилпсевдоуридина, 5–тауринометилуридина (τm^5U), 1–тауринометилпсевдоуридина, 5–тауринометил–2–тиоуридина (τm5s2U), 1–тауринометил–4–тиопсевдоуридина), 5–метил–2–тиоуридина (m^5s^2U), 1–метил–4–тиопсевдоуридина ($m^1s^4\psi$), 4–тио–1–метилпсевдоуридина, 3–метилпсевдоуридина ($m^3\psi$), 2–тио–1–метилпсевдоуридина, 1–метил–1–деазапсевдоуридина, 2–тио–1–метил–1–деазапсевдоуридина, дигидроуридина (D), дигидропсевдоуридина, 5,6–дигидроуридина, 5–метилдигидроуридина (m^5D), 2–тиодигидроуридина, 2–тиодигидропсевдоуридина, 2–метоксиуридина, 2–метокси–4–тиоуридина, 4–метоксипсевдоуридина, 4–метокси–2–тиопсевдоуридина, N1–метилпсевдоуридина, 3–(3–амино–3–карбоксипропил)уридина (acp^3U), 1–метил–3–(3–амино–3–карбоксипропил)псевдоуридина (acp^3 ψ), 5–(изопентениламинометил)уридина (inm^5U), 5–(изопентениламинометил)–2–тиоуридина (inm^5s^2U), α–тиоуридина, 2′–O–метилуридина(Um), 5,2′–O–диметилуридина (m^5Um), 2′–O–метилпсевдоуридина(ψm), 2–тио–2′–O–метилуридина (s^2Um), 5–метоксикарбонилметил–2′–O–метилуридина (mcm^5Um), 5–карбамоилметил–2′–O–метилуридина (ncm^5Um), 5–

карбоксиметиламинометил–2′–O–метилуридина ($cmnm^5Um$), 3,2′–O–диметилуридина (m^3Um), 5–(изопентениламинометил)–2′–O–метилуридина (inm^5Um), 1–тиоуридина, дезокситимидина, 2′–F–арауридина, 2′–F–уридина, 2′–OH–арауридина, 5–(2–карбометоксивинил)уридина, 5–[3–(1–E–пропениламино)уридина или любого другого модифицированного уридина, известного из уровня техники.

G. Комбинированные композиции

[00178] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает композицию, содержащую более одной РНК, описываемой в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит две РНК. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит три РНК. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит четыре РНК. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит пять РНК. В некоторых вариантах осуществления любую или все из РНК, кодирующих IL–2, IL12sc, IL–15sushi, GM–CSF или IFNα, можно заменить полипептидами IL–2, IL12sc, IL–15sushi, GM–CSF и/или IFNα, например в любых из композиций и составов, содержащих эти РНК, описанные в данном документе.

[00179] В некоторых вариантах осуществления модифицированные или немодифицированные РНК, кодирующие IL–2, IL12sc, IL–15sushi, GM–CSF и/или IFNα, можно заменить модифицированными или немодифицированными полицистронными РНК, кодирующими два или более полипептида, выбранных из полипептидов IL–2, IL12sc, IL15sushi, GM–CSF и IFNα, например в любых из композиций и составов, содержащих эти РНК, описанные в данном документе.

[00180] Любая из комбинированных композиций может дополнительно содержать вспомогательное вещество или разбавитель. Вспомогательное вещество или разбавитель может быть фармацевтически приемлемым для введения субъекту.

[00181] В некоторых вариантах осуществления комбинированная композиция содержит РНК с одинаковыми модификациями. В некоторых вариантах осуществления комбинированная композиция содержит РНК с различными модификациями. В некоторых вариантах осуществления комбинированная композиция содержит РНК с модификацией ModA. В некоторых вариантах осуществления комбинированная композиция содержит РНК с модификацией ModB. В некоторых вариантах осуществления комбинированная композиция содержит РНК с модификациями ModA и ModB.

[00182] В некоторых вариантах осуществления охвачена композиция, содержащая ДНК или РНК, кодирующую IL–2, и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–12sc, IFNα, IL–15sushi и GM–CSF. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит ДНК или РНК, кодирующую IL–2 или кодон–оптимизированный IL–2 (SEQ ID NO: 10–13), и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–12sc или оптимизированный IL–12sc (SEQ ID NO: 15–18), IFNα или оптимизированный IFNα (SEQ ID NO: 20–23), IL–15sushi (SEQ ID NO: 25–26) и GM–CSF (SEQ ID NO: 28–29), описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В

некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько РНК в композиции дополнительно содержат 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–А–хвост, как описано в данном документе в разделе о композиции.

[00183] В некоторых вариантах осуществления охвачена композиция, содержащая ДНК или РНК, кодирующую IL–12sc, и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–2, IFNα, IL–15sushi и GM–CSF. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит ДНК или РНК, кодирующую IL–12sc или кодон–оптимизированный IL–12sc (SEQ ID NO: 15–18), и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–2 или оптимизированный IL–2 (SEQ ID NO: 10–13), IFNα или оптимизированный IFNα (SEQ ID NO: 20–23), IL–15sushi (SEQ ID NO: 25–26) и GM–CSF (SEQ ID NO: 28–29), описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U).

[00184] В некоторых вариантах осуществления одна или несколько РНК в композиции дополнительно содержат 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–А–хвост, как описано в данном документе в разделе о композиции.

[00185] В некоторых вариантах осуществления охвачена композиция, содержащая ДНК или РНК, кодирующую IFNα, и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–2, IL–12sc, IL–15sushi и GM–CSF. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит ДНК или РНК, кодирующую IFNα или кодон–оптимизированный IFNα (SEQ ID NO: 20–23), и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–12sc или оптимизированный IL–12sc (SEQ ID NO: 15–18), IL–2 или оптимизированный IL–2 (SEQ ID NO: 10–13), IL–15sushi (SEQ ID NO: 25–26) и GM–CSF (SEQ ID NO: 28–29), описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько РНК в композиции дополнительно содержат 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–А–хвост, как описано в данном документе в разделе о композиции.

[00186] В некоторых вариантах осуществления охвачена композиция, содержащая ДНК или РНК, кодирующую IL–15sushi, и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–2, IL–12sc, IFNα и GM–CSF. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит ДНК или РНК, кодирующую IL–15sushi (SEQ ID NO: 25–26), и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–12sc или оптимизированный IL–12sc (SEQ ID NO: 15–18), IFNα или оптимизированный IFNα (SEQ ID NO: 20–23), IL–2 или

оптимизированный IL–2 (SEQ ID NO: 10–13) и GM–CSF (SEQ ID NO: 28–29), описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько РНК в композиции дополнительно содержат 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–A–хвост, как описано в данном документе в разделе о композиции.

[00187] В некоторых вариантах осуществления охвачена композиция, содержащая ДНК или РНК, кодирующую GM–CSF, и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–2, IL–12sc, IFNα и IL–15sushi. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит ДНК или РНК, кодирующую GM–CSF (SEQ ID NO: 28–29), и одну или несколько ДНК или РНК, кодирующих IL–12sc или оптимизированный IL–12sc (SEQ ID NO: 15–18), IFNα или оптимизированный IFNα (SEQ ID NO: 20–23), IL–2 или оптимизированный IL–2 (SEQ ID NO: 10–13) и IL–15sushi (SEQ ID NO: 25–26), описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько уридинов в РНК заменяют модифицированным нуклеозидом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид, заменяющий уридин, представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин ($m^1\psi$) или 5–метилуридин (m^5U). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько РНК в композиции дополнительно содержат 5'–кэппирующую последовательность, 5'–UTR, 3'–UTR и поли–A–хвост, как описано в данном документе в разделе о композиции.

[00188] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РНК GM–CSF, IL–2 и IL–12sc. В некоторых вариантах осуществления композиция является модифицированной, например, как ModA или ModB. В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc оптимизирована, как показано под SEQ ID NO: 18.

[00189] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РНК GM–CSF, IL–15sushi и IL–12sc. В некоторых вариантах осуществления композиция является модифицированной, например, как ModA или ModB. В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc оптимизирована, как показано под SEQ ID NO: 18.

[00190] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РНК GM–CSF, IL–2, IL–12sc и IFNα. В некоторых вариантах осуществления композиция является модифицированной, например, как ModA или ModB. В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc и РНК IFNα оптимизированы, как показано под SEQ ID NO: 18 и 23 соответственно.

[00191] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РНК GM–CSF, IL–15sushi, IL–12sc и IFNα. В некоторых вариантах осуществления композиция является модифицированной, например, как ModA или ModB. В некоторых вариантах осуществления РНК IL–12sc и РНК IFNα оптимизированы, как показано под SEQ ID NO: 18 и 23 соответственно.

[00192] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РНК GM–CSF, IL–15sushi, IL–12sc, и IFNα, где РНК содержат или состоят из нуклеотидов, показанных в SEQ ID NO: 18 (IL–12sc), 23 (IFNα), 26 (IL–15sushi) или 29 (GM–CSF). В некоторых вариантах осуществления композиция является модифицированной, например, как ModA или ModB.

[00193] В некоторых вариантах осуществления комбинации РНК вводят в соотношении 1:1, 1:1:1 или 1:1:1:1, основанном на равной массе РНК. Например, 20 мкг IL–15sushi, 20 мкг IL–12sc, 20 мкг IFNα2b и 20 мкг GM–CSF. В некоторых вариантах осуществления соотношение регулируют, так что вводят разные массовые соотношения, например соотношение 1:10:1:10 (20 мкг, 200 мкг, 20 мкг, 200 мкг). Аналогично, в некоторых вариантах осуществления, например, используют соотношение 1:2:3:4 (20 мкг, 40 мкг, 60 мкг, 80 мкг). В качестве альтернативы, вместо того, чтобы основывать соотношение на массе РНК, соотношение может быть основано на молярности РНК.

[00194] В некоторых вариантах осуществления смесь РНК вводят с равным соотношением каждой РНК в смеси.

[00195] В некоторых вариантах осуществления смесь РНК вводят с неравным соотношением каждой РНК в смеси. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько РНК вводятся в соотношении, которое в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз больше, чем содержание другой РНК в смеси. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько РНК вводятся в соотношении, которое в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз меньше, чем содержание другой РНК в смеси.

[00196] В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в данном документе, могут быть медицинским препаратом. В некоторых вариантах осуществления медицинский препарат предусматривает набор, в котором включенные в него РНК могут находиться в одном и том же флаконе или в отдельных флаконах. В некоторых вариантах осуществления медицинский препарат дополнительно содержит инструкции по применению композиции для лечения или предупреждения солидной опухоли.

[00197] В некоторых вариантах осуществления предусмотрен набор, содержащий композиции, описанные в данном документе, где включенные в него РНК могут находиться в одном и том же флаконе или в отдельных флаконах. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит инструкции по применению композиции для лечения или предупреждения солидной опухоли.

H. Эффект добавления IFNα к лечению с применением модифицированных mRNA

[00198] РНК может активировать иммунную систему путем стимуляции различных образ–распознающих рецепторов (PRR), что приводит к выработке интерферонов I типа (например, IFNα). Включение различных модифицированных нуклеотидов или других изменений, таких как уменьшение количества вводимой dsRNA, может снизить иммуностимулирующие эффекты РНК. Неожиданно, как описано в примерах, включение mRNA с модифицированными нуклеотидами и уменьшенным количеством dsRNA, кодирующей интерферон–альфа, улучшило противоопухолевую активность по сравнению

с mRNA, которая не содержала модифицированные нуклеотиды и не подвергалась уменьшению количества dsRNA. Добавление mRNA, кодирующей интерферон–альфа, восстановило часть иммуностимулирующих эффектов, устраняемых путем включения модифицированных нуклеотидов и очистки dsRNA.

[00199] В некоторых вариантах осуществления предусмотрена РНК, кодирующая IFN (любой формы или подтипа), где РНК IFN изменена так, чтобы иметь пониженную иммуногенность по сравнению с неизмененной РНК. В некоторых вариантах осуществления введение этого IFN улучшает противоопухолевый ответ РНК, не кодирующей IFN. В некоторых вариантах осуществления РНК, кодирующая IFNα, улучшает противоопухолевый ответ других РНК при условии, что другие РНК были изменены для снижения иммуногенности. В одном варианте осуществления изменение для снижения иммуногенности представляет собой уменьшение количества dsRNA. В некоторых аспектах изменение для снижения иммуногенности представляет собой замену одного или нескольких уридинов модифицированным нуклеозидом. В некоторых аспектах изменение для снижения иммуногенности представляет собой как уменьшение количества dsRNA, так и замену одного или нескольких уридинов модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления IFN представляет собой IFNα.

[00200] В некоторых вариантах осуществления РНК IFN улучшает противоопухолевый ответ модифицированных РНК. В некоторых вариантах осуществления РНК IFN улучшает противоопухолевый ответ РНК, содержащих модифицированные нуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления РНК IFN улучшает противоопухолевый ответ mRNA, содержащих псевдоуридин. В некоторых вариантах осуществления РНК IFN улучшает противоопухолевый ответ РНК с модификациями ModB.

[00201] В некоторых вариантах осуществления РНК IFN улучшает противоопухолевый ответ РНК IL–2 (SEQ ID NO: 12 или 13), IL–12sc (SEQ ID NO: 17 или 18), IL–15sushi (SEQ ID NO: 26) или GM–CSF (SEQ ID NO: 29). В некоторых вариантах осуществления РНК содержит модификации ModB.

[00202] В некоторых вариантах осуществления IFN представляет собой IFNα.

[00203] В некоторых вариантах осуществления конструкция РНК IFN представляет собой SEQ ID NO: 22 или 23.

III. Способы и пути применения

[00204] Любую из описанных в данном документе РНК, композиций, медицинских препаратов и комбинированных композиций можно вводить субъекту для лечения рака или солидной опухоли. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой аномальную массу ткани, которая не содержит кист или капельно–жидких областей. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль может быть доброкачественной или злокачественной. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой предраковое поражение. В некоторых вариантах осуществления

солидная опухоль возникает в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

[00205] В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой саркому, карциному или лимфому. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, базально–клеточную карциному, плоскоклеточную карциному, мелкоклеточную опухоль легкого, опухоль–нейробластому, опухоль яичка, опухоль–карциному, опухоль–аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой предраковое поражение, такое как актинический кератоз.

[00206] В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК можно доставлять посредством инъекции в опухоль (например, внутрь опухоли) или вблизи нее (рядом с опухолью). В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК можно доставлять в участок удаления опухоли или вблизи него.

[00207] В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК можно доставлять с помощью раствора, мази или крема для местного применения.

[00208] В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК можно доставлять с помощью вируса. В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК можно доставлять путем инфицирования вирусом, кодирующим композиции на основе РНК, таким как онколитический вирус. В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК можно доставлять с помощью онколитического вируса.

[00209] В некоторых вариантах осуществления доставляют более одного введения. В некоторых вариантах осуществления катетер помещают в участок опухоли или вблизи него для многократного введения. В некоторых вариантах осуществления катетер помещают в участок удаления опухоли для многократного введения.

[00210] В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. В некоторых вариантах осуществления субъектом является млекопитающее, отличное от человека, такое как собака, кошка, мышь, крыса, кролик, овца, крупный рогатый скот, лошадь и свинья.

[00211] В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК комбинируют с еще одним видом терапии. В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК комбинируют с более чем одним другим видом терапии. В некоторых вариантах осуществления композиции на основе РНК комбинируют в

мультимодальную терапию.

[00212] В некоторых вариантах осуществления другим видом терапии является хирургическая операция по удалению, резекции или уменьшению массы опухоли. В некоторых вариантах осуществления терапевтические композиции на основе РНК вводят во время хирургической операции по удалению, резекции или уменьшению массы опухоли.

[00213] В некоторых вариантах осуществления другим видом терапии является лучевая терапия. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой наружную дистанционную лучевую терапию или облучение пучком ионизирующих частиц. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой брахитерапию, включающая временную или постоянную имплантацию радиоактивных изотопов непосредственно в опухоль через катетер или иглу большого диаметра. В некоторых вариантах осуществления радиоактивный изотоп представляет собой цезий–137, иридий–192 или радиоактивный йод. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой внутривенное введение радиоизотопных препаратов. В некоторых вариантах осуществления радиоизотопные препараты представляют собой радиоактивный йод (131I), стронций (89Sr) или самарий (153Sm).

[00214] В некоторых вариантах осуществления другим видом терапии является химиотерапия. В некоторых вариантах осуществления химиотерапия представляет собой алкилирующее средство, антиметаболит, ингибитор полимеризации тубулина, ингибитор топоизомеразы или цитотоксическое антитело.

[00215] В некоторых вариантах осуществления химиотерапия предусматривает противоинвазионные средства (например, ингибиторы металлопротеиназы, такие как маримастат, и ингибиторы урокиназной функции рецептора активатора плазминогена). В некоторых вариантах осуществления химиотерапия включает ингибиторы функции фактора роста (например, фактора роста тромбоцитов и фактора роста гепатоцитов), антитела к фактору роста или антитела к рецептору фактора роста (например, антитело к erbb2 трастузумаб [Herceptin™] и антитело к erbb1 Cetuximab™). В некоторых вариантах осуществления химиотерапия представляет собой ингибитор фарнезилтрансферазы. В некоторых вариантах осуществления химиотерапия представляет собой ингибитор тирозинкиназы, такой как ингибиторы семейства эпидермального фактора роста (например, ингибиторы тирозинкиназ семейства EGFR, такие как гефитиниб (Iressa™), эрлотиниб (Tarceva™) и канертиниб (CI 1033), или ингибитор серин/треониновой киназы).

[00216] В некоторых вариантах осуществления химиотерапия включает в себя антипролиферативные/антибластомные лекарственные средства, такие как антиметаболиты (например, антифолаты, такие как метотрексат, фторпиримидины, такие как 5–фторурацил, тегафур, пуриновые и аденозиновые аналоги, цитозина арабинозид); противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины, такие как адриамицин, блеомицин, доксорубицин, дауномицин, эпирубицин и идарубицин, митомицин–C, дактиномицин, митрамицин); производные платины (например, цисплатин, карбоплатин); алкилирующие средства (например, азотистый иприт, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан,

циклофосфамид, ифосфамид, нитрозомочевины, тиотепа); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинка, такие как винкристин, винбластин, виндезин, винорелбин, и таксоиды, такие как таксол, таксотер); ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины, такие как этопозид и тенипозид, амсакрин, топотекан, камптотецин, а также иринотекан); или ингибиторы тимидилатсинтазы (например, ралтитрексед).

[00217] В некоторых вариантах осуществления химиотерапия представляет собой конъюгат антитело–лекарственное средство (ADC). В некоторых вариантах осуществления ADC представляет собой антитело, связанное с цитотоксическим (противораковым) лекарственным средством. В некоторых вариантах осуществления ADC позволяет целенаправленно доставлять цитотоксические лекарственные средства к опухолевым клеткам. В некоторых вариантах осуществления ADC позволяет преимущественно доставлять цитотоксические лекарственные средства в опухолевые клетки по сравнению с нормальной тканью.

[00218] В некоторых вариантах осуществления химиотерапия представляет собой комбинированную химиотерапию с комбинацией различных средств. В некоторых вариантах осуществления комбинация включает разные средства, которые имеют разные механизмы действия и/или разные неперекрывающиеся виды токсичности.

[00219] В некоторых вариантах осуществления другой вид терапии представляет собой иммуностимулятор или иммунотерапию, такую как, например, модулятор/ингибитор контрольной точки. Модуляторы/ингибиторы контрольных точек хорошо известны из уровня техники для предупреждения атаки иммунной системы хозяина самой себя и включают, например, CTLA–4, PD1, PDL1, GITR, OX40, LAG–3 и TIM–3. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулятор, иммунотерапия или модулятор/ингибитор контрольной точки представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело представляет собой антитело к PD1, PDL1, CTLA–4, LAG3, OX40, CD40, CD40L, 41BB, 41BBL, GITR, CD3, CD28, CD38 или TGFбета. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело является биспецифическим антителом. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулятор является клеточной иммунотерапией. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулятор представляет собой цитокин или хемокин. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулятор является противораковой вакциной. Поскольку ученым и клиницистам в данной области известен широкий спектр иммуностимуляторов, настоящее изобретение не ограничено конкретной комбинацией с конкретным иммуностимулятором.

[00220] В некоторых случаях любые из описанных в данном документе РНК, композиций на основе РНК, медицинских препаратов и комбинированных композиций на основе РНК можно вводить в комбинации с иммуностимулятором, иммунотерапией или модулятором контрольной точки. В некоторых случаях описанные в данном документе РНК, композиции на основе РНК и комбинированные композиции на основе РНК вводят в

комбинации с антителом субъекту для лечения рака, в том числе солидных опухолей. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело к PD1, антитело к CTLA4 или комбинацию антитела к PD1 и антитела к CTLA4. В некоторых вариантах осуществления антитело является полиспецифическим антителом, таким как, например, триспецифическое или биспецифическое антитело.

[00221] В некоторых вариантах осуществления антитело к PD1 представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело к PD–1 является выделенным и/или рекомбинантным. Примерами антител к PD–1 являются ниволумаб, пембролизумаб, цемиплимаб, MEDI0608 (ранее AMP–514; см., например, WO 2012/145493 и патент США № 9205148), PDR001 (см., например, WO 2015/112900), PF–06801591 (см., например, WO 2016/092419), BGB–A317 (см., например, WO 2015/035606).

[00222] В некоторых вариантах осуществления антитело к PD–1 является одним из антител, раскрытых в WO 2015/112800 (таких как антитела, обозначенные как H1M7789N, H1M7799N, H1M7800N, H2M7780N, H2M7788N, H2M7790N, H2M7791N, H2M7794N, H2M7795N, H2M7796N, H2M7798N, H4H9019P, H4xH9034P2, H4xH9035P2, H4xH9037P2, H4xH9045P2, H4xH9048P2, H4H9057P2, H4H9068P2, H4xH9119P2, H4xH9120P2, H4xH9128P2, H4xH9135P2, H4xH9145P2, H4xH8992P, H4xH8999P и H4xH9008P в таблице 1 публикации согласно PCT, и антитела, обозначенные как H4H7798N, H4H7795N2, H4H9008P и H4H9048P2 в таблице 3 публикации согласно PCT). Раскрытие WO 2015/112800 включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Например, антитела, раскрытые в WO 2015/112800, и родственные антитела, включая антитела и антигенсвязывающие фрагменты, имеющие CDR, последовательности VH и VL или последовательности тяжелой и легкой цепей, раскрытые в этой публикации согласно PCT, а также антитела и антигенсвязывающие фрагменты, связывающиеся с тем же эпитопом PD–1, что и антитела, раскрытые в этой публикации согласно PCT, можно использовать в сочетании с композициями на основе РНК по настоящему изобретению для лечения и/или предупреждения рака.

[00223] В родственных вариантах осуществления антитело к PD–1 может содержать аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей, показанные ниже как SEQ ID NO: 79 и 80 соответственно; последовательности VH и VL из SEQ ID NO: 87 и 88 (показано курсивом), или одну или несколько (например, все шесть) CDR из SEQ ID NO: 79 и 80 (показано в жирных рамках). В некоторых вариантах осуществления охвачено антитело, содержащее следующие CDR:

HCDR1=GFTFSNFG (SEQ ID NO: 81);

HCDR2=ISGGGRDT (SEQ ID NO: 82);

HCDR3=VKWGNIYFDY (SEQ ID NO: 83);

LCDR1=LSINTF (SEQ ID NO: 84);

LCDR2=AAS (SEQ ID NO: 85);

LCDR3=QQSSNTPFT (SEQ ID NO: 86)..

[00224] Иллюстративным антителом, содержащим тяжелую цепь, содержащую последовательности VH и VL из SEQ ID NO: 87 и 88 (показано курсивом) является полностью человеческое антитело к PD–1, известное как REGN2810 (цемиплимаб).

[00225] Тяжелая цепь mab к PD–1

*EVQLLESGGV LVQPGGSLRL SCAAS**GFTFS NFG**MTWVRQA PGKGLEWVSG **ISGGGRDT**YF ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLKGED TAVYYC**VKWG NIYFDY**WGQG TLVTVSS*AST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK (SEQ ID NO:79)

HCDR1=GFTFSNFG (SEQ ID NO: 81);

HCDR2=ISGGGRDT (SEQ ID NO: 82);

HCDR3=VKWGNIYFDY (SEQ ID NO: 83).

[00226] Легкая цепь mab к PD–1

*DIQMTQSPSS LSASVGDSIT ITCRAS**LSIN TF**LNWYQQKP GKAPNLLIY**A AS**SLHGGVPS RFSGSGSGTD FTLTIRTLQP EDFATYYC**QQ SSNTPFT**FGP GTVVDFR*RTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO:80)

LCDR1=LSINTF (SEQ ID NO: 84);

LCDR2=AAS (SEQ ID NO: 85);

LCDR3=QQ SSNTPFT (SEQ ID NO: 86).

[00227] В некоторых вариантах осуществления РНК, композиции на основе РНК и комбинированные композиции на основе РНК можно доставить путем инъекции в опухоль (например, внутрь опухоли), вблизи опухоли (рядом с опухолью) или вблизи участка удаления опухоли, и антитело можно доставить таким же образом или системно, как, например, энтерально или парентерально, включая инъекцию, инфузию и имплантацию. "Введенное в комбинации" включает одновременное или последовательное введение. В случае последовательного, введение может происходить в любом порядке и с любым подходящим интервалом времени, известным специалистам в данной области.

[00228] В некоторых вариантах осуществления другим видом терапии является гормональная терапия. В некоторых вариантах осуществления гормональная терапия представляет собой антиэстрогенные лекарственные средства для лечения рака молочной железы или антиандрогенные лекарственные средства для лечения рака предстательной железы. Примеры средств включают антиэстрогены (например, тамоксифен, торемифен, ралоксифен, дролоксифен, йодоксифен), средства, подавляющие рецепторы эстрогенов (например, фулвестрант), прогестагены (например, ацетат мегестрола), ингибиторы

ароматазы (например, анастрозол, летрарозол, воразол, эксеместан) антипрогестогены, антиандрогены (например, флутамид, нилутамид, бикалутамид, ацетат ципротерона), агонисты и антагонисты LHRH (например, ацетат гозерелина, лупролид, бусерелин) и ингибиторы 5–альфа–редуктазы (например, финастерид).

[00229] В некоторых вариантах осуществления другим видом терапии является направленная терапия. В некоторых вариантах осуществления направленная терапия представляет собой ингибитор киназы. В некоторых вариантах осуществления направленная терапия представляет собой терапию, которая ингибирует активность генного продукта протоонкогена. В некоторых вариантах осуществления направленная терапия представляет собой антиангиогенное средство. В некоторых вариантах осуществления направленная терапия представляет собой терапию, которая направлена на модуляцию активности VEGF, BCR–ABL, BRAF, EGFR, c–Met, MEK, ERK, mTOR или ALK.

[00230] В некоторых вариантах осуществления другим видом терапии является трансплантация стволовых клеток.

[00231] В некоторых вариантах осуществления терапевтические композиции на основе РНК доставляют одновременно с еще одним видом терапии.

[00232] В некоторых вариантах осуществления терапевтические композиции на основе РНК доставляют перед еще одним видом терапии.

[00233] В некоторых вариантах осуществления терапевтические композиции на основе РНК доставляют после еще одного вида терапии.

[00234] В некоторых вариантах осуществления терапевтические композиции на основе РНК доставляют непосредственно в опухоль или вблизи опухоли или участка удаления опухоли вместе с еще одним видом терапии. В некоторых вариантах осуществления терапевтические композиции на основе РНК доставляют непосредственно в опухоль или вблизи опухоли или участка удаления опухоли, в то время как еще один вид терапии доставляют системно.

IV. Фармацевтические составы

[00235] В некоторых вариантах осуществления любые из описанных в данном документе ДНК, РНК и композиций являются фармацевтическими составами. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы содержат разбавитель, вспомогательное вещество или другой фармацевтически приемлемый носитель. Таким образом, в настоящем документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие ДНК, РНК, их композиции или комбинации, представленные в данном документе, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой водный раствор. В определенных вариантах осуществления водный раствор представляет собой солевой раствор. Понятно, что используемые в данном документе фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества должны быть стерильными. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию

вводят в виде дозированной лекарственной формы. Например, в определенных вариантах осуществления дозированная лекарственная форма представляет собой таблетку, капсулу, имплантируемое устройство или болюсную инъекцию.

[00236] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, предусмотренные в данном документе, могут дополнительно содержать другие вспомогательные компоненты, обычно встречающиеся в фармацевтических композициях. Например, композиции могут содержать дополнительные совместимые фармацевтически активные материалы, такие как, например, противозудные, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные средства. Композиции могут также содержать дополнительные совместимые фармацевтически неактивные материалы, такие как вспомогательные вещества, разбавители и носители.

[00237] Определенные фармацевтические композиции для инъекций представляют собой суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных средах–носителях и могут содержать вспомогательные средства, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие средства. Определенные растворители, подходящие для применения в фармацевтических композициях для инъекций, включают, без ограничения, липофильные растворители и жирные масла, такие как кунжутное масло, синтетические сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат или триглицериды, и липосомы. Водные инъекционные суспензии могут содержать вещества, повышающие вязкость суспензии, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, сорбит или декстран. Необязательно, такие суспензии могут также содержать подходящие стабилизаторы или средства, которые увеличивают растворимость фармацевтических средств, что позволяет получать высококонцентрированные растворы.

[00238] Липидные фрагменты можно использовать для доставки РНК, предусмотренных в данном документе. В одном способе РНК вводят в предварительно сформированные липосомы или липоплексы, изготовленные из смесей катионных липидов и нейтральных липидов. В другом способе комплексы РНК с моно– или поликатионными липидами образуют без присутствия нейтрального липида. В определенных вариантах осуществления липидный фрагмент выбирают для увеличения распределения фармацевтического средства в конкретной клетке или ткани.

[00239] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, содержит полиаминное соединение или липидный фрагмент, образующий комплекс с ДНК или РНК, предусмотренной в данном документе.

[00240] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, содержит систему доставки. Примеры систем доставки включают, без ограничения, липосомы и эмульсии. Определенные системы доставки полезны для получения определенных фармацевтических композиций, включая те, которые содержат гидрофобные соединения. В определенных вариантах осуществления используют определенные органические растворители, такие как диметилсульфоксид.

[00241] Определенные фармацевтические композиции для инъекций представлены

в стандартной лекарственной форме, например в ампулах или в многодозовых контейнерах. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, содержит РНК или комбинацию РНК в терапевтически эффективном количестве. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество является достаточным для лечения или предупреждения рака у субъекта, подвергаемого лечению.

[00242] Следующие параграфы предусматривают многочисленные варианты осуществления и не являются ограничивающими.

Параграф 1. Композиция, содержащая РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок IL–15sushi, РНК, кодирующую белок IFNα, и РНК, кодирующую белок GM–CSF.

Параграф 2. Композиция по параграфу 1, где белок IFNα представляет собой белок IFNα2b.

Параграф 3. Композиция по параграфу 1, где (i) РНК, кодирующая белок IL–12sc, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 17 или 18 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 17 или 18, и/или (ii) белок IL–12sc содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14.

Параграф 4. Композиция по параграфу 1, где (i) РНК, кодирующая белок IL–15sushi, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 26 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 26, и/или (ii) белок IL–15sushi содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24.

Параграф 5. Композиция по параграфу 1, где (i) РНК, кодирующая белок IFNα, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 22 или 23 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 22 или 23, и/или (ii) белок IFNα содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 19 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19.

Параграф 6. Композиция по параграфу 1, где (i) РНК, кодирующая белок GM–CSF, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 29 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 29, и/или (ii) белок GM–CSF содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 27 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27.

Параграф 7. Композиция по параграфу 1, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо по меньшей мере одного уридина, где модифицированный нуклеозид представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин (m1ψ), 5–метилуридин (m5U) или их комбинацию.

Параграф 8. Композиция по параграфу 1, где каждая РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо по меньшей мере одного уридина, где модифицированный нуклеозид представляет собой псевдоуридин (ψ), N1–метилпсевдоуридин (m1ψ), 5–метилуридин (m5U) или их комбинацию.

Параграф 9. Композиция по параграфу 1, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$, или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$, или $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$, или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

Параграф 10. Композиция по параграфу 1, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, и/или 3'–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8, или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

Параграф 11. Композиция по параграфу 1, где по меньшей мере одна РНК содержит поли–A–хвост из по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Параграф 12. Композиция по параграфу 11, где поли–A–хвост предусматривает поли–A–хвост, представленный под SEQ ID NO: 78.

Параграф 13. Композиция по параграфу 1, где одна или несколько РНК содержат:

– 5'–кэппирующую последовательность, содержащую $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$;

– 5'–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6;

– 3'–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO:8; и

– поли–A–хвост, содержащий по меньшей мере 100 нуклеотидов.

Параграф 14. Композиция по параграфу 13, где поли–A–хвост содержит SEQ ID NO: 78.

Параграф 15. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по параграфу 1 и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество.

Параграф 16. Способ лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции по параграфу 1.

Параграф 17. Способ лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, первой РНК, где первая РНК кодирует белок IL–12sc, белок IL–15sushi, белок IFNα или белок GM–CSF, и дополнительной РНК, где:

– если первая РНК кодирует белок IL–12sc, то дополнительная РНК кодирует белок IL–15sushi, белок IFNα и белок GM–CSF;

– если первая РНК кодирует белок IL–15sushi, то дополнительная РНК кодирует белок IL–12sc, белок IFNα и белок GM–CSF;

– если первая РНК кодирует белок IFNα, то дополнительная РНК кодирует белок IL–15sushi, белок IL–12sc и белок GM–CSF; и

– если первая РНК кодирует белок GM–CSF, то дополнительная РНК кодирует белок IL–15sushi, белок IFNα и белок IL–12sc.

Параграф 18. Способ по параграфу 17, где первую РНК вводят субъекту одновременно с дополнительной РНК.

Параграф 19. Способ по параграфу 17, где РНК вводят внутрь опухоли или рядом с опухолью.

Параграф 20. Способ по параграфу 17, где субъекту дополнительно проводят лечение с применением дополнительной терапии, включающей (i) хирургическую операцию по удалению, резекции или уменьшению размера опухоли, (ii) иммунотерапию, (iii) лучевую терапию или (iv) химиотерапию.

Параграф 21. Способ по параграфу 17, где субъекту дополнительно проводят лечение с применением модулятора контрольной точки.

Параграф 22. Способ по параграфу 21, где модулятором контрольной точки является антитело к PD1, антитело к CTLA–4 или комбинация антитела к PD1 и антитела к CTLA–4.

Параграф 23. Способ по параграфу 21, где РНК вводят внутрь опухоли или рядом с опухолью путем инъекции и модулятор контрольной точки вводят системно.

Параграф 24. Способ по параграфу 17, где солидная опухоль представляет собой саркому, карциному или лимфому.

Параграф 25. Способ по параграфу 17, где солидная опухоль находится в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

Параграф 26. Способ по параграфу 17, где солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, мелкоклеточную опухоль легкого, опухоль–нейробластому, опухоль яичка, опухоль–карциному, опухоль–аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому.

Параграф 27. Способ по параграфу 17, где лечение или снижение вероятности возникновения солидной опухоли предусматривает уменьшение размера опухоли, снижение вероятности рецидива рака в стадии ремиссии или снижение вероятности метастазирования рака у субъекта.

Параграф 28. Способ комбинированной терапии для лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, РНК и дополнительной терапии, где РНК кодируют белок IL–12sc, белок IL–15sushi, белок IFNα и белок GM–CSF, и дополнительная терапия предусматривает иммунотерапию, химиотерапию или модулятор контрольной точки.

Параграф 29. Способ комбинированной терапии по параграфу 28, где дополнительная терапия предусматривает антитело к PD1, антитело к CTLA–4 или комбинацию антитела к PD1 и антитела к CTLA–4.

Параграф 30. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, кодирующую белок IL–12sc, где:

последовательность, кодирующая белок IL–12sc, содержит a) смежные нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, или 78% идентичностью с нуклеотидами 1–984 из SEQ ID NO: 16 или 18, b) смежные нуклеотиды, характеризующиеся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 81% идентичностью с нуклеотидами 1027–1623 из SEQ ID NO: 16 или 18, и c) нуклеотиды, кодирующие линкер между нуклеотидами из a) и b).

Параграф 31. Нуклеиновая кислота по параграфу 30, которая представляет собой ДНК.

Параграф 32. Нуклеиновая кислота по параграфу 30, которая представляет собой РНК.

Параграф 33. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, кодирующую белок IFNα, где:

последовательность, кодирующая белок IFNα, характеризуется по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 21 или 23.

Параграф 34. Нуклеиновая кислота по параграфу 33, которая представляет собой ДНК.

Параграф 35. Нуклеиновая кислота по параграфу 33, которая представляет собой РНК.

Параграф 36. Способ лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, РНК по параграфу 34, где:

субъекту дополнительно проводят лечение с применением дополнительной РНК, кодирующей белок IL–15sushi, белок IFNα и белок GM–CSF.

Параграф 37. Способ лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, РНК по параграфу 35, где:

субъекту дополнительно проводят лечение с применением дополнительной РНК, кодирующей белок IL–15sushi, белок IL–12sc и белок GM–CSF.

Параграф 38. Способ получения РНК, кодирующей IL–12sc, включающий приведение экспрессирующей конструкции, содержащей нуклеиновую кислоту по параграфу 32, функционально связанную с промотором, в контакт с РНК–полимеразой в условиях, благоприятных для транскрипции.

Параграф 39. Способ получения РНК, кодирующей IFNα, включающий приведение экспрессирующей конструкции, содержащей нуклеиновую кислоту по параграфу 35, функционально связанную с промотором, в контакт с РНК–полимеразой в условиях, благоприятных для транскрипции.

Параграф 40. Набор, содержащий композицию по параграфу 1.

Параграф 41. Набор, содержащий РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок IL–15sushi, РНК, кодирующую белок IFNα, и РНК, кодирующую белок GM–CSF, где РНК не находятся в одном и том же контейнере.

Параграф 42. Набор по параграфу 41, где каждая РНК находится в отдельном контейнере.

Параграф 43. Набор по любому из параграфов 40–42, дополнительно содержащий инструкции по применению композиции или РНК для лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли.

[00243] Это описание и иллюстративные варианты осуществления не должны рассматриваться как ограничивающие. Для целей настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения, если не указано иное, все числа, выражающие количества, процентные доли или пропорциональные доли и другие числовые значения, используемые в описании и формуле изобретения, следует понимать как модифицируемые во всех случаях термином "приблизительно" в той степени, в которой они не были уже модифицированы. Соответственно, если не указано иное, числовые параметры, изложенные в следующем описании и прилагаемой формуле изобретения, являются примерными значениями,

которые могут варьироваться в зависимости от необходимых свойств, которые должны быть получены. В крайнем случае, и не как попытка ограничить применение доктрины эквивалентов к объему формулы изобретения, каждый числовой параметр должен по меньшей мере истолковываться с учетом количества сообщаемых значащих цифр и путем применения обычных способов округления.

[00244] Следует отметить, что, как используется в данном описании и прилагаемой формуле изобретения, форма единственного числа, а также любое применение любого слова в единственном числе включают объекты во множественном числе, если только однозначно и недвусмысленно не ограничены одним объектом. Используемый в данном документе термин "включать" и его грамматические варианты не предназначены для ограничения, так что перечисление элементов в списке не исключает другие подобные элементы, которые могут быть заменены или добавлены к перечисленным элементам.

ПРИМЕРЫ

[00245] Следующие примеры предоставлены для иллюстрации определенных раскрытых вариантов осуществления и не должны рассматриваться как ограничивающие объем этого раскрытия каким–либо образом.

Пример 1. **Материалы и способы.**

[00246] **Модель опухоли B16F10**. Самок мышей C57BL/6J (Jackson Laboratory; Бар–Харбор, Мэн) в возрасте 6–8 недель и весом от 17,0 до 20,9 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США) и стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при 22°C ± 2°C и относительной влажности 55% ± 15%. Клетки B16F10 получали из Американской коллекции типовых культур (ATCC) (Манассас, Вирджиния, США) (номер по каталогу CRL–6475) и культивировали в модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM) (Life Technologies, номер по каталогу 11995) с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки (HI FBS) (Life Technologies, номер по каталогу 10082–147) в 5% CO2 при 37°C. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Life Technologies, номер по каталогу 25200–056), ресуспендировали в фосфатно–солевом буфере Дульбекко (DPBS) (Life Technologies, номер по каталогу 14190–144) и имплантировали по 0,5×10^6 клеток/200 мкл на мышь подкожно (SC) в правый бок самок мышей C57BL/6J. Для моделей опухолей с двумя боковыми участками на 0 день в правый бок подкожно (SC) имплантировали 0,5 x 10^6 клеток B16F10/200 мкл на мышь, и в левый бок SC имплантировали 0,25 x 10^6 клеток B16F10/200 мкл на мышь. Чтобы проверить, может ли локальное введение mRNA цитокинов иметь дистанционные эффекты (см. фиг. 19), самок мышей C57BL/6JOlaHsd (Envigo, Россдорф, Германия) в возрасте 6–8 недель и весом от 17 до 24 г акклиматизировали в течение по меньшей мере шести дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (автоклавируемый ssniff M–Z Soest, Германия) и стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при 22°C ± 2°C и относительной влажности 55% ± 10%. Клетки B16F10 получали из

Американской коллекции типовых культур (ATCC® CRL–6475™) и культивировали в DMEM с высоким содержанием глюкозы GlutaMAX™ (Life Technologies, номер по каталогу 31966047) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Biochrom, номер по каталогу S 0115) в 7,5% CO2 при 37°C. Клетки собирали с использованием реагента для клеточной диссоциации StemPro® Accutase® (Life Technologies, номер по каталогу A1110501), ресуспендировали в фосфатно–солевом буфере Дульбекко (DPBS) (Life Technologies, номер по каталогу 14190–169) и имплантировали по 0,3×10^6 клеток/100 мкл на мышь подкожно (SC) в правый выбритый бок самок мышей C57BL/6J. Для посева дистанционных опухолей легких использовали клетки B16F10_luc–gfp. Эти клетки получали из B16F10 с помощью стабильной трансфекции плазмидой, кодирующей люциферазу и GFP. Клетки B16F10_luc–gfp культивировали в тех же условиях, что и клетки B16F10; только в культуральную среду добавляли 0,5 мкг/мл пуромицина. Через один день после SC имплантации по 0,3×10^6 клеток/200 мкл клеток B16F10_luc–gfp вводили мышам внутривенно (IV) в хвостовую вену. Внутриопухолевые инъекции mRNA начинали через 10–14 дней после SC инокуляции опухолей. Рост опухоли оценивали путем измерений штангенциркулем каждые 2–3 дня и выражали как произведение перпендикулярных диаметров с использованием следующей формулы: a2*b/2, с a<b. Приживление положительных по люциферазе опухолевых клеток в легких анализировали in vivo при помощи визуализации биолюминесценции с использованием системы визуализации Xenogen IVIS Spectrum (Caliper Life Sciences). Водный раствор L–люциферина (250 мкл, 1,6 мг; BD Biosciences) вводили внутрибрюшинно. Испускаемые фотоны от живых животных определяли количественно через 10 минут со временем выдержки 1 мин. Представляющие интерес области (ROI) количественно определяли как среднее излучение (фотоны $с^{-1}$ $см^{-2}ср^{-1}$, представленное в виде цветных изображений, наложенных на фотографии мышей в оттенках серого с использованием программного обеспечения Living Image от Caliper Life Sciences). Для абсолютного количественного определения сигнал биолюминесценции блоттировали как общий поток (фотоны $с^{-1}$). Для исследований, представленных на фигурах 20C–G и 21E–I, также использовали описанную выше модель мышей C57BL/6JOlaHsd (Envigo, Россдорф, Германия) без посева метастазов в легкие.

[00247] **Модель опухоли CT26**. Для исследований, представленных на фигурах 2, 3, 7D–F, 8, 9, 12D и 21, самок мышей Balb/c Rj (Janvier, Ле–Жене–Сент–Иль, Франция) в возрасте 6–8 недель и весом от 17 до 24 г акклиматизировали в течение по меньшей мере шести дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (автоклавируемый ssniff M–Z Soest, Германия) и стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при 22°C ± 2°C и относительной влажности 55% ± 10%. Клетки CT26 получили из (ATCC® CRL–2638™) и культивировали в среде Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, GlutaMAX™ (Life Technologies, номер по каталогу 61870–044) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Biochrom, номер по каталогу S 0115) в 5% CO2 при 37°C. Клетки собирали с использованием реагента для клеточной диссоциации StemPro® Accutase® (Life Technologies, номер по каталогу A1110501),

ресуспендировали в DPBS (Life Technologies, номер по каталогу 14190–169) и SC имплантировали по 0,5×10^6 клеток/100 мкл на мышь в правый выбритый бок самок мышей Balb/c Rj. Внутриопухолевые инъекции РНК начинали через 13–19 дней после инокуляции опухолей. Рост опухоли оценивали путем измерений штангенциркулем каждые 2–3 дня и выражали как произведение перпендикулярных диаметров с использованием следующей формулы: a2*b/2 где b представляет собой более длинный из двух диаметров (a<b).

[00248] Для исследований, представленных на фигурах 6 и 7A–C самок мышей BALB/c (Jackson Laboratory; Бар–Харбор, Мэн) в возрасте 6–8 недель и весом от 17,0 до 20,9 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США) и стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при температуре (22°C ± 2°C), относительная влажность (55% ± 15%). Клетки CT26 получили из ATCC (Манассас, Вирджиния, США) (номер по каталогу CRL–2638) и культивировали в RPMI–1640 (Life Technologies, номер по каталогу 11875–093) с добавлением 10% HI FBS (Life Technologies, номер по каталогу 10082–147) в 5% CO2 при 37°C. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Life Technologies, номер по каталогу 25200–056), ресуспендировали в DPBS (Life Technologies, номер по каталогу 14190–144) и SC имплантировали по 0,5×10^6 клеток/200 мкл на мышь в правый бок самок мышей BALB/c.

[00249] На модели опухоли CT26 в дополнение к росту опухоли измеряли в крови gp70–реактивные CD8+ T–клетки, где указано. Пробы крови брали с использованием покрытых EDTA пробирок. 100 мкл крови переносили в пробирки для FACS и добавляли смесь антител, содержащую T–Select H–2Ld MuLV gp70 тетрамер–SPSYVYHQF–APC (MBL (TS–M–521–2), 4 мкл на 100 мкл крови), антитело к CD8a с FITC (Life Technologies (MCD801), 1 мкл на 100 мкл крови)) и антитело к CD45 с V500 (BD (561487), 1 мкл на 100 мкл крови)). После 20 мин. инкубации при комнатной температуре добавляли буфер для лизиса крови (BD (349202), 300 мкл на пробирку) и инкубировали в течение еще 6 мин. Затем образцы дважды промывали буфером PBS–EDTA. Образцы для FACS анализировали на проточном цитометре FACS Canto II.

[00250] **Модель опухоли MC38**. Самок мышей C57BL/6J (Jackson Laboratory; Бар–Харбор, Мэн) в возрасте 6–8 недель и весом от 17,0 до 20,9 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США) и стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при 22°C ± 2°C и относительной влажности 55% ± 15%. Клетки MC38 были щедрым даром от доктора S. A. Rosenberg (Национальный институт здравоохранения, Бетесда, Мэриленд, США). Клеточную линию культивировали в RPMI–1640 с L–глутамином (Gibco, номер по каталогу 11875) с добавлением 10% HI FBS (Gibco, номер по каталогу 100082) в 5% CO2 при 37°C. Клетки собирали, ресуспендировали в DPBS (Gibco, номер по каталогу 14190) и SC имплантировали по 1×10^6 клеток/200 мкл на мышь в правый бок самок мышей C57BL/6J.

[00251] **Модель опухоли A375**. Самок мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (SCID) (Jackson Laboratory; Бар–Харбор, Мэн) в возрасте 6–8 недель и весом от 17,0 до 20,9 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США), стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при 22°C ± 2°C и относительной влажности 55% ± 15%. Клетки A375 получали из ATCC (Манассас, Вирджиния, США) (номер по каталогу CRL–1619). Клеточную линию культивировали в DMEM (Life Technologies, номер по каталогу 11995) с добавлением 10% HI FBS (Life Technologies, номер по каталогу 10082–147) в 5% CO2 при 37°C. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Life Technologies, номер по каталогу 25200–056), ресуспендировали в DPBS (Life Technologies, номер по каталогу 14190–144), смешивали $3{,}0\times10^6$/100 мкл PBS с 100 мкл BD Matrigel Matrix (BD, номер по каталогу 354234) и SC имплантировали в правый бок самок мышей SCID.

[00252] Модель ксенотрансплантата KM12 (CRC). Самок мышей NOD.CB17–Prkdcscid/SCID (Jackson Laboratory, Бар Харбор, Мэн) в возрасте 10 недель и весом от 17,3 до 21,9 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США), стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при (22 ± 2°C) и относительной влажности (55 ± 15%). Клетки KM–12 получали из Американского национального института рака (NCI) (номер по каталогу 507345). Клетки выращивали в среде RPMI 1640 с L–глутамином (Gibco, номер по каталогу 11875) с добавлением 10% HI FBS (Gibco, номер по каталогу 10082) и инкубировали при 37°C с 5% CO2. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Gibco, номер по каталогу 25200), ресуспендировали в DPBS (Gibco, номер по каталогу 14190) и каждой мыши SC имплантировали по $5{,}0\times10^6$ клеток в 200 мкл DPBS с 50% матригелем (BD, номер по каталогу 356234) в правый бок самок мышей SCID.

[00253] Модель ксенотрансплантата RPMI8226 (миелома): Самок мышей NSG (Jackson Laboratory, Бар Харбор, Мэн) в возрасте 12 недель и весом от 19,8 до 26,6 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США), стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при (22 ± 2°C) и относительной влажности (55 ± 15%). Клетки RPMI8226 получали из ATCC(номер по каталогу CCL–155). Клетки выращивали в среде RPMI 1640 с L–глутамином (Gibco, номер по каталогу 11875) с добавлением 10% HIFBS(Gibco, номер по каталогу 10082) и инкубировали при 37°C с 5% CO2. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Gibco, номер по каталогу 25200), ресуспендировали в DPBS(Gibco, номер по каталогу 14190) и каждой мыши SC имплантировали по $5{,}0\times10^6$ клеток в 200 мкл DPBS с 50% матригелем (BD, номер по каталогу 356234) в правый бок самок мышей NSG.

[00254] Модель ксенотрансплантата NCI–N87 (опухоль желудочно–кишечного тракта): Самок NOD.CB17–Prkdcscid/SCID (Jackson Laboratory, Бар Харбор, Мэн) в возрасте

11 недель и весом от 18,3 до 22,7 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США), стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при (22 ± 2°C) и относительной влажности (55 ± 15%). Клетки NCI–N87 получали из ATCC (номер по каталогу CRL–5822). Клетки выращивали в среде RPMI 1640 с L–глутамином (Gibco, номер по каталогу 11875) с добавлением 10% HI FBS (Gibco, номер по каталогу 10082) и инкубировали при 37°C с 5% CO2. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Gibco, номер по каталогу 25200), ресуспендировали в DPBS (Gibco, номер по каталогу 14190) и каждой мыши SC имплантировали по $3{,}0\times10^6$ клеток в 200 мкл DPBS с 50% матригелем (BD, номер по каталогу 356234) в правый бок самок мышей SCID.

[00255] Модель ксенотрансплантата NCI–H1975 (NSCLC): Самок мышей NSG (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) в возрасте 10 недель и весом от 18,8 до 26,0 г акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней перед включением в исследование. У мышей был свободный доступ к еде (рацион для грызунов Harlan 2916, Массачусетс, США), стерильной воде, и они находились при 12–часовом цикле свет/темнота при (22 ± 2°C) и относительной влажности (55 ± 15%). Клетки NCI–H1975 получали из ATCC (номер по каталогу CRL–5908) и культивировали в среде RPMI 1640 с L–глутамином (Gibco, номер по каталогу 11875) с добавлением 10% HI FBS (Gibco, номер по каталогу 10082) и инкубировали при 37°C с 5% CO2. Клетки собирали с использованием 0,25% трипсин–EDTA (Gibco, номер по каталогу 25200), ресуспендировали в DPBS (Gibco, номер по каталогу 14190) и каждой мыши SC имплантировали по $5{,}0\times10^6$ клеток в 200 мкл DPBS с 50% матригелем (BD, номер по каталогу 356234) в правый бок самок мышей NSG.

[00256] **Повторное введение опухоли.** Самкам мышей C57BL/6J имплантировали клетки B16F10, как описано выше. Мышей обрабатывали с применением 4 внутриопухолевых инъекций (80 мкг mRNA/20 мкг на мишень) на 11, 13, 15 и 17 день смесью mRNA цитокинов ModB (IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα). После обработки с помощью mRNA цитокинов у 8 мышей не было опухолей. Через четыре недели после последней обработки с помощью mRNA цитокинов мышам без опухолей повторно вводили по 0,5 x 10^6 клеток B16F10/200 мкл на мышь путем SC инъекции и отслеживали рост опухоли.

[00257] **Контроль опухолей.** Опухоли измеряли штангенциркулем два раза в неделю до умерщвления по окончании. Когда размер опухоли достигал примерно 2000 мм^3 или возникали проблемы со здоровьем животных (изъязвление 20% площади опухоли), животных подвергали эвтаназии. Регрессию опухоли определяли как i) объем опухоли < 20 мм3 в конце исследования или ii) $T^F/T^0<1$, где T^F равен конечному объему опухоли, а T^0 равен объему опухоли в день первой внутриопухолевой инъекции mRNA.

[00258] **A–модификация mRNA (ModA).** Фрагменты синтетической ДНК, кодирующие представляющий интерес ген, клонировали в общий исходный вектор, содержащий 5'–UTR (соответствующую в некоторых случаях SEQ ID NO: 1), 3'–UTR,

состоящую из двух элементов, называемых F и I (соответствующую в некоторых случаях SEQ ID NO: 7), и поли–(A)–хвост из 110 нуклеотидов в целом (структура A30–линкер–A70, соответствующая в некоторых случаях SEQ ID NO: 78). Линеаризацию плазмидной ДНК проводили ниже поли(dA:dT) с помощью рестрикционного фермента класса IIS для получения матрицы без дополнительного нуклеотида за поли(dA:dT) (*см.* Holtkamp et al., *Blood* 108(13):4009–172006 (2006)). Линеаризованную плазмидную ДНК подвергали транскрипции in vitro с помощью T7 РНК–полимеразы (Thermo Fisher), как описано ранее (*см.* Grudzien–Nogalska E et al., *Methods Mol Biol.* 969:55–72 (2013)), в присутствии 7,5 мМ ATP, CTP, UTP, GTP и 6 мМ D1, бета–S–аналога кэп–структуры с правильной ориентацией (бета–S–ARCA, Cap0) (*см.* Kuhn AN et al, *Gene Ther.* 17(8):961–71 (2010)). РНК очищали с использованием магнитных частиц (*см.* Berensmeier S. *Appl Microbiol Biotechnol.* 73(3):495–504 (2006)), а концентрацию и качество РНК оценивали спектрофотометрически и анализировали с помощью систем капиллярного гель–электрофореза, соответственно.

[00259] **B–модификация mRNA (ModB)**. Фрагменты синтетической ДНК, кодирующие представляющий интерес ген, клонировали в общий исходный вектор, содержащий 5'–UTR (соответствующую в некоторых случаях лидерным последовательностям вируса гравировки табака TEV, SEQ ID NO: 3), 3'–UTR, состоящую из двух элементов, называемых F и I (соответствующую в некоторых случаях SEQ ID NO: 7), и поли–(A)–хвост из 110 нуклеотидов в целом (структура A30–линкер–A70). После линеаризации плазмидной ДНК, как описано выше, проводили транскрипцию in vitro с помощью T7 РНК–полимеразы (Thermo Fisher). Это осуществляли, как описано для ModA, но к реакции не добавляли кэп–структуру и UTP заменяли N1–метилпсевдоуридинтрифосфатом. Затем РНК очищали с использованием магнитных частиц (*Berensmeier 2006*) и впоследствии ферментативно вводили структуру Cap1 с использованием доступной для приобретения системы, основанной на ферменте кэппирования вируса осповакцины (NEB), и при добавлении mRNA–кэп 2'–O–метилтрансферазы (NEB). После этого РНК подвергали дополнительной процедуре очистки с помощью хроматографии с использованием целлюлозы для удаления примесей двухцепочечной РНК (см. Day PR et al, *Phytopathology* 67:1393 (1977); Morris TJ et al., *Phytopathology* 69:854–858 (1979) и Castillo A et al., *Virol J.* 8:38 (2011)). Концентрацию и качество РНК оценивали спектрофотометрически и анализировали с помощью систем капиллярного гель–электрофореза, соответственно. Присутствие dsRNA оценивали в анализе норсвестерн–блот с использованием dsRNA–специфического mAb J2 (English & Scientific Consulting), как описано в Karikó et al. *Nucleic Acids Res.* 39(21):e142 (2011).

[00260] **Оптимизация кодонов mRNA**. Кодирующая последовательность белка может влиять как на эффективность, так и на точность трансляции белка (*см.* Bossi L et al., *Nature.* 286(5769):123–7 (1980) и Irwin et al., *J Biol Chem.* 270(39):22801–6 (1995)).

[00261] Поэтому были разработаны и протестированы различные варианты кодонов для каждой мишени. При разработке различных вариантов кодонов для каждой мишени использовали общедоступное программное обеспечение от Life Technologies GmbH

GeneArt® (Регенсбург, Германия) (*см.* Raab D et al., *Syst Synth Biol.* 4(3):215–25 (2010)) и Eurofins MWG Operon (Эберсберг, Германия). Кроме того, оптимизацию кодонов выполняли вручную, редактируя каждый кодон отдельно. Содержание GC, сравнимое с последовательностью дикого типа, поддерживали в ходе процесса оптимизации.

[00262] Оценку и отбор конструкций устанавливали по экспрессии in vitro, проводимой с использованием: (i) липофекции mRNA в клетки HEK293T/17 и (ii) электропорации mRNA в клетки K562.

[00263] Сорок тысяч (40000) клеток HEK293T/17 (ATCC® CRL–11268™) высевали в 96–луночные планшеты с плоским дном (VWR International, номер по каталогу 734–1794) в DMEM с высоким содержанием глюкозы GlutaMAX™ (Life technologies, номер по каталогу 31966047), содержащую 0,5% FBS (Biochrom, номер по каталогу S 0115). Высеянные клетки в 96–луночных планшетах инкубировали при 37°C, 7,5% CO2 в течение 16–18 часов. Прикрепленные клетки HEK293T/17 трансфицировали с помощью РНК, используя реагент Lipofectamine Messenger MAX (Invitrogen, номер по каталогу LMRNA) в соответствии с протоколом производителя, добавляя 1,2 мкл реагента для трансфекции к 20 мкл OptiMEM (Thermo Fisher, номер по каталогу 31985070) в пробирку Safe–Lock Biopur® без РНКазы объемом 1,5 мл (Eppendorf, Германия, номер по каталогу 0030121589); во второй пробирке указанную РНК добавляли к 20 мкл OptiMEM. После 10 минут инкубации содержимое пробирки, содержащей РНК, разводили в пробирке, содержащей Lipofectamine Messenger MAX, и инкубировали еще 5 минут до добавления 10 мкл РНК–липидного комплекса по каплям в одну лунку 96–луночного планшета, содержащего клеточный слой HEK293T/17 в 100 мкл среды. 10 мкл РНК–липидного комплекса содержали 5 нг, 25 нг и 100 нг целевой РНК, соответственно. Планшеты помещали в инкубатор на 3 часа, после чего добавляли дополнительные 140 мкл свежей среды (DMEM+0,5% FBS). Трансфицированные клетки инкубировали в течение 15–18 часов и надосадочные жидкости собирали и анализировали на содержание белка с помощью ELISA, как описано в данном документе.

[00264] K562, клеточную линию человека, полученную при хроническом миелоидном лейкозе (ATCC® CCL–243™), культивировали в среде RPMI 1640 с GlutaMAX ™ (Life technologies, номер по каталогу 61870–044) с добавлением 5% FBS. K562 подвергали электропорации в 96–луночном планшете следующим образом. Клетки промывали один раз в среде X–VIVO15 (Lonza, номер по каталогу BE02–060Q) и суспендировали до конечной концентрации двести пятьдесят тысяч (250000) клеток/150 мкл в X–VIVO15. На лунку 96–луночного планшета, содержащего 5 нг, 25 нг или 100 нг РНК, добавляли 150 мкл клеточной суспензии. Клетки и РНК смешивали и проводили электропорацию в 96–луночной системе для электропорации клеток Gene Pulser MX от Biorad (250 В, импульс 1 x 30 мс). Сразу после электропорации клетки переносили в новый планшет для культивации со свежей средой без антибиотиков и оставляли на 1 час в инкубаторе при 37°C. Среду заменяли на свежую RPMI 1640 GlutaMAX с добавлением 0,5% FCS и инкубировали 15–18 часов. Надосадочные жидкости собирали и анализировали на

содержание белка с помощью ELISA, как описано в данном документе.

[00265] Концентрации белка определяли с помощью ELISA, специфичных для цитокина, кодируемого РНК, в соответствии с протоколом изготовителя. (i) DuoSet ELISA для комплекса человеческий IL–15sushi/IL–15sushi R–альфа (ii) система разработки DuoSet для мышиного IL–12sc (DY419–05) (iii) системы разработки DuoSet ELISA для мышиного GM–CSF (DY415), все получены от R&D Systems, а также набор ELISA для мышиного IFNα (TCM) (PBL Assay Science, 42120–2).

[00266] Для каждой целевой mRNA экспрессию белка оценивали для wt–последовательности и различных кодон–оптимизированных вариантов. Оба набора данных по липофекции HEK293T/17 и электропорации K562, каждый из которых тестировали с тремя различными количествами модифицированной РНК, рассматривали для отбора последовательности, кодирующей белок. Кодон–оптимизированную последовательность отбирали, если измеряли по меньшей мере 1,5–кратное увеличение экспрессии белка по сравнению с WT–последовательностью. В ином случае выбирали WT–последовательность. Для всех конструкций последовательности рестрикции EarI устраняли путем мутации последовательности распознавания ДНК (5’–CTCTTC–3'), сохраняя при этом аминокислоты WT.

[00267] **Клеточные линии**. Клеточную линию HEK293 (ATCC CRL–1573) и клеточные линии меланомы человека A101D (ATCC CRL–7798), A375 (ATCC CRL–1619), A2058 (ATCC CRL–11147) и Hs294T (ATCC HTB–140) получали из ATCC и культивировали в DMEM (ThermoFisher Scientific, номер по каталогу 11885–084) с добавлением 10% FBS HI FBS Life Technologies, номер по каталогу 10082) в увлажненной атмосфере 5% CO_2 при 37°C.

[00268] **Трансфекция mRNA**. Клетки трансфицировали с использованием реагента Lipofectamine MessengerMAX (Invitrogen, номер по каталогу LMRNA001) в соответствии с протоколом изготовителя. Коротко, для каждой лунки 0,3 мкл реагента для трансфекции разбавляли в 5 мкл среды Opti–MEM (Life Technologies, номер по каталогу 31985062) и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре; смеси mRNA разбавляли средой Opti–MEM (5 мкл на лунку) и смешивали с разбавленным реагентом MessengerMax, инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре и разделяли на аликвоты в 96–луночный планшет. Клетки разводили в полной питательной среде и по 40000 клеток на лунку добавляли в смеси для трансфекции. Клетки инкубировали в течение 24 часов при 37°C в CO_2–инкубаторе, затем собирали среду и определяли концентрацию цитокинов с помощью анализа Meso Scale Discovery (MSD).

[00269] **Анализ Meso Scale Discovery**. Концентрацию цитокинов определяли с использованием анализов MSD: набор MSD Провоспалительная панель 1 (для человека) (номер по каталогу N05049A–1) для IL12p70, набор MSD Цитокиновая панель 1 (для человека) (номер по каталогу N05050A–1) для GM–CSF и IL–15sushi, и высокочувствительный набор для IFN–α 2a человека (номер по каталогу N05050A–1) для IFNα. Данные анализировали с использованием программного обеспечения MSD Discovery

Workbench V. 4.0.12 и GraphPad Prism V.6.00.

[00270] **Выделение и обработка PBMC.** Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли в среде с градиентом плотности (Ficoll–Paque) из лейкопака (Research Blood Components). В каждую лунку 96–луночного планшета добавляли 600000 PBMC. Клетки обрабатывали смесью цитокинов в течение 24 часов, и выработку IFNγ измеряли в среде для культивирования клеток с использованием анализа на человеческий IFNγ 384–Tissue Culture MSD.

[00271] **Измерение ответа CD8.** Мыши, несущие опухоль B16F10, получали однократную внутриопухолевую инъекцию иммунологической mRNA (IFNα, IL–15sushi, GM–CSF и IL–12sc, ModB) или контрольной mRNA люциферазы (плацебо). Через семь дней после внутриопухолевой инъекции mRNA опухоли удаляли, обрабатывали для иммунофлуоресценции и окрашивали антителом к CD8 (серый). Как показано на фигуре 25, клетки CD8 присутствовали после внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов.

[00272] **Получение mRNA для исследований in vivo.** Смеси соответствующих mRNA готовили для исследований in vivo, смешивая равные количества (микрограммы) mRNA в воде при 2X предполагаемой дозе. Смесь mRNA замораживали при –80°C до дня внутриопухолевой инъекции. В день инъекции mRNA размораживали и смешивали с равным объемом 2X стерильного раствора Рингера. Полученный раствор 1X mRNA/Рингера использовали для внутриопухолевой инъекции.

[00273] **Анализ экспрессии генов.** Опухоли A375 гомогенизировали в буфере RLT (Qiagen) с использованием гомогенизатора Precellys 24 (Bertin Instruments). Общую РНК выделяли с помощью набора RNeasy–96 (Qiagen), следуя протоколу центрифугирования с обработкой ДНКазой. РНК элюировали водой без нуклеаз и количественно определяли по ультрафиолетовому поглощению с использованием NanoDrop 8000 (Thermo Scientific). Синтез cDNA проводили с использованием высокоэффективного набора RNA–to–cDNA (Applied Biosystems) в соответствии с рекомендациями изготовителя. ПЦР в реальном времени проводили на ViiA™7 (Applied Biosystems) в соответствии со стандартным протоколом. Амплификацию проводили с использованием мастер–микса для экспрессии генов TaqMan (Applied Biosystems) и предварительно разработанных анализов Taqman (Applied Biosystems). Экспрессию генов нормализовали к контрольной эндогенной GAPDH. Сравнительный способ ddCT использовали для оценки экспрессии генов.

Таблица 3.

Ген	**ID анализа**	**№ лота**	**Флуоресцентный краситель**
ISG15	Hs01921425_s1	1548867	FAM
ISG54	Hs01922738_s1	1532771	FAM
Mx1	Hs00895608_m1	1539223	FAM
hGAPDH	4326317E	1311049	VIC

Пример 2. Комбинации из трех mRNA уменьшают объем опухоли in vivo.

[00274] Смесь модифицированных mRNA, кодирующих GM–CSF, IL–2 и IL–12sc, вводили мышам, несущим опухоль B16F10, и рост опухоли отслеживали до 41 дня. Как показано на фигуре 1, внутриопухолевая инъекция комбинации трех mRNA, кодирующих GM–CSF, IL–2 и IL–12sc, имеющих ModA (SEQ ID NO: 32, 38 и 56; фиг. 1A), или комбинации трех mRNA, кодирующих GM–CSF, IL–2 и IL–12sc, имеющих ModB (SEQ ID NO: 35, 41 и 59; фиг. 1B), вызывала регрессию у 6 мышей из 10, тогда как мыши, обработанные контрольной mRNA, кодирующей люциферазу (ModA), демонстрировали регрессию опухоли у 1 животного из 10 (фиг. 1C). Эти данные подтвердили в повторном исследовании с аналогичной схемой (фиг. 1D–1G). В повторном эксперименте смесь mRNA цитокинов (GM–CSF, IL–2, IL–12sc) с ModA или ModB приводит к регрессии опухоли у 5 мышей из 9, тогда как обработка контрольной mRNA в ModA и ModB показала 2 из 9 и 0 из 9 регрессий опухоли, соответственно.

[00275] Эффекты mRNA цитокинов оценивали в опухолях CT26. Мышам с развившимися опухолями CT26 вводили смесь mRNA цитокинов, кодирующих GM–CSF, IL–2 и IL–12sc, в форматах ModA и ModB, соответственно. Включали две контрольные группы: i) разбавитель Рингера для mRNA и ii) mRNA ModA, кодирующую люциферазу светлячка. Всего провели 6 внутриопухолевых инъекций на 19, 21, 24, 26, 28 и 31 день. Как показано на фигуре 2, mRNA для GM–CSF, IL–2 и IL–12sc как с ModA (SEQ ID NO: 56, 32 и 38; фиг. 2A), так и с ModB (SEQ ID NO: 59, 35 и 41; фиг. 2B), приводили к регрессии опухоли у 5 и 6 из 8 мышей, соответственно, в то время как опухоли, обработанные контрольной mRNA в ModA (фиг. 2C) или раствором Рингера (фиг. 2D), не демонстрировали регрессию опухоли.

[00276] Смесь mRNA цитокинов, кодирующих IL–15sushi, GM–CSF и IL–12sc (ModB; SEQ ID NO: 53, 59 и 41), и IL–2, GM–CSF и IL–12sc (ModB; SEQ ID NO: 35, 59 и 41), оценивали на противоопухолевую активность на модели опухоли CT26. В опухоли вводили внутриопухолевые инъекции mRNA на 13, 15, 18, 20 и 22 день после инокуляции опухоли. Как показано на фиг. 3, внутриопухолевая инъекция либо смеси IL–2 (фиг. 3A), либо смеси IL–15sushi (фиг. 3B) приводила к регрессии опухоли у 5 из 10 или 11 животных с опухолями, соответственно (фиг. 3A и B), тогда как в контрольной группе с введением mRNA люциферазы (ModB) регрессия опухоли не наблюдалась (фиг. 3C).

[00277] Противоопухолевую активность смеси mRNA IL–2, IL–12sc и GM–CSF (фиг. 4A–ModA [SEQ ID NO: 32, 38 и 56], 4B–ModB [SEQ ID NO: 35, 41 и 59]) или IL–15sushi, IL–12sc и GM–CSF (фиг. 4C–ModA [SEQ ID NO: 50, 38 и 56], 4D–ModB [SEQ ID NO: 53, 41 и 59) дополнительно оценивали на модели опухоли B16F10. Мышам с опухолями B16F10 внутрь опухоли вводили mRNA на 11, 13, 15 и 17 день. Обработка опухолей B16F10 смесью mRNA цитокинов, которая кодировала IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, привела к регрессии опухоли у 3 и 4 из 8 мышей в ModA и ModB, соответственно. Опухоли, обработанные смесью mRNA IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModA или ModB), характеризовались регрессией опухоли у 4 из 8 мышей, в то время как регрессия опухоли у мышей, обработанных mRNA

в ModA или ModB, кодирующей люциферазу, не наблюдалась (фиг. 4E–ModA, фиг. 4F–ModB).

Пример 3. Комбинации из четырех mRNA уменьшают объем опухоли in vivo.

[00278] Затем авторы настоящего изобретения проверяли эффект добавления четвертой mRNA к смеси mRNA цитокинов. Мыши, несущие опухоли B16F10, получали четыре внутриопухолевые инъекции смеси mRNA цитокинов с ModB, кодирующей: i) GM–CSF, IL–2, IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 35 и 41; фиг. 5A), ii) GM–CSF, IL–15sushi, IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53 и 41; фиг. 5B) и iii) GM–CSF, IL–15sushi, IL–12sc, IFNα (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47; фиг. 5C), и отслеживали рост опухолей до дня 45. Каждая из смесей mRNA цитокинов оказывала противоопухолевый эффект с регрессией 4 из 8 опухолей после внутриопухолевой инъекции смесей mRNA цитокинов GM–CSF, IL–2 и IL–12sc или GM–CSF, IL–15sushi и IL–12sc, и 7 из 8 опухолей регрессировали при обработке с помощью GM–CSF, IL–15sushi, IL–12sc и IFNα. У мышей, обработанных контрольной mRNA (ModB), не наблюдалось регрессии опухоли (фиг. 5D).

[00279] Противоопухолевую активность GM–CSF, IL–2, IL–12sc и IFNα исследовали на трех различных моделях опухолей in vivo на мышах, CT26, B16F10 и MC38. Мыши, несущие опухоли, получали 4–6 внутриопухолевых инъекций mRNA цитокинов с ModB, кодирующих IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (SEQ ID NO: 35, 41, 59 и 47), или контрольной mRNA с ModB, кодирующей люциферазу светлячка. Противоопухолевую активность оценивали в каждой модели опухоли. У мышей, обработанных этой комбинацией mRNA цитокинов, происходила регрессия опухолей у 4/8, 7/8 и 5/5 на моделях CT26 (фиг. 6A), B16F10 (фиг. 6C) и MC38 (фиг. 6E), соответственно. Не наблюдалось регрессии опухоли у несущих опухоли мышей группы сравнения, получавших mRNA люциферазы (фиг. 6B [CT26], 6D [B16F10] и 6F [MC38]).

[00280] Противоопухолевую активность четырехкомпонентной смеси mRNA цитокинов, кодирующей каждый из IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB, SEQ ID NO: 35, 41, 59 и 47) или IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB, SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47), оценивали на модели опухоли CT26. Несущих опухоль мышей обрабатывали с помощью 6 внутриопухолевых инъекций и отслеживали рост опухоли. Обработка как с помощью IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (фиг. 7A), так и с IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (фиг. 7B), эффективно индуцировала регрессию опухоли у 4/8 и 8/8 мышей, соответственно, тогда как регрессии опухоли у мышей, обработанных контрольной mRNA, не наблюдалось (фиг. 7C). Эти данные подтвердили в повторном исследовании с аналогичной схемой (фиг. 7D–F).

[00281] Проводили исследование на модели опухоли CT26, в которой систематически удаляли отдельные компоненты из смеси mRNA IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB, SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47). В опухоли CT26 вводили mRNA цитокинов на 12, 15, 19 и 22 день после инокуляции. При обработке опухолей с помощью четырех инъекций mRNA, кодирующей IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα, регрессия индуцировалась во всех 10 обработанных опухолях (фиг. 8A). Обработка опухолей с помощью смеси mRNA ModB из i) IL–15sushi, IL–12sc и IFNα, ii) IL–15sushi, GM–CSF и

IFNα, iii) IL–12sc, GM–CSF и IFNα, iv) IL–15sushi, IL–12sc и GM–CSF приводила к регрессии 8, 6, 8, 7 из 10 опухолей, соответственно (фиг. 8B–E). Ни одна из опухолей, обработанных контрольной mRNA (ModB), не продемонстрировала регрессии опухоли (фиг. 8F). Чтобы проанализировать кинетику роста опухоли, средние объемы опухоли рассчитывали для каждой группы обработки до 33 дня (фиг. 8G). Наименьший средний объем опухоли наблюдали у мышей, обработанных смесью IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα, тогда как наибольший средний объем опухоли наблюдали у животных, обработанных люциферазой. Подавление роста опухоли T/C (опухоль/контроль на основании среднего объема опухоли) наносили на график до 19 дня (фиг. 8H) для каждой из групп обработки. Четырехкомпонентная смесь IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα показала наибольшее T/C.

[00282] По аналогии с исследованием, показанным на фигуре 8, проводили исследование, в котором систематически удаляли отдельные компоненты из смеси mRNA IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 35, 41, 59 и 47). В опухоли CT26 вводили 6 внутриопухолевых инъекций mRNA на 19, 21, 23, 26, 28 и 30 день. Обработка смесью mRNA цитокинов IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα приводила к регрессии опухоли у 4 из 10 животных, приведя к полной регрессии опухоли у 4 животных и стабильному заболеванию свыше 40 дней у двух особей (фиг. 9A). Опухоли, обработанные 3–компонентными смесями mRNA ModB: i) IL–2, IL–12sc и IFNα, ii) IL–2, GM–CSF и IFNα, iii) IL–12sc, GM–CSF и IFNα, и iv) IL–12sc, GM–CSF и IL–2, приводили к регрессии 2, 3, 3 и 4 опухолей, соответственно (фиг. 9B–E), и опухоли CT26, обработанные контрольной mRNA люциферазы, не показали регрессии опухоли (фиг. 9F).

[00283] Чтобы проанализировать кинетику роста опухоли, средние объемы опухоли рассчитывали для каждой группы обработки до 36 дня. Наименьший средний объем опухоли наблюдали у мышей, обработанных смесью IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα, тогда как наибольший средний объем опухоли наблюдали у животных, обработанных люциферазой (фиг. 10 A). Подавление роста опухоли T/C (опухоль/контроль на основании среднего объема опухоли) наносили на график до 30 дня (фиг. 10B) для каждой из групп обработки. Четырехкомпонентная смесь IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα показывала наибольшее T/C.

[00284] Противоопухолевый ответ от различных смесей mRNA цитокинов на фиг. 9 дополнительно анализировали следующим образом: рассчитывали изменение объема опухоли (ΔV), определяемое по разнице объема опухоли между измерением в конце эксперимента или при его окончании (V_t) и измерением в начале эксперимента (V_b) ($\Delta V = V_t - V_b$), для всех мышей в каждой из шести групп обработки, включая мышей, обработанных четырехкомпонентной смесью mRNA цитокинов (IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα), мышей, обработанных трехкомпонентной смесью, пропускающих один из четырех цитокинов, и мышей, обработанных контрольной mRNA люциферазы. Среднее значение (μ) и стандартное отклонение (σ) усеченных данных (с удалением верхних и нижних 10% исходных данных) по изменению объема опухоли рассчитывали для контрольной группы с

люциферазой, и тест нормальности по Шапиро–Вилку этих усеченных данных показал, что они примерно соответствовали нормальному распределению. Затем рассчитывали Z–оценку ($Z= (\Delta V - \mu)/\sigma$) для данных по изменению объема опухоли у каждой отдельной мыши из всех групп обработки. Рассчитывали соотношение (R) между каждым значением изменения объема опухоли и усеченным средним для контрольной группы ($R=\Delta V/\mu$). Учитывая определения, авторы настоящего изобретения рассматривали Z–оценку как «значимость уменьшения объема опухоли» и R как «степень уменьшения объема опухоли». Чтобы идентифицировать мышь, у которой наблюдается значительно меньшее увеличение объема опухоли, чем в контрольной группе с люциферазой (другими словами, "значительное уменьшение опухоли" по сравнению с контрольной группой), применяли пороговое значение $Z <= -1,645$ ($p(Z<=-1,645)=0,05$) и $R <=0,15$. Результаты показывали, что количество мышей в каждой группе обработки, характеризующихся значительно меньшим объемом опухоли, увеличивалось по сравнению с контрольной группой следующим образом: i) 6 из 8 мышей для смеси mRNA цитокинов IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB), ii) 2 из 8 мышей для IL–2, GM–CSF и IFNα (ModB), iii) 3 из 8 для IL–12sc, GM–CSF и IFNα и IL–2, IL–12sc, и IFNα и iv) 4 из 8 мышей, обработанных смесью mRNA цитокинов IL–2, IL–12sc и GM–CSF (ModB) (фиг. 11).

[00285] Самкам мышей C57BL/6J имплантировали клетки B16F10, как описано выше. Мышей обрабатывали с применением 4 внутриопухолевых инъекций (8 мкг mRNA/2 мкг на мишень) на 11, 15, 19 и 23 день смеси mRNA цитокинов ModB (IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα) или контрольной mRNA люциферазы. Обработка четырехкомпонентной смесью mRNA цитокинов приводила к отторжению опухоли у 6/10 обработанных мышей. См. фиг. 24B. Для сравнения, мышей без опухоли не наблюдали ни в одной из групп, обработанных с применением одной mRNA (фиг. 24C–F). Комбинация IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF, IFNα приводила к увеличению общей выживаемости с 60% мышей без опухоли на 70 день, тогда как все опухоли мышей, которых обрабатывали с применением mRNA одного цитокина, прогрессировали до стадии, когда животных необходимо подвергнуть эвтаназии (фиг. 24G). Контроль с люциферазой показан на фиг. 24A.

Пример 4. mRNA цитокинов оказывает защитный эффект при повторном введении опухолей.

[00286] Чтобы оценить влияние смеси mRNA цитокинов на развитие иммунологической памяти, провели эксперименты с повторным введением. Коротко, мышей, несущих опухоль B16F10, обрабатывали смесью mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (Mod B; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47). Часть опухолей B16F10, обработанных mRNA цитокинов, полностью регрессировала, что привело к появлению животных без опухолей. Затем этим животным без опухолей повторно вводили клетки B16F10 в качестве способа оценки адаптивной иммунной памяти, и 9 ранее не подвергавшимся воздействию мышам имплантировали опухолевые клетки B16F10 в качестве положительного контроля для приживления опухоли (фиг. 12A). У всех 9 не подвергавшихся ранее воздействию мышей, которым трансплантировали клетки B16F10,

развились опухоли, тогда как все восемь мышей без опухолей отторгали клетки B16F10 и не демонстрировали рост опухолей B16F10 (фиг. 12B). У части мышей, предварительно обработанных mRNA цитокинов, развилось локализованное витилиго в исходном участке опухоли (фиг. 12C). Этот эксперимент по существу повторили, и результаты показаны на фиг. 33.

[00287] Чтобы оценить влияние смеси mRNA цитокинов на развитие иммунологической памяти, проводили эксперимент с повторным введением с использованием модели опухоли CT26. Таким образом, мышей, несущих опухоль CT26, обрабатывали смесью mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (Mod B; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47). Часть опухолей CT26, обработанных mRNA цитокинов, полностью регрессировала, что привело к появлению животных без опухолей. Затем трем животным без опухолей повторно вводили опухолевые клетки CT26, а трем животным без опухолей повторно вводили опухолевые клетки CT26, в которых нокаутировали эпитоп gp70 (CT26–Δgp70). 9 и 10, соответственно, не подвергавшимся ранее воздействию мышам имплантировали опухолевые клетки CT26 и CT26–Δgp70 в качестве положительного контроля на приживление опухоли. На 21 день после инокуляции опухоли у 8 из 9 не подвергавшихся ранее воздействию мышей, которым трансплантировали опухолевые клетки CT26, развились опухоли, и у всех 10 не подвергавшихся ранее воздействию мышей, которым трансплантировали опухолевые клетки CT26–gp70, развились опухоли, тогда как все три мыши без опухолей в каждой группе отторгали клетки CT26 и CT26–Δgp70 и не демонстрировали роста опухолей CT26 и CT26–gp70, соответственно (фиг. 12D). Этот эксперимент показывает, что иммунологическая память при инъекции mRNA цитокинов на модели опухоли CT26 не ограничена T–клетками, специфичными для иммунодоминантного эпитопа gp70.

Пример 5.Системная противоопухолевая активность mRNA цитокинов.

[00288] Чтобы оценить способность локальной внутриопухолевой mRNA цитокинов проявлять системный противоопухолевый ответ, мышам трансплантировали опухолевые клетки B16F10 как на левом, так и на правом боку (фиг. 13A). Мыши, несущие двусторонние опухоли B16F10, получали четыре внутриопухолевые инъекции контрольной mRNA, кодирующей люциферазу, или смеси mRNA цитокинов, кодирующей IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47). В правую опухоль вводили mRNA с тремя различными уровнями дозы (80 мкг, 8 мкг и 0,8 мкг mRNA, что соответствует 20 мкг, 2 мкг и 0,2 мкг mRNA/мишень), тогда как опухоли на левом боку не обрабатывали. Дозозависимую противоопухолевую активность наблюдали как в опухолях с инъекцией (фиг. 13B), так и в опухолях без инъекции (фиг. 13C) с подавлением роста опухоли в диапазоне от 88% в опухоли без инъекции до 96% в опухоли с инъекцией. Группы, обработанные mRNA цитокинов, имели увеличенную медиану выживаемости по сравнению с группами, обработанными контрольной mRNA люциферазы (фиг. 13D).

[00289] Чтобы дополнительно оценить способность локальной внутриопухолевой mRNA цитокинов проявлять системный противоопухолевый ответ, мышам

трансплантировали опухолевые клетки B16F10 на правом боку и IV вводили инъекцию экспрессирующих люциферазу клеток B16F10 для индукции опухолей в легких (фиг. 19A). На 11, 14 и 18 день после SC имплантации опухоли мышам, несущим опухоли B16F10, вводили в общей сложности три внутриопухолевые инъекции mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47) только в опухоль на боку, в то время как опухоли в легких не обрабатывали. Контрольная группа получала внутриопухолевую инъекцию равных количеств контрольной mRNA без какой–либо кодирующей последовательности. Мышей умерщвляли для анализа конечной точки на 20 день, когда легкие вынимали и взвешивали. На фигуре 19B показаны иллюстративные измерения биолюминесценции четырех животных и снимки соответствующих легких, сделанные для визуализации темных опухолевых узлов. Рост опухоли у SC опухолей сильно подавлялся путем инъекции смеси mRNA цитокинов, тогда как опухоли с инъекцией контрольной mRNA постепенно росли, как изображено на фигуре 19C, показывающей средний объем опухоли для 15 мышей в каждой группе. Рост опухоли легких подавлялся у животных, которые получали внутриопухолевую инъекцию mRNA цитокинов в SC опухоли, по сравнению с животными, обработанными контрольной mRNA; на фигуре 19D показан анализ общего потока для измерений биолюминесценции у всех 15 животных на группу на 20 день, что коррелирует с опухолевой нагрузкой из–за опухолевых клеток, экспрессирующих люциферазу; линия обозначает медиану, а звездочка обозначает $p < 0{,}05$ при анализе с помощью T–критерия. Кроме того, легкие животных, которых обработали с помощью mRNA цитокинов, имели значительно меньшый вес (фиг. 19E, линия обозначает медиану). Более высокий вес легких животных, получавших контрольную РНК, обусловлен более высокой опухолевой нагрузкой.

Пример 6. mRNA цитокинов человека.

[00290] Для оценки in vitro экспрессии mRNA цитокинов человека смесь mRNA, кодирующую цитокины человека IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (SEQ ID NO: 26, 18, 29 и 23) (ModB), трансфицировали в клеточную линию HEK293 наряду с четырьмя линиями опухолевых клеток меланомы (A375, A101D, A2058 и Hs294T) (фиг. 14A). Смесь mRNA цитокинов проявляла дозозависимую экспрессию и секрецию на панели из пяти клеточных линий человека (фиг. 14B–F).

[00291] Фармакодинамические эффекты смеси mRNA человека IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b оценивали in vitro на мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC). Коротко, смесь mRNA цитокинов человека для IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (ModB) или mRNA отдельных цитокинов, кодирующих IL–12sc, IFNα2b, IL–15sushi или GM–CSF (ModB), трансфицировали в клетки HEK293 и кондиционированные среды собирали через 24 часа, разбавляли и добавляли к PBMC человека (фиг. 15A). Медианные уровни IFNγ от 6 доноров, обработанных смесью mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b, составляли 5623 пг/мл, тогда как обработка с помощью mRNA отдельных цитокинов для IL–12sc, IFNα2b, IL–15sushi или GM–CSF индуцировала медианные уровни IFNγ 534, 67, 17 и 4 пг/мл, соответственно (фиг. 15B).

[00292] Экспрессию *in vivo* смеси mRNA цитокинов человека IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (ModB) и IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (ModB) отслеживали в ксенотрансплантате меланомы человека A375. Мыши, несущие опухоли, получали однократную инъекцию mRNA цитокинов, и образцы опухолей собирали через 2 часа, 4 часа, 8 часов, 24 часа, 48 часов и 72 часа после инъекции mRNA. Получали лизаты опухолей и оценивали экспрессию отдельных цитокинов человека IFNα2b (фиг. 16A), IL–2 (фиг. 16B), IL–12sc (фиг. 16C), IL–15sushi (фиг. 16D), GM–CSF (фиг. 16E).

[00293] Зависимую от времени экспрессию наблюдали для каждого из отдельных цитокинов с максимальной концентрацией (Cmax), имеющей место между 2–8 часами для смесей IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (таблица 4) и IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (таблица 5).

Таблица 4. Результаты фармакокинетическогои исследования для смеси IL–15sushi

Опухоль	GM-CSF	IFNα2b	IL-12sc	IL-15sushi
$t_{1/2}$ (часы)	12,4	9,59	15,2	10,2
Tmax (часы)	4	4	8	4
Cmax (пг/мг)	1591	4862	3767	2639

Таблица 5. Результаты фармакокинетического исследования для смеси IL–2

Опухоль	GM-CSF	IFNα2b	IL-12sc	IL-2
$t_{1/2}$ (часы)	14,8	10,2	15,5	12,8
Tmax (часы)	2	2	8	2
Cmax (пг/мг)	2487	10685	4961	4274

[00294] Индукцию генов интерферона–альфа человека ISG15, ISG54 и MX1 отслеживали в опухолях A375 в качестве маркера фармакодинамики через 2 ч, 4 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч и 72 ч после инъекции mRNA смесей mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (ModB) и IL–2, IL–12sc, GM–CSF и IFNα2b (ModB). По сравнению с опухолями, обработанными контролем, опухоли A375, обработанные mRNA цитокинов, демонстрировали более чем 100–кратную индукцию ISG15 (фиг. 17A), ISG54 (фиг. 17B) и MX1 (фиг. 17C) с пиком индуцирования, имеющим место через 8 часов после внутриопухолевой инъекции mRNA.

Пример 7. Влияние интерферона.

[00295] Мыши, несущие опухоль B16F10, получали внутриопухолевые инъекции mRNA цитокинов ModA («стандарт»), кодирующих IL–2, лиганд Flt3 (FLT3L), 41BBL (также известный как CD137L или представитель 9 суперсемейства фактора некроза опухоли) и CD27L–CD40L (который содержит слитый белок растворимого домена CD27L, также известного как CD70, и CD40L, причем CD27L и CD40L состоят из трех растворимых доменов либо CD27L, либо CD40L, все из которых разделены последовательностями GS–линкера (фиг. 18A, SEQ ID NO: 32, 62, 68 и 74) или mRNA цитокинов ModB («модифицированная»), кодирующую IL–2, FLT3L, 41BBL и CD27L–CD40L (фиг. 18B, SEQ ID NO: 35, 65, 71 и 77). Кроме того, либо mRNA ModA, кодирующую IFNα (SEQ ID NO: 44), лтбо mRNA ModB, кодирующую IFNα (SEQ ID NO: 47), добавляли к смесям mRNA ModA или ModB, соответственно (фиг. 18D и 18E). Оценивали противоопухолевую активность.

[00296] У мышей, обработанных этой комбинацией mRNA ModA, было 4/9 мышей без опухолей без IFNα (фиг. 18B) и 3/9 мышей без опухолей с IFNα (фиг. 18D). Следовательно, обработка с помощью mRNA IFNα, по–видимому, не увеличивает ответ на цитокины, когда mRNA вводят в форме ModA.

[00297] Напротив, у мышей, обработанных комбинацией mRNA ModB, было 1/9 мышей без опухолей без IFNα (фиг. 18C) и 7/9 мышей без опухолей с IFNα (фиг. 18E). Таким образом, обработка с применением mRNA IFNα увеличивала ответ на смесь цитокинов, когда mRNA вводили в форме ModB.

Пример 8. mRNA цитокинов в комбинации с антителами.

[00298] Чтобы оценить эффект внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов в комбинации с системным введением антител, мышам трансплантировали опухолевые клетки B16F10 или MC38 на левом и правом боку. Мыши получали четыре внутриопухолевые инъекции смеси mRNA цитокинов из IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47) только в одну из боковых опухолей на 11, 15, 19, 23 день, в то время как другую боковую опухоль оставляли без обработки. Мыши также получали внутрибрюшинную инъекцию антитела к PD1 (модифицированный Sanofi для применения у мыши вариант крысиного IgG2a к мышиному PD–1 клона RMP1–14 в дозе 5 мг/кг) на 10, 13, 16, 19, 22, 25 день. Группы были следующими: 1) контрольная mRNA (80 мкг общей mRNA; 50 мкл внутриопухолевой инъекции в концентрации 1,6 мг/мл плюс антитело изотипического контроля (клон MOPC–21 (BioLegend); 5 мг/кг)); 2) контрольная mRNA плюс антитело к PD1; 3) mRNA цитокинов плюс антитело изотипического контроля; и 4) mRNA цитокинов плюс антитело к PD1. Общую выживаемость отслеживали на моделях опухолей B16F10 (фиг. 20A) и MC38 (фиг. 20B). В обеих моделях опухолей самую высокую общую выживаемость наблюдали при обработке комбинацией mRNA цитокинов и антитела к PD–1 с 60% мышей, несущих B16F10, и 80% мышей, несущих MC38, без опухолей в конце исследования. На модели опухоли B16F10 10% мышей, обработанных только mRNA цитокинов или антителом к PD–1, не имели опухолей, тогда как на модели MC38 40% мышей, обработанных только антителом к PD–1, и 30% мышей, обработанных

только цитокинами, были без опухолей. Результаты свидетельствуют о сильной противоопухолевой активности, связанной с комбинацией mRNA цитокинов и PD–1.

[00299] Чтобы дополнительно оценить способность локальной внутриопухолевой mRNA цитокинов в комбинации с антителом к PD–1 проявлять системный противоопухолевый ответ, мышам трансплантировали опухолевые клетки B16F10 на правом боку и IV вводили через день инъекцию экспрессирующих люциферазу клеток B16F10 для индукции метастазирования в легкие. На 11, 14 и 17 день после IV имплантации опухоли мышам с опухолями B16F10 вводили в общей сложности три внутриопухолевые инъекции mRNA цитокинов IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47) только в опухоль на боку, в то время как опухоли в легких не обрабатывали. В тот же день мышам также вводили внутрибрюшинные (IP) инъекции антитела к PD–1 (модифицированный Sanofi для применения у мыши вариант крысиного IgG2a к мышиному PD–1 клона RMP1–14 в дозее 10 мг/кг). Группы были следующими: 1) контрольная mRNA (40 мкг общей mRNA; 50 мкл внутриопухолевой инъекции антитела изотипического контроля (клон MOPC–21 (BioLegend); 10 мг/кг) (фиг. 20C); 2) контрольная mRNA плюс антитело к PD1 (фиг. 20D); 3) mRNA цитокинов плюс антитело изотипического контроля (фиг. 20E) и 4) mRNA цитокинов плюс антитело к PD1 (фиг. 20F). Отслеживали рост опухоли у SC опухолей (фиг. 20C–F), а также выживаемость (фиг. 20G). Общая выживаемость на этой модели определялась опухолевой нагрузкой, обусловленной SC опухолями, а также опухолью псевдометастазов в легких (не показано на этой фигуре); у некоторых мышей SC опухоль отторгалась, в то время как метастазы в легких постепенно росли. Наибольшую общую выживаемость наблюдали при обработке комбинацией mRNA цитокинов и антитела к PD–1. У 6–7% мышей, обработанных только с помощью mRNA цитокинов, не было опухолей, в то время как мышей, обработанных только антителом к PD–1 или контрольной mRNA+изотипическое антитело, умертвляли на 22 день из–за высокой опухолевой нагрузки. Результаты указывают на сильную противоопухолевую активность, связанную с комбинацией mRNA цитокинов и PD–1 на этой модели опухоли B16F10 с псевдометастазами легких, в то время как одно антитело к PD–1 не проявляло какой–либо противоопухолевой активности.

[00300] Чтобы дополнительно оценить эффект внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов в комбинации с системным введением антител, мышам трансплантировали опухолевые клетки CT26 на правом боку. Мыши получали четыре внутриопухолевые инъекции смеси mRNA цитокинов из IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47) на 11, 14, 18 и 21 день после инокуляции опухоли. В тот же день мыши также получали внутрибрюшинные (IP) инъекции антитела к CTLA–4 (100 мкг/200 мкл на мышь; клон 9H10 от InVivoMAb) или антитела изотипического контроля (100 мкг/200 мкл на мышь; IgG армянского хомяка от BioXCell). Группы были следующими: 1) mRNA цитокинов плюс антитело к CTLA–4 (фиг. 21A); 2) mRNA цитокинов плюс антитело изотипического контроля (фиг. 21B); 3) контрольная mRNA плюс антитело к CTLA–4 (фиг. 21C) и 4) контрольная mRNA плюс антитело изотипического контроля (фиг. 21D).

Комбинированная терапия с внутриопухолевой инъекцией mRNA цитокинов и IP инъекцией антитела к CTLA–4 приводила к самой сильной противоопухолевой активности с 12 мышами без опухоли из 16 на 55 день после инокуляции опухоли (фиг. 21A). Обработка либо с mRNA цитокинов с изотипическим контрольным антителом (фиг. 21B), либо контрольной mRNA с антителом к CTLA–4 (фиг. 21C) индуцировала меньшую противоопухолевую активность с 5 и 7 мышами без опухоли в конце исследования, соответственно. Для сравнения, в группе, которая получала контрольную mRNA с изотипическим контрольным антителом (фиг. 21D), по окончании исследования осталась только одна мышь без опухоли.

[00301] Чтобы дополнительно оценить эффект внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов в комбинации с антителом к CTLA–4, мышам трансплантировали опухолевые клетки B16F10 на правом боку. Мыши получали три внутриопухолевые инъекции смеси mRNA цитокинов из IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47) на 13, 17 и 20 день после инокуляции опухоли. На 13, 17, 20 и 24 день после инокуляции опухоли мыши также получали внутрибрюшинные (IP) инъекции антитела к CTLA–4 (100 мкг/200 мкл на мышь; клон 9H10 от InVivoMAb) или антитела изотипического контроля (100 мкг/200 мкл на мышь; IgG армянского хомяка от BioXCell). Отслеживали рост опухоли у SC опухолей, а также выживаемость. Группы были следующими: 1) mRNA цитокинов плюс антитело к CTLA–4 (фиг. 21E); 2) mRNA цитокинов плюс антитело изотипического контроля (фиг. 21F); 3) контрольная mRNA плюс антитело к CTLA–4 (фиг. 21G) и 4) контрольная mRNA плюс антитело изотипического контроля (фиг. 21H). Комбинированная терапия с внутриопухолевой инъекцией mRNA цитокинов и IP инъекцией антитела к CTLA–4 приводила к самой сильной противоопухолевой активности с 6 мышами без опухоли из 9 на 60 день после инокуляции опухоли (фиг. 21E). Обработка с применением mRNA цитокинов плюс антитело изотипического контроля (фиг. 21F) индуцировала меньшую противоопухолевую активность с 2 мышами без опухоли из 9 мышей. Для сравнения, в двух группах, которые получали либо контрольную mRNA плюс антитело к CTLA–4 (фиг. 21G), либо контрольную mRNA с изотипическим контрольным антителом (фиг. 21H), по окончании исследования не осталось ни одной мыши без опухоли. Процент выживаемости изображен на фиг. 21I, показывающей наибольшую общую выживаемость при комбинации mRNA цитокинов с обработкой антителом к CTLA–4 с 67% мышей с опухолями в конце исследования (день 70), тогда как у 33% мышей, обработанных только с помощью mRNA цитокинов, опухолей не было. Результаты указывают на сильную противоопухолевую активность, связанную отдельно с mRNA цитокинов и с mRNA цитокинов и антителом к CTLA–4 на этой модели опухоли B16F10, на которой само по себе антитело к CTLA–4 не проявляло какой–либо противоопухолевой активности.

Пример 9. Инъекция mRNA цитокинов при нескольких типах рака.

[00302] Чтобы оценить влияние внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов при различных типах рака, испытали пять мышиных моделей с ксенотрансплантатом – KM12 (CRC), RPMI8226 (миелома), NCI–N87 (опухоль желудочно–кишечного тракта), A375

(меланома) и NCI–H1975 (NSCLC), как описано в примере 1. Мышам, несущим опухоли KM12 (CRC), RPMI8226 (миелома), NCI–N87 (опухоль желудочно–кишечного тракта), A375 (меланома) и NCI–H1975 (NSCLC), вводили однократную внутриопухолевую инъекцию с использованием 8 мкг (2 мкг/мишень) смеси mRNA цитокинов человека для IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 26, 18, 29 и 23) и кодируемые цитокины оценивали в опухоли через 24 часа. Экспрессию каждого из 4 цитокинов IL–15sushi (фиг. 22D), IL–12sc (фиг. 22A), GM–CSF (фиг. 22C) и IFNα (фиг. 22B) обнаружили на всех пяти моделях ксенотрансплантата с самыми высокими уровнями цитокинов, наблюдаемыми в NCI–H1975, за которыми следуют A375, NCI–N87, RPMI8226 и KM12.

Пример 10. Дозозависимая экспрессия цитокинов в сыворотке после внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов.

[00303] Влияние различных внутриопухолевых доз mRNA на экспрессию кодируемых цитокинов исследовали в сыворотке мышей, которым трансплантировали одиночную опухоль A375 на правом боку. Мыши получали однократную внутриопухолевую инъекцию смеси mRNA цитокинов человека IL–15sushi, IL–12sc, GM–CSF и IFNα (ModB; SEQ ID NO: 26, 18, 29 и 23). Через 6 часов после внутриопухолевой инъекции mRNA собирали сыворотку и анализировали экспрессию цитокинов с помощью анализа Meso Scale Discovery. Дозозависимую экспрессию каждого из кодируемых mRNA цитокинов наблюдали в сыворотке от самой высокой дозы 80 мкг (20 мкг) до самой низкой дозы 0,0256 мкг (0,0064 мкг). Результаты показаны на фигурах 23A–D.

Пример 11. mRNA цитокинов ведет к размножению gp70+ CD8 T–клеток.

[00304] Мыши, несущие одиночную опухоль CT26 на одном боку, получали четыре внутриопухолевых инъекции смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (ModB; SEQ ID NO: 53, 41, 59 и 47). Кровь собирали через 13 дней после первого внутриопухолевого введения mRNA и количественно определяли T–клетки, специфичные для опухолевого антигена gp70, с помощью проточной цитометрии. Частота встречаемости T–клеток, специфичных для опухолевого антигена gp70, в крови была сильно увеличена у мышей при внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов по сравнению с мышами, которые получали контрольную РНК.

Пример 12. mRNA цитокинов индуцирует множественные провоспалительные пути и увеличивает количество иммунного инфильтрата как в обработанных, так и необработанных опухолях.

[00305] Мыши, несущие опухоли B16F10 на левом и правом боку, получали однократную внутриопухолевую инъекцию 80 мкг mRNA (20 мкг/мишень) в правую опухоль, которую инициировали с применением 0,5 x 10^6 клеток (обработанную), тогда как опухоль, инициированная с применением 0,25 x 10^6 клеток, осталась необработанной. Через семь дней после внутриопухолевой инъекции mRNA обе опухоли собирали и РНК выделяли и подвергали анализу секвенирования РНК. Как показано на фиг. 27A–C, обработка смесью mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47) активировала множественные провоспалительные пути, включая ряд генов

ответа гамма–IFN. Активация провоспалительных/связанных с гамма–IFN путей происходила как в обработанных, так и необработанных опухолях, подтверждая мнение, что локальная внутриопухолевая обработка оказывает системные иммуномодулирующие эффекты.

[00306] Провели анализ причинно–следственной сети (часть инструмента для анализа путей Ingenuity) на 3298 генах, которые дифференциально экспрессировались (1699 активированных и 1599 подавленных) между обработкой и контролем mRNA цитокинов в боку с инъекцией, и 4973 генах (2546 активированных и 2427 подавленных) в боку без инъекции, чтобы идентифицировать изменения в сигнальных путях, которые могут объяснить наблюдаемые изменения в экспрессии генов. Z–оценку рассчитывали для обозначения изменений в путях со знаками оценок, указывающими направление изменения (знак плюс указывает на активацию, тогда как знак минус указывает на подавление).

[00307] Иерархическую кластеризацию по экспрессии 328 генов, регулируемых IFNG (295 активируемых и 33 подавляемых), выполняли как в контрольных образцах, так и в образцах, обработанных mRNA цитокинов, как в опухолях с инъекцией, так и без инъекции. Экспрессию каждого гена в образцах нормализировали по z–оценке. Метрическое сходство, основанное на коэффициенте корреляции Пирсона, и способ полной связи используют для создания дендрограммы. См., **таблицу 6**.

[00308] Относительное содержание инфильтрированных иммунных клеток определяли путем расчета средней экспрессии признаков генов, специфичных для типа иммунных клеток.

[00309] **Таблица 6**

Ген	**IFNG_регуляция**	**Обработанные_смесью mRNA цитокинов/IgG1 относительно mRNA Luc/IgG1. Кратность изменения**	**Обработанные_смесью mRNA цитокинов/IgG1 относительно mRNA Luc/IgG1. Первичное значение P**	**Обработанные_смесью mRNA цитокинов/IgG1 относительно mRNA Luc/IgG1. FDR_BH**	**Необработанные_смесью mRNA цитокинов/IgG1 относительно mRNA Luc/IgG1. Кратность изменения**	**Необработанные_смесью mRNA цитокинов/IgG1 относительно mRNA Luc/IgG1. Первичное значение P**	**Необработанные_смесью mRNA цитокинов/IgG1 относительно mRNA Luc/IgG1. FDR_BH**

ABI 1	Активирует	1,6776	0,0073	0,0995	1,5218	0,0354	0,1551
ACOD 1	Активирует	31,6293	3,9652E–06	0,0024	6,1017	0,0096	0,0911
ADGRG2	Активирует	1,8174	0,0248	0,2076	1,3902	0,2293	0,4662
ADORA2B	Активирует	2,9657	0,0044	0,0752	1,4261	0,352	0,6138
AIF 1	Активирует	6,0406	0,0005	0,0201	4,7598	0,0032	0,057
AIM2	Активирует	9,9707	0,000085324	0,0086	3,4835	0,0276	0,1361
ANGPTL4	Активирует	2,0707	0,0293	0,2265	2,0904	0,0368	0,1586
APOL6	Активирует	10,3994	0,0017	0,0418	10,1341	0,0031	0,0564
APP	Активирует	2,0312	0,0006	0,0238	2,2382	0,0003	0,0276
ARFGAP3	Активирует	1,6535	0,0146	0,1517	1,0201	0,9237	1
ASS 1	Активирует	3,5414	0,0084	0,1093	–1,0202	0,9668	1
ATF 3	Активирует	5,5284	0,0006	0,0231	–1,1007	0,8409	1
B2M	Активирует	4,7005	0,000092097	0,0089	2,7946	0,0085	0,0859
BACH1	Активирует	2,2944	0,0098	0,1179	1,3281	0,3821	0,6482
BA	Актив	4,0479	0,0211	0,1885	1,6468	0,4201	0,6889

TF2	ирует						
BC L2L 11	Активирует	4,2973	0,0057	0,0868	1,1465	0,7946	1
BC L3	Активирует	4,4411	0,0167	0,1639	2,5676	0,1413	0,3455
BL NK	Активирует	4,2753	0,0003	0,0158	3,2008	0,0044	0,0643
BST 1	Активирует	16,9081	1,3371E–06	0,0016	6,6164	0,0007	0,0334
BT G1	Активирует	3,5307	0,0001	0,0102	–1,1775	0,5968	0,8607
C1Q A	Активирует	5,3999	0,0029	0,0588	1,3506	0,5911	0,8558
C1Q B	Активирует	5,955	0,0104	0,1219	3,531	0,0786	0,2408
C1Q C	Активирует	6,2282	0,0009	0,0307	2,7013	0,0707	0,2284
C2	Активирует	2,2866	0,0367	0,2598	2,5908	0,0242	0,1281
C3	Активирует	10,2057	0,0043	0,0734	11,6428	0,0044	0,0648
C4B	Активирует	3,3143	0,0154	0,1562	1,3973	0,5045	0,7768
C5A R1	Активирует	6,4343	0,000061281	0,0074	1,8122	0,1729	0,3925
CA MK 4	Активирует	2,5261	0,0011	0,0335	2,0726	0,012	0,1009
CA SP1	Активирует	8,2891	0,0079	0,1049	6,7759	0,0214	0,1263
CA SP4	Активирует	3,9281	0,0015	0,0389	1,2492	0,5969	0,8608
CC	Актив	6,225	0,0028	0,0579	9,5207	0,0007	0,0334

L11	ирует						
CC L17	Активирует	3,9738	0,0268	0,2146	3,0432	0,0868	0,2549
CC L2	Активирует	5,0444	0,0331	0,2446	1,9159	0,4045	0,6716
CC L22	Активирует	5,4223	0,000050981	0,0069	3,6151	0,002	0,0467
CC L3	Активирует	8,2215	0,0007	0,0259	4,7966	0,0129	0,1045
CC L4	Активирует	8,7234	0,0008	0,0287	2,8285	0,1042	0,2846
CC L5	Активирует	19,1375	0,000004935	0,0027	9,4224	0,0004	0,0299
CC L7	Активирует	4,7053	0,0068	0,0952	–1,2497	0,6964	0,9457
CC L8	Активирует	9,3589	0,0113	0,1283	3,9524	0,1286	0,3243
CC R1	Активирует	5,333	0,0012	0,0349	1,7221	0,2823	0,5325
CC R2	Активирует	5,8007	0,0025	0,0546	2,1931	0,1766	0,3975
CC R5	Активирует	10,8409	0,000010504	0,004	4,8697	0,0025	0,0512
CC RL2	Активирует	3,9822	0,002	0,0465	3,6428	0,0056	0,071
CD14	Активирует	5,6413	0,0025	0,0546	1,413	0,5406	0,8104
CD2	Активирует	13,539	0,0001	0,0095	5,0981	0,0138	0,1086
CD274	Активирует	11,0684	0,000096803	0,0091	3,4411	0,038	0,1616
CD38	Активирует	5,5697	0,0005	0,0212	1,4645	0,4221	0,6908
CD4	Актив	11,0285	0,0003	0,0158	1,2537	0,7201	0,9637

0	ирует						
CD40LG	Активирует	3,1168	0,0068	0,0952	1,1976	0,6673	0,9224
CD68	Активирует	6,1325	0,000040468	0,0063	3,6801	0,0029	0,0544
CD74	Активирует	30,4664	0,000057089	0,0072	5,9291	0,0291	0,1392
CD80	Активирует	4,1003	0,0005	0,0217	3,5579	0,0026	0,0517
CD86	Активирует	6,3927	0,0008	0,027	8,2257	0,0004	0,0289
CDKN2A	Активирует	1,9017	0,0117	0,1312	–1,2679	0,3579	0,6202
CEBPB	Активирует	4,4389	0,0007	0,0253	2,1429	0,0784	0,2404
CELSR1	Активирует	1,6953	0,0001	0,0107	1,1455	0,3001	0,5534
CERS6	Активирует	2,2538	0,0064	0,0927	1,717	0,0763	0,2363
CFB	Активирует	9,003	0,0001	0,0109	6,2886	0,0018	0,0444
CH25H	Активирует	4,3757	0,007	0,097	1,9042	0,2435	0,4858
CHRNE	Активирует	1,6587	0,0293	0,2263	1,0536	0,8254	1
CIITA	Активирует	6,2751	0,0008	0,0287	2,736	0,0651	0,2172
CLEC2D	Активирует	4,9639	0,0002	0,0135	2,6567	0,0223	0,1263
CLEC4E	Активирует	25,396	2,9823E–07	0,001	7,0201	0,0009	0,0355
CLI	Актив	2,2909	0,00002584	0,0053	1,4654	0,0399	0,1658

C4	ирует		7				
CM PK2	Активирует	2,6988	0,0048	0,0785	1,9213	0,0687	0,2249
CO RO1 A	Активирует	5,8653	0,0076	0,1019	2,1612	0,2494	0,4929
CP	Активирует	2,7012	0,0222	0,1945	1,2703	0,5885	0,8544
CSF 1	Активирует	5,3648	0,0071	0,0977	2,9314	0,0916	0,2624
CSF 2	Активирует	2,4249	0,0053	0,0828	1,8261	0,0635	0,2145
CSF 2RB	Активирует	7,8798	0,000014063	0,0041	3,3417	0,008	0,0833
CTS B	Активирует	2,9396	0,0192	0,1786	–1,5854	0,3271	0,5867
CTS D	Активирует	1,7662	0,0058	0,0873	1,5654	0,0351	0,1546
CTS H	Активирует	6,6723	0,0004	0,0189	3,0998	0,0341	0,1523
CTS S	Активирует	14,2913	0,000052305	0,0069	2,0554	0,2402	0,4813
CX CL1	Активирует	2,4631	0,0443	0,2909	2,3701	0,0679	0,223
CX CL10	Активирует	4,0615	0,0183	0,174	3,84	0,0314	0,1453
CX CL11	Активирует	6,3825	0,0032	0,0623	2,1745	0,2167	0,4494
CX CL12	Активирует	4,1992	0,0099	0,1191	3,9497	0,0188	0,1263
CX	Актив	11,7476	0,00001289	0,0041	2,7724	0,052	0,1919

CL16	ирует		8				
CXCL2	Активирует	17,8737	0,000065478	0,0076	2,0435	0,2897	0,5414
CXCL3	Активирует	2,5623	0,0157	0,1584	–1,1159	0,7808	1
CXCL9	Активирует	10,5652	0,002	0,0475	6,7433	0,0152	0,1139
CYBB	Активирует	10,2429	0,0001	0,0102	2,4115	0,1288	0,3246
CYLD	Активирует	2,1952	0,0005	0,0217	1,0366	0,8685	1
CYSLTR2	Активирует	4,6876	0,0015	0,0389	–1,3886	0,4896	0,7624
DAPK1	Активирует	2,9566	0,0202	0,1837	2,3734	0,0752	0,2341
DAXX	Активирует	2,5923	0,0255	0,2101	2,7152	0,0271	0,1349
DDIT3	Активирует	2,2027	0,0286	0,2233	2,4229	0,0212	0,1263
DDX58	Активирует	2,2084	0,0054	0,084	1,2566	0,422	0,6908
DPP4	Активирует	4,4101	0,047	0,3002	2,2805	0,2869	0,5383
DTX3L	Активирует	3,4716	0,000027857	0,0053	1,6387	0,0759	0,2356
EBI3	Активирует	5,2118	0,0003	0,0153	2,8451	0,0203	0,1263
ECE1	Активирует	3,9089	0,0033	0,0624	1,8673	0,1782	0,3996
EGLN3	Активирует	2,9572	0,0465	0,2989	1,0391	0,9453	1
EG	Актив	2,4479	0,0155	0,157	2,5764	0,0158	0,1159

R2	ирует						
ER AP1	Активирует	2,5669	0,0033	0,0634	2,2811	0,0134	0,1068
FA M26 F	Активирует	14,7052	0,0008	0,0279	26,6887	0,0002	0,0227
FAS	Активирует	7,0896	0,0003	0,0169	4,7216	0,0052	0,0695
FCE R1G	Активирует	6,7045	0,0007	0,0254	4,8631	0,0059	0,0728
FGF 2	Активирует	2,9272	0,0257	0,2106	1,8257	0,2249	0,4606
FGL 2	Активирует	12,456	9,3027E–06	0,0038	4,9116	0,0036	0,0599
FPR 2	Активирует	26,1833	0,000096227	0,0091	4,1758	0,0744	0,2328
FTH 1	Активирует	1,6855	0,0413	0,2791	2,2166	0,0045	0,0657
GB P2	Активирует	7,2783	0,0007	0,0248	6,7229	0,0017	0,0437
GB P3	Активирует	6,2795	0,0006	0,0222	3,0356	0,0358	0,156
GB P4	Активирует	18,7632	0,0002	0,0139	6,7981	0,0154	0,1146
GB P5	Активирует	18,254	0,0003	0,0157	7,5534	0,0118	0,1
GB P6	Активирует	6,4537	0,0004	0,0187	8,0969	0,0002	0,0266
GB P7	Активирует	4,3285	0,0017	0,0427	2,3295	0,0713	0,2296
GC H1	Активирует	3,9933	0,0057	0,0867	–2,2318	0,1144	0,3009
GN A13	Активирует	1,843	0,0129	0,1403	1,2404	0,3874	0,6539

GSDMD	Активирует	5,5069	0,000067203	0,0076	4,0075	0,0013	0,0403
GZMB	Активирует	10,9342	0,001	0,0323	11,0118	0,0018	0,0442
H2–M3	Активирует	6,3613	0,0003	0,0169	–1,2831	0,6129	0,8754
H2–Q7	Активирует	13,035	0,00007123	0,0078	13,2107	0,0001	0,0209
H2–T23	Активирует	9,9835	0,0035	0,0651	1,093	0,9091	1
HCAR2	Активирует	5,1405	0,0007	0,0254	3,0731	0,0206	0,1263
HCK	Активирует	7,0952	0,000025322	0,0053	4,1767	0,0019	0,0455
HIF1A	Активирует	1,661	0,0261	0,2122	1,117	0,6345	0,8942
HMOX1	Активирует	2,9191	0,0049	0,0797	2,2892	0,0345	0,1532
ICAM1	Активирует	5,8185	0,0005	0,0217	4,9939	0,0023	0,0487
ICOSL	Активирует	1,9545	0,0086	0,1107	1,8592	0,0203	0,1263
IDO1	Активирует	2,1676	0,007	0,097	1,5151	0,1535	0,3644
IFI27	Активирует	2,1198	0,0058	0,088	1,1685	0,5669	0,8345
IFI44	Активирует	10,2739	0,0001	0,0093	5,8893	0,0032	0,057
IFIH1	Активирует	3,3922	0,0001	0,0093	1,8886	0,0369	0,1588
IFIT1	Активирует	4,7651	0,000038724	0,0062	2,3488	0,0191	0,1263

IFIT 2	Активирует	2,6547	0,0381	0,266	1,6098	0,3269	0,5865
IFIT 3	Активирует	6,6433	0,0003	0,0153	2,3076	0,0981	0,2746
IFIT M1	Активирует	13,8818	0,0017	0,0427	4,0409	0,096	0,2703
IFIT M3	Активирует	5,3416	0,000049885	0,0069	4,6318	0,0003	0,0278
IFN G	Активирует	15,8295	0,000030559	0,0055	5,3984	0,0086	0,0862
IFN GR1	Активирует	4,6529	0,0003	0,0169	1,1624	0,713	0,9579
IKB KE	Активирует	3,6191	0,000070796	0,0078	2,1509	0,0151	0,1135
IL1 0RA	Активирует	6,6362	0,0006	0,0225	2,2744	0,1259	0,3198
IL1 2B	Активирует	1,5869	0,0237	0,2019	1,3356	0,1698	0,3882
IL1 2RB 1	Активирует	3,6563	0,0032	0,0623	2,7374	0,0261	0,1323
IL1 2RB 2	Активирует	10,8737	0,0001	0,0105	2,7693	0,0898	0,2596
IL1 5RA	Активирует	5,6222	0,0002	0,0124	3,263	0,01	0,0929
IL1 8BP	Активирует	13,3799	0,000016505	0,0045	2,6518	0,0808	0,2445
IL1 8R1	Активирует	10,5794	0,0004	0,0172	4,1773	0,0288	0,1387
IL1 8RA P	Активирует	12,8979	1,6368E–06	0,0016	3,9032	0,0058	0,0721
IL1	Актив	5,0611	0,0002	0,014	2,016	0,1006	0,2792

A	ирует						
IL1 B	Актив ирует	7,1785	0,0017	0,0427	2,9628	0,0846	0,2505
IL1 RL1	Актив ирует	3,2501	0,0421	0,2825	2,7191	0,0999	0,2778
IL1 RN	Актив ирует	11,4696	0,00001663 7	0,0045	3,5493	0,0183	0,1256
IL2 7	Актив ирует	5,0377	0,0003	0,0145	2,9655	0,0136	0,1077
IL2 RA	Актив ирует	12,629	0,00003673 5	0,0059	9,0232	0,0004	0,03
IL3 RA	Актив ирует	2,0071	0,0463	0,2977	–2,3554	0,0222	0,1263
INH BA	Актив ирует	7,0079	0,0006	0,0238	8,1176	0,0005	0,0316
IRF 1	Актив ирует	4,8896	0,0002	0,0136	4,2429	0,0011	0,0383
IRF 2	Актив ирует	3,0856	0,0001	0,0102	2,3475	0,0038	0,0609
IRF 4	Актив ирует	3,6001	0,0009	0,0303	2,7396	0,0107	0,0955
IRF 5	Актив ирует	6,3959	0,0039	0,0697	6,2724	0,0066	0,0767
IRF 7	Актив ирует	4,6951	0,0016	0,0408	2,6708	0,0468	0,1806
IRG M1	Актив ирует	3,5604	0,0205	0,1855	3,8887	0,0196	0,1263
ISG 15	Актив ирует	6,1635	0,0003	0,0158	2,64	0,0488	0,1845
ISG 20	Актив ирует	3,3567	0,0012	0,0349	3,9719	0,0006	0,0322
ITG A4	Актив ирует	2,0304	0,0397	0,272	2,0083	0,055	0,1984
ITG	Актив	16,3545	0,00003237	0,0056	6,1759	0,0055	0,0707

AL	ирует		7				
ITG AM	Активирует	8,5704	0,0093	0,1151	3,5033	0,1371	0,3385
ITG AX	Активирует	3,9189	0,0101	0,1202	2,0482	0,185	0,4084
ITG B2	Активирует	7,7479	0,0002	0,0124	6,9547	0,0006	0,0332
JAK 2	Активирует	1,6647	0,0461	0,2976	1,3678	0,2378	0,4779
JUN	Активирует	1,7589	0,0035	0,0649	–1,1739	0,4037	0,6708
KLF 4	Активирует	1,907	0,0409	0,2778	1,156	0,6546	0,9116
KLF 6	Активирует	2,4625	0,0037	0,0672	2,1351	0,0182	0,125
KY NU	Активирует	3,8871	0,008	0,1057	4,8859	0,0039	0,061
LA G3	Активирует	7,4221	0,0002	0,0114	2,156	0,1298	0,3262
LA T2	Активирует	2,6441	0,028	0,2208	1,5322	0,3475	0,6094
LC N2	Активирует	4,3524	0,0296	0,2275	16,3586	0,0003	0,0276
LCP 2	Активирует	8,4235	0,0004	0,0193	4,07	0,0205	0,1263
LG ALS 9	Активирует	1,6825	0,0051	0,0817	1,6728	0,0085	0,086
LST 1	Активирует	7,6841	0,02	0,1832	1,6707	0,5648	0,8328
LT A	Активирует	2,7386	0,0055	0,0851	2,4968	0,0157	0,1157
LTB	Активирует	8,1723	0,0014	0,0379	2,3655	0,1846	0,4079

LY6E	Активирует	5,1119	0,0028	0,0572	2,8148	0,061	0,2104
LY96	Активирует	2,4218	0,0302	0,2305	1,5311	0,3103	0,5661
LYN	Активирует	5,1219	0,001	0,0325	1,6841	0,2851	0,536
MAP3K8	Активирует	7,131	0,0009	0,0302	1,0205	0,9717	1
MEFV	Активирует	10,8378	0,000019758	0,0047	2,3756	0,0951	0,2688
MMP12	Активирует	6,4662	0,0035	0,0647	5,0068	0,015	0,1131
MX1	Активирует	6,1489	0,0128	0,1395	2,6469	0,1916	0,4171
MX2	Активирует	3,9804	0,0005	0,0205	1,8666	0,1068	0,2889
NAMPT	Активирует	2,341	0,0066	0,0943	–1,4194	0,2673	0,514
NAPSA	Активирует	4,3452	0,0003	0,0149	4,7434	0,0003	0,0272
NEURL3	Активирует	5,943	0,0009	0,0291	1,9354	0,2066	0,4363
NFKB1	Активирует	1,8089	0,0051	0,0815	1,0738	0,7351	0,9751
NFKBIA	Активирует	4,9409	0,000013016	0,0041	2,4668	0,0097	0,0912
NFKBIZ	Активирует	2,328	0,0073	0,0995	2,0257	0,0308	0,1436
NG	Актив	3,1687	0,0065	0,0933	3,4968	0,0055	0,0706

F	ирует						
NL RC5	Активирует	3,4173	0,0109	0,1261	2,2706	0,0985	0,2752
NL RP3	Активирует	5,11	0,0007	0,0254	3,4525	0,0111	0,0975
NM I	Активирует	2,0435	0,0228	0,1979	1,6117	0,1416	0,3459
NO D2	Активирует	3,5157	0,000018135	0,0045	2,5449	0,0013	0,0396
NO S2	Активирует	26,5216	2,2445E–06	0,0017	24,8128	7,9556E–06	0,0117
NO TC H1	Активирует	2,2952	0,0301	0,2303	1,4949	0,3078	0,5625
NR1 D1	Активирует	1,7995	0,0049	0,0799	1,8784	0,0045	0,065
NU PR1	Активирует	2,8421	0,001	0,0318	1,7353	0,0807	0,2444
OA S2	Активирует	3,8997	0,0003	0,0154	2,3682	0,0204	0,1263
OA S3	Активирует	14,5317	7,7153E–06	0,0034	4,0924	0,0123	0,1019
P2R Y14	Активирует	16,6314	0,0005	0,0204	4,8513	0,0471	0,1812
P2R Y6	Активирует	5,352	0,0001	0,0103	2,2094	0,0606	0,2093
PA RP9	Активирует	3,1267	0,0179	0,1716	–1,1573	0,7644	0,9977
PA RV G	Активирует	6,3047	0,0025	0,0539	1,2154	0,7444	0,9822
PD CD1 LG2	Активирует	11,6201	2,1928E–06	0,0017	3,9612	0,0045	0,065

PF4	Активирует	6,7372	0,0284	0,2226	–2,2437	0,3655	0,6285
PIM1	Активирует	4,0708	0,0003	0,0169	2,0732	0,0575	0,2034
PLA2G16	Активирует	4,8619	0,001	0,0309	1,3802	0,4886	0,7613
PLAU	Активирует	3,8214	0,00003401	0,0058	2,1662	0,0131	0,1056
PLEK	Активирует	5,9274	0,0049	0,0805	2,9561	0,0921	0,2632
PMAIP1	Активирует	3,4224	0,0002	0,0134	2,6199	0,0041	0,0627
PRDM1	Активирует	3,5702	0,0297	0,2283	4,0335	0,0251	0,13
PRKCD	Активирует	4,5574	2,2524E–07	0,001	2,0325	0,0066	0,0768
PRKCQ	Активирует	2,1379	0,0065	0,0932	2,1615	0,0089	0,087
PSMB10	Активирует	3,6197	0,005	0,0807	1,4724	0,3976	0,6643
PSMB8	Активирует	3,9093	0,0032	0,0615	2,652	0,0388	0,1637
PSMB9	Активирует	7,4132	0,0005	0,0197	4,5308	0,009	0,0877
PSME	Активирует	6,1609	0,0001	0,0096	3,9584	0,0037	0,06

1							
PTAFR	Активирует	8,5218	0,000052564	0,0069	2,2614	0,1024	0,2821
PTGES	Активирует	3,3225	0,0241	0,2039	1,61	0,3819	0,6479
PTGS2	Активирует	10,9036	0,0075	0,1017	3,9538	0,1309	0,3282
PTX3	Активирует	5,271	0,0253	0,2091	1,8833	0,4052	0,672
RAB20	Активирует	2,29	0,0257	0,2106	1,1261	0,7537	0,9893
RAC2	Активирует	7,9519	0,000098427	0,0091	3,7008	0,0123	0,1021
RIPK1	Активирует	1,6822	0,0456	0,2959	–1,1344	0,6373	0,8964
RSAD2	Активирует	3,916	0,0003	0,0152	1,6141	0,184	0,407
RTP4	Активирует	4,8033	0,0025	0,0537	2,5839	0,0696	0,2269
RUNX2	Активирует	5,3191	0,0001	0,0095	2,2697	0,0491	0,185
RUNX3	Активирует	5,5652	0,0012	0,0354	5,5875	0,002	0,0467
S100A10	Активирует	2,1419	0,001	0,0318	–1,0647	0,7799	1
S100A8	Активирует	10,9785	0,0065	0,0931	11,8118	0,0079	0,0832
S100A9	Активирует	5,1245	0,0058	0,0879	4,0622	0,0228	0,1263
S1P	Актив	2,8084	0,0426	0,2844	4,3054	0,0083	0,0851

R3	ирует						
SAMHD1	Активирует	6,8165	0,000028539	0,0053	5,2676	0,0004	0,0289
SELL	Активирует	9,0266	0,000036704	0,0059	2,6848	0,0503	0,1879
SEMA4A	Активирует	4,5461	0,0002	0,0134	7,1376	0,000014188	0,0118
SEPT3	Активирует	1,9813	0,0021	0,0484	1,2827	0,2581	0,5036
SERPINB9	Активирует	3,6968	0,0068	0,0955	1,3544	0,5306	0,8014
SERPINE1	Активирует	2,7348	0,0131	0,142	1,0382	0,9268	1
SERPING1	Активирует	8,5956	0,0003	0,0154	5,6206	0,0042	0,063
SHARPIN	Активирует	1,8222	0,0003	0,0169	–1,1856	0,2897	0,5414
SLAMF1	Активирует	4,2282	0,000066073	0,0076	1,8422	0,0753	0,2344
SLC11A1	Активирует	8,1631	0,0002	0,0114	6,6594	0,0009	0,0364
SLC15A3	Активирует	13,0122	0,0001	0,0093	4,2688	0,0238	0,1278
SLC16A	Активирует	2,2466	0,0273	0,2172	1,6072	0,21	0,4406

9							
SLC28A2	Активирует	6,903	0,0001	0,0096	1,4304	0,4466	0,7176
SLFN5	Активирует	3,7058	0,0022	0,0493	2,1361	0,0772	0,2383
SMAD7	Активирует	3,1247	0,0209	0,187	–1,1526	0,7767	1
SOCS1	Активирует	3,9437	0,011	0,1267	3,3365	0,0325	0,1481
SOD2	Активирует	2,6759	0,0047	0,0774	3,1489	0,0021	0,0475
SOD3	Активирует	2,1257	0,0158	0,1591	1,4255	0,2663	0,5128
SP100	Активирует	4,8282	7,0055E–06	0,0032	2,8699	0,0019	0,0452
SP110	Активирует	3,7976	0,0057	0,0867	1,1957	0,71	0,9556
SPI1	Активирует	10,5793	0,000055966	0,0071	6,5856	0,0014	0,0409
SPP1	Активирует	2,5268	0,0212	0,1893	2,4021	0,0384	0,1624
STAT1	Активирует	4,2736	0,0089	0,1122	3,9844	0,0176	0,1229
STAT2	Активирует	5,4847	0,000013182	0,0041	3,019	0,0035	0,0589
STAT4	Активирует	6,3819	0,0038	0,069	1,1576	0,8175	1
STAT6	Активирует	1,7399	0,0097	0,1171	1,7712	0,0116	0,0993
STX11	Активирует	3,6303	0,0058	0,088	1,7593	0,2306	0,4679
TAP	Актив	4,588	0,001	0,0323	2,7092	0,0329	0,1493

1	ирует						
TAP 2	Активирует	2,8268	0,0148	0,1526	1,5315	0,3257	0,585
TAP BP	Активирует	2,5416	0,0274	0,2176	1,7971	0,1801	0,4019
TAP BPL	Активирует	3,0796	0,0031	0,0609	2,4014	0,0251	0,13
TB X21	Активирует	3,8788	0,0008	0,0273	4,1566	0,0008	0,0354
TCI RG1	Активирует	2,7899	0,0005	0,0217	1,2508	0,4321	0,7008
TGF BR2	Активирует	1,9044	0,031	0,2346	1,2596	0,451	0,7222
TH BS1	Активирует	2,8135	0,005	0,0807	2,9522	0,0055	0,0707
TH EMI S2	Активирует	9,3368	0,0011	0,0339	6,5099	0,0079	0,0832
TH Y1	Активирует	5,5745	0,0036	0,0666	3,0999	0,0597	0,2073
TLR 1	Активирует	3,9534	0,0044	0,0751	4,9709	0,002	0,0463
TLR 2	Активирует	4,2854	0,0004	0,0173	1,0613	0,8785	1
TLR 7	Активирует	3,6076	0,0317	0,2384	1,1789	0,7874	1
TLR 8	Активирует	7,9426	0,0012	0,0349	1,5453	0,4846	0,7574
TLR 9	Активирует	7,0125	0,0004	0,0182	5,5003	0,0026	0,052
TM EM 50B	Активирует	2,2646	0,0029	0,0584	1,6005	0,089	0,2584
TNF	Актив	15,5761	0,00000154	0,0016	3,6025	0,014	0,1094

	ирует		9				
TNFAIP2	Активирует	4,2629	0,0043	0,0737	1,3184	0,5837	0,8504
TNFRSF11A	Активирует	3,7342	0,0089	0,1124	3,2927	0,0236	0,1273
TNFRSF14	Активирует	3,3507	0,0151	0,1547	2,0443	0,1615	0,3761
TNFRSF1B	Активирует	6,9767	0,0004	0,0187	3,0014	0,0433	0,1723
TNFSF10	Активирует	5,9466	0,0008	0,0286	2,8254	0,0505	0,1883
TNFSF12	Активирует	4,0396	0,0003	0,0145	3,0636	0,0039	0,061
TNFSF13	Активирует	3,7405	0,0229	0,1979	–1,7547	0,3434	0,6048
TNFSF13B	Активирует	4,2939	0,00009167	0,0089	1,0175	0,96	1
TRAFD1	Активирует	7,5123	0,000066493	0,0076	1,4364	0,4415	0,7113
TRIM21	Активирует	3,1067	0,0069	0,096	–1,1129	0,7984	1
TXK	Активирует	3,1599	0,0017	0,0418	1,8261	0,0992	0,2766
UBD	Активирует	39,4489	3,1101E–06	0,0021	20,5238	0,0001	0,0203

UBE2L6	Активирует	3,418	0,002	0,0464	4,4962	0,0005	0,031
USP18	Активирует	5,4886	0,0004	0,0192	1,697	0,258	0,5036
VCAM1	Активирует	7,3103	0,0003	0,0163	1,2409	0,6812	0,9337
WARS	Активирует	1,5033	0,0098	0,1179	1,8802	0,0003	0,0284
ZFP36	Активирует	3,0067	0,0051	0,0815	–1,1887	0,6585	0,9153
AHCY	Ингибирует	–2,0639	0,0374	0,2628	–1,8643	0,0878	0,2566
AQP1	Ингибирует	–2,6893	0,0012	0,0354	–2,9843	0,0008	0,0346
AZGP1	Ингибирует	–3,6306	0,0039	0,0701	–3,72	0,0054	0,0705
CSE1L	Ингибирует	–1,9528	0,0448	0,2931	–4,9001	0,000053442	0,0177
DHX9	Ингибирует	–1,9049	0,0192	0,1787	–1,3891	0,2439	0,4863
EMID1	Ингибирует	–2,5566	0,047	0,3003	–1,9661	0,1701	0,3887
FKBP6	Ингибирует	–4,1867	0,0043	0,0733	–2,2618	0,1075	0,2898
FLT4	Ингибирует	–1,7478	0,0248	0,2076	–1,6367	0,0588	0,2058
GMPR	Ингибирует	–2,9853	0,027	0,2154	–5,5877	0,0017	0,0432
GNAO1	Ингибирует	–2,2497	0,0179	0,1721	–1,0647	0,8565	1
HSP	Ингибирует	–1,9951	0,007	0,0974	–1,1404	0,6083	0,8715

90AB1	ирует						
IDI1	Ингибирует	–2,9218	0,004	0,0713	–2,402	0,023	0,1263
IGFBP4	Ингибирует	–3,3872	0,0211	0,1885	–3,0044	0,0473	0,1815
MIF	Ингибирует	–3,5707	0,0052	0,0828	–1,3189	0,5425	0,8124
MSH2	Ингибирует	–1,909	0,0328	0,2435	–1,7932	0,0664	0,2198
MYC	Ингибирует	–1,8764	0,0225	0,1962	–1,5059	0,1507	0,36
PBK	Ингибирует	–4,8198	0,0008	0,0287	–10,4275	0,000012076	0,0117
PCDH17	Ингибирует	–2,2868	0,0029	0,0588	–1,1447	0,6223	0,8835
PLCG1	Ингибирует	–1,6389	0,0439	0,2895	1,263	0,3564	0,6189
POLR2F	Ингибирует	–1,7137	0,0139	0,1473	–2,1058	0,0019	0,0456
POMP	Ингибирует	–1,5182	0,047	0,3002	–1,3884	0,1354	0,336
PRPF8	Ингибирует	–2,0788	0,0159	0,1593	–2,1397	0,0179	0,1239
PTGES2	Ингибирует	–1,9137	0,0278	0,2201	–1,0746	0,811	1
RAD18	Ингибирует	–2,1129	0,0032	0,0615	–1,7251	0,0354	0,1551
SF3A1	Ингибирует	–1,598	0,0042	0,0729	–1,2281	0,2111	0,4418
SLC12A2	Ингибирует	–2,8366	0,0039	0,0697	–3,5987	0,0011	0,0373

SMTN	Ингибирует	–1,8432	0,0398	0,2725	–1,2994	0,3927	0,6593
SQLE	Ингибирует	–4,0941	0,0396	0,2717	–4,8892	0,0296	0,1404
SREBF2	Ингибирует	–2,3929	0,0032	0,0615	–3,5164	0,0001	0,0209
SSBP1	Ингибирует	–1,5752	0,0094	0,1156	1,0074	0,9665	1
TMEM158	Ингибирует	–1,6002	0,044	0,2897	1,4394	0,1352	0,3357
TYMP	Ингибирует	–2,6432	0,0448	0,2928	1,469	0,4412	0,7111
UNC5B	Ингибирует	–2,3093	0,0267	0,2143	–1,5396	0,2666	0,5132

Пример 13. mRNA цитокинов увеличивает количество CD4+ и CD8+ Т–клеток как в обработанных, так и необработанных опухолях.

[00310] Мыши, несущие опухоли B16F10 на левом и правом боку, получали однократную внутриопухолевую инъекцию 80 мкг mRNA (20 мкг/мишень) в правую опухоль, которую инициировали с применением 0,5 x 10^6 клеток только для одной из опухолей (обработанной), тогда как другая опухоль, инициированная с применением 0,25 x 10^6 клеток, осталась необработанной. Через семь дней после внутриопухолевой инъекции mRNA обе опухоли собирали и обрабатывали для окрашивания в IHC (иммунофлуоресцентной микроскопии) антителами к клеткам CD4+, CD8+ и FoxP3+. Мышей с опухолями на фиг. 28A и 28B обрабатывали с помощью mRNA цитокинов, тогда как мышей с опухолями на фиг. 28C и D обрабатывали контрольной mRNA. Панели A и C взяты из опухолей с инъекцией mRNA, тогда как панели B и D взяты из соответствующей контралатеральной опухоли без инъекции. (фиг. 28A–D). Как для обработанной mRNA цитокинов, так и для обработанной контрольной mRNA группы 5 опухолей с инъекцией РНК и соответствующие 5 контралатеральных опухолей без инъекции подвергали иммунофлуоресцентному окрашиванию на клетки CD4+, CD8+, FOXP3+. Относительная частота встречаемости и соотношение клеток представлены на фиг. 28E, F, G. Результаты показывают, что смесь mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47) увеличивает инфильтрацию CD8+ и CD4+ Т–клеток, приводя к изменению соотношения CD8+/Treg. Повышение иммунной инфильтрации происходило как в обработанных, так и необработанных опухолях, подтверждая мнение о том, что что локальная внутриопухолевая обработка оказывает системные иммуномодулирующие эффекты.

Пример 14. mRNA экспрессируется как в опухолевых, так и в инфильтрирующих иммунных клетках.

[00311] Мыши, несущие одиночную опухоль B16F10, получали однократную внутриопухолевую инъекцию mRNA, кодирующей белок Thy1.1 (фиг. 29A–G). Примерно через 18 часов после внутриопухолевой инъекции опухоль отделяли, окрашивали панелью антител и проводили проточную цитометрию для определения клеток, экспрессирующих белок Thy1.1. Результаты показывают, что как опухолевые, так и иммунные клетки поглощают и экспрессируют mRNA.

Пример 15. Дозозависимая экспрессия в опухоли и PD–ответ после внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов.

[00312] Мыши, несущие опухоли B16F10, получали однократную инъекцию mRNA с применением 80, 8 или 0,8 мкг смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47). Примерно через 6 часов после внутриопухолевой инъекции опухоль удаляли и лизировали, и в лизате опухоли количественно определяли уровни IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc, гамма–IFN и IP–10. На фигурах 30A–F показано, что mRNA цитокинов экспрессировалась внутрь опухоли в зависимости от дозы.

[00313] В отдельном эксперименте мыши, несущие опухоли B16F10, получали однократную инъекцию mRNA с применением 80, 8 или 0,8 мкг смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47). Через семь дней после после внутриопухолевой инъекции mRNA цитокинов опухоли отделяли, окрашивали панелью антител и анализировали с помощью проточной цитометрии. Использовали антитела к мышиному: CD45, CD4, CD3, CD8, CD279, гамма–IFN, TNF–альфа, FOXP3, гранзиму B. Результаты показывают, что обработка смесью mRNA цитокинов изменила соотношение CD8+/Treg (фиг. 31A–B), привела к увеличению частоты встречаемости полифункциональных CD8+ T–клеток в микроокружении опухоли (фиг. 31C–D), к повышению количества PD–L1 на инфильтрирующих миелоидных клетках (фиг. 31E) и повышению уровней PD–1 на инфильтрирующих CD8+ T–клетках (фиг. 31F).

[00314] В дополнительном эксперименте мыши, несущие опухоли B16F10, на левом и правом боку получали однократную внутриопухолевую инъекцию смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47) или контрольной mRNA только в одну из опухолей (обработанную), в то время как другая опухоль оставалась необработанной. Через семь дней после внутриопухолевой инъекции mRNA опухоль с инъекцией собирали и обрабатывали для окрашивания в проточной цитометрии антителами к CD45+, CD8+, CD3+ и гранзиму B. Результаты показывают, что смесь mRNA цитокинов увеличивала частоту встречаемости внутриопухолевых CD8+ T–клеток с гранзимом B в опухоли (фиг. 31G–H).

Пример 16. Введенная внутрь опухоли mRNA главным образом экспрессируется в опухоли.

[00315] Мыши, несущие опухоли B16F10 получали однократную внутриопухолевую инъекцию 50 мкг mRNA, кодирующей люциферазу светлячка. В моменты времени 6 и 24

часа 3 мышей умерщвляли и опухоль, печень, селезенку, лимфатический узел, дренирующий опухоль (TDLN), и лимфатический узел, не дренирующий опухоль (NDLN), анализировали ex vivo на экспрессию люциферазы. На фигурах 32A–B показано, что экспрессия люциферазы была самой высокой в опухоли, в которой экспрессия была более чем в 100 раз выше, чем в любой другой ткани.

Пример 17. CD4+, CD8+ и NK–клетки вносят вклад в противоопухолевую активность mRNA цитокинов в модели B16F10.

[00316] Группы мышей, несущих опухоли B16F10 обрабатывали с помощью 100 мкг истощающих антител (антитело к CD4, антитело к CD8, антитело к NK1.1) путем внутрибрюшинной инъекции один раз в неделю в течение в общем 4 недель. Опосредованное антителами снижение количества клеток инициировали за один день до обработки с помощью 80 мкг смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47). Отслеживали влияние истощения антителами на общую выживаемость. Результаты, показанные на фигуре 34, указывают, что отдельное истощение CD8+, CD4+ или NK–клеток в разной степени снижало противоопухолевую активность mRNA цитокинов и общую выживаемость.

Пример 18. Противоопухолевая активность mRNA цитокинов не наблюдается у мышей с дефицитом IFN–гамма.

[00317] Мышам C57BL6J WT и мышам C57BL6J с дефицитом мышиного IFNγ (IFNγ KO) имплантировали опухолевые клетки B16F10, как описано в примере 1. Мышей обрабатывали с помощью внутриопухолевой инъекции 80 мкг (20 мкг/мишень) смеси mRNA цитокинов IL–15sushi, GM–CSF, IFNα и IL–12sc (SEQ ID NO: 59, 53, 41 и 47) или 80 мкг контрольной mRNA и отслеживали общую выживаемость. Результаты, представленные на фигуре 35, показывают, что мыши, лишенные IFNγ, не проявляли обнаруживаемого противоопухолевого ответа при обработке mRNA цитокинов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция или медицинский препарат, содержащие РНК, кодирующую белок IL–12sc, РНК, кодирующую белок IL–15sushi, РНК, кодирующую белок IFNα, и РНК, кодирующую белок GM–CSF.

2. Композиция по п. 1.

3. Медицинский препарат или композиция по п. 1 или п. 2, где белок IFNα представляет собой белок IFNα2b.

4. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–3, где (i) РНК, кодирующая белок IL–12sc, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 17 или 18 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 17 или 18, и/или (ii) белок IL–12sc содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14.

5. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–4, где (i) РНК, кодирующая белок IL–15sushi, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 26 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 26, и/или (ii) белок IL–15sushi содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24.

6. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–5, где (i) РНК, кодирующая белок IFNα, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 22 или 23 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 22 или 23, и/или (ii) белок IFNα содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 19 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19.

7. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–6, где (i) РНК, кодирующая белок GM–CSF, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 29 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 29, и/или (ii) белок GM–CSF содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 27 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27.

8. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–7, где по меньшей

мере одна РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо по меньшей мере одного уридина.

9. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–7, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина.

10. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–7, где каждая РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо по меньшей мере одного уридина.

11. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–7, где каждая РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина.

12. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 8–11, где модифицированный нуклеозид независимо выбран из псевдоуридина (ψ), N1–метилпсевдоуридина (m1ψ) и 5–метилуридина (m5U).

13. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 7–11, где по меньшей мере одна РНК содержит более чем один тип модифицированного нуклеозида, где модифицированные нуклеозиды независимо выбраны из псевдоуридина (ψ), N1–метилпсевдоуридина (m1ψ) и 5–метилуридина (m5U).

14. Медицинский препарат или композиция по п. 12, где модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин (m1ψ).

15. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–14, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

16. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–15, где каждая РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

17. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–16, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6.

18. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–17, где каждая РНК содержит 5'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6.

19. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–18, где по меньшей мере одна РНК содержит 3'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

20. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–19, где каждая РНК содержит 3’–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

21. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–20, где по меньшей мере одна РНК содержит поли–A–хвост.

22. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–21, где каждая РНК содержит поли–A–хвост.

23. Медицинский препарат или композиция по п. 21 или п. 22, где поли–A–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

24. Медицинский препарат или композиция по п. 21 или п. 22, где поли–A–хвост предусматривает поли–A–хвост, представленный под SEQ ID NO: 78.

25. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–24, где одна или несколько РНК содержат:

a. 5’–кэппирующую последовательность, содержащую $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или 3′–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$;

b. 5’–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6;

c. 3’–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO:8; и

d. поли–A–хвост, содержащий по меньшей мере 100 нуклеотидов.

26. Медицинский препарат или композиция по п. 25, где поли–A–хвост содержит SEQ ID NO: 78.

27. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–26, которые представляют собой фармацевтическую композицию, содержащую РНК.

28. Медицинский препарат или композиция по п. 27, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей и/или вспомогательных веществ.

29. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–28, где РНК составлена в виде жидкости, составлена в виде твердого вещества или их комбинации.

30. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–29 для фармацевтического применения.

31. Медицинский препарат или композиция по п. 30, где фармацевтическое применение предусматривает терапевтическое или профилактическое лечение заболевания

или нарушения.

32. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–31 для применения в способе лечения или предупреждения солидной опухоли.

33. Медицинский препарат или композиция по п. 32, где солидная опухоль представляет собой саркому, карциному или лимфому.

34. Медицинский препарат или композиция по любому из п. 32 или п. 33, где солидная опухоль находится в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

35. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 32–34, где солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, мелкоклеточную опухоль легкого, опухоль–нейробластому, опухоль яичка, опухоль–карциному, опухоль–аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому.

36. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–35, где РНК предназначена для внутриопухолевого или околоопухолевого введения.

37. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–36, где РНК составлена для инъекции.

38. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–36, где РНК предназначена для применения путем инъекции.

39. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 1–38, которая предназначена для введения человеку.

40. Медицинский препарат или композиция по любому из пп. 32–39, где лечение или предупреждение солидной опухоли предусматривает уменьшение размера опухоли, предупреждение рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждение метастазирования рака у субъекта.

41. Набор, содержащий композицию по любому из пп. 1–29.

42. Медицинский препарат по любому из п. 1 или пп. 3–29, где медицинский препарат представляет собой набор.

43. Медицинский препарат по п. 42, где РНК находятся в отдельных флаконах.

44. Набор по любому из пп. 40–43, дополнительно содержащий инструкции по применению композиции для лечения или предупреждения солидной опухоли.

45. РНК для применения в способе лечения или предупреждения солидной опухоли у субъекта, где способ включает введение РНК, кодирующей белок IL–12sc, РНК, кодирующей белок IL–15sushi, РНК, кодирующей белок IFNα, и РНК, кодирующей белок

GM–CSF.

46. Применение РНК, кодирующей белок IL–12sc, белок IL–15sushi, белок IFNα и белок GM–CSF, для лечения солидной опухоли.

47. РНК или применение по любому из пп. 45–46, где белок IFNα представляет собой белок IFNα2b.

48. РНК или применение по любому из пп. 45–47, где (i) РНК, кодирующая белок IL–12sc, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 17 или 18 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 17 или 18, и/или (ii) белок IL–12sc содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 14.

49. РНК или применение по любому из пп. 45–48, где (i) РНК, кодирующая белок IL–15sushi, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 26 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 26, и/или (ii) белок IL–15sushi содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 24.

50. РНК или применение по любому из пп. 45–49, где (i) РНК, кодирующая белок IFNα, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 22 или 23 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 22 или 23, и/или (ii) белок IFNα содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 19 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 19.

51. РНК или применение по любому из пп. 45–50, где (i) РНК, кодирующая белок GM–CSF, содержит нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 29 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 29, и/или (ii) белок GM–CSF содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 27 или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27.

52. РНК или применение по любому из пп. 45–51, где по меньшей мере одна РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо по меньшей мере одного уридина.

53. РНК или применение по любому из пп. 45–52, где по меньшей мере одна РНК

содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина.

54. РНК или применение по любому из пп. 45–53, где каждая РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо по меньшей мере одного уридина.

55. РНК или применение по любому из пп. 45–54, где каждая РНК содержит модифицированный нуклеозид вместо каждого уридина.

56. РНК или применение по любому из пп. 52–55, где модифицированный нуклеозид независимо выбран из псевдоуридина (ψ), N1–метилпсевдоуридина (m1ψ) и 5–метилуридина (m5U).

57. РНК по любому из пп. 52–55, где по меньшей мере одна РНК содержит более чем один тип модифицированного нуклеозида, где модифицированные нуклеозиды независимо выбраны из псевдоуридина (ψ), N1–метилпсевдоуридина (m1ψ) и 5–метилуридина (m5U).

58. РНК или применение по п. 56, где модифицированный нуклеозид представляет собой N1–метилпсевдоуридин (m1ψ).

59. РНК или применение по любому из пп. 45–58, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или $3'$–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

60. РНК или применение по любому из пп. 45–59, где каждая РНК содержит 5'–кэппирующую последовательность $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или $3'$–O–Me–$m^7G(5')ppp(5')G$.

61. РНК или применение по любому из пп. 45–60, где по меньшей мере одна РНК содержит 5'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6.

62. РНК или применение по любому из пп. 45–61, где каждая РНК содержит 5'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6.

63. РНК или применение по любому из пп. 45–62, где по меньшей мере одна РНК содержит 3'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

64. РНК или применение по любому из пп. 45–63, где каждая РНК содержит 3'–UTR, содержащую нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 8.

65. РНК или применение по любому из пп. 45–64, где по меньшей мере одна РНК содержит поли–А–хвост.

66. РНК или применение по любому из пп. 43–65, где каждая РНК содержит поли–А–хвост.

67. РНК или применение по п. 65 или п. 66, где поли–А–хвост содержит по меньшей мере 100 нуклеотидов.

68. РНК или применение по п. 65 или п. 66, где поли–А–хвост предусматривает поли–А–хвост, представленный под SEQ ID NO: 78.

69. РНК или применение по любому из пп. 45–68, где одна или несколько РНК содержат:

a. 5'–кэппирующую последовательность, содержащую $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ или $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$;

b. 5'–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6, или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4 и 6;

c. 3'–UTR, содержащую (i) нуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 8 или (ii) нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% или 80% идентичностью с нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO:8; и

d. поли–А–хвост, содержащий по меньшей мере 100 нуклеотидов.

70. РНК или применение по п. 69, где поли–А–хвост содержит SEQ ID NO: 78.

71. РНК или применение по любому из пп. 45–70, где способ дополнительно включает применение дополнительного вида терапии.

72. РНК или применение по п. 71, где дополнительный вид терапии предусматривает один или несколько видов терапии, выбранных из группы, состоящей из: (i) хирургической операции по удалению, резекции или уменьшению массы опухоли, (ii) иммунотерапии, (iii) лучевой терапии и (iv) химиотерапии.

73. РНК или применение по п. 71 или п. 72, где дополнительный вид терапии предусматривает введение дополнительного терапевтического средства.

74. РНК или применение по п. 73, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой противораковое терапевтическое средство.

75. РНК или применение по п. 73 или п. 74, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой модулятор контрольной точки.

76. РНК или применение по п. 75, где модулятором контрольной точки является антитело к PD1, антитело к CTLA–4 или комбинация антитела к PD1 и антитела к CTLA–4.

77. РНК или применение по любому из пп. 45–76, где солидная опухоль представляет собой саркому, карциному или лимфому.

78. РНК или применение по любому из пп. 45–77, где солидная опухоль находится в легком, толстой кишке, яичнике, шейке матки, матке, брюшине, яичках, пенисе, языке, лимфатическом узле, поджелудочной железе, кости, молочной железе, простате, мягкой

ткани, соединительной ткани, почке, печени, головном мозге, щитовидной железе или коже.

79. РНК или применение по любому из пп. 45–78, где солидная опухоль представляет собой эпителиальную опухоль, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому, опухоль предстательной железы, опухоль яичника, опухоль почечных клеток, опухоль желудочно–кишечного тракта, опухоль печени, колоректальную опухоль, опухоль с сосудистой сетью, опухоль–мезотелиому, опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль–саркому, опухоль легкого, опухоль толстой кишки, опухоль головного мозга, опухоль–меланому, мелкоклеточную опухоль легкого, опухоль–нейробластому, опухоль яичка, опухоль–карциному, опухоль–аденокарциному, опухоль–глиому, опухоль–семиному, ретинобластому или опухоль–остеосаркому.

80. РНК или применение по любому из пп. 45–79, где РНК вводится внутрь опухоли или рядом с опухолью.

81. РНК или применение по любому из пп. 45–80, где РНК составлена для инъекции.

82. РНК или применение по любому из пп. 73–81, где дополнительное терапевтическое средство вводится системно.

83. РНК или применение по любому из пп. 45–82, где субъектом является человек.

84. РНК или применение по любому из пп. 45–83, где РНК вводятся одновременно.

85. РНК или применение по любому из пп. 45–84, где РНК вводятся путем инъекции, где РНК смешиваются вместе в жидком растворе перед инъекцией.

86. РНК или применение по любому из пп. 45–85, где РНК вводятся посредством введения композиции, содержащей комбинацию РНК.

87. РНК или применение по любому из пп. 45–86, где лечение или предупреждение солидной опухоли предусматривает уменьшение размера опухоли, предупреждение рецидива рака в стадии ремиссии или предупреждение метастазирования рака у субъекта.

88. Способ лечения или снижения вероятности возникновения солидной опухоли, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, первой РНК, где первая РНК кодирует белок IL–12sc, белок IL–15sushi, белок IFNα или белок GM–CSF, и субъекту дополнительно проводят лечение с применением дополнительной РНК, где:

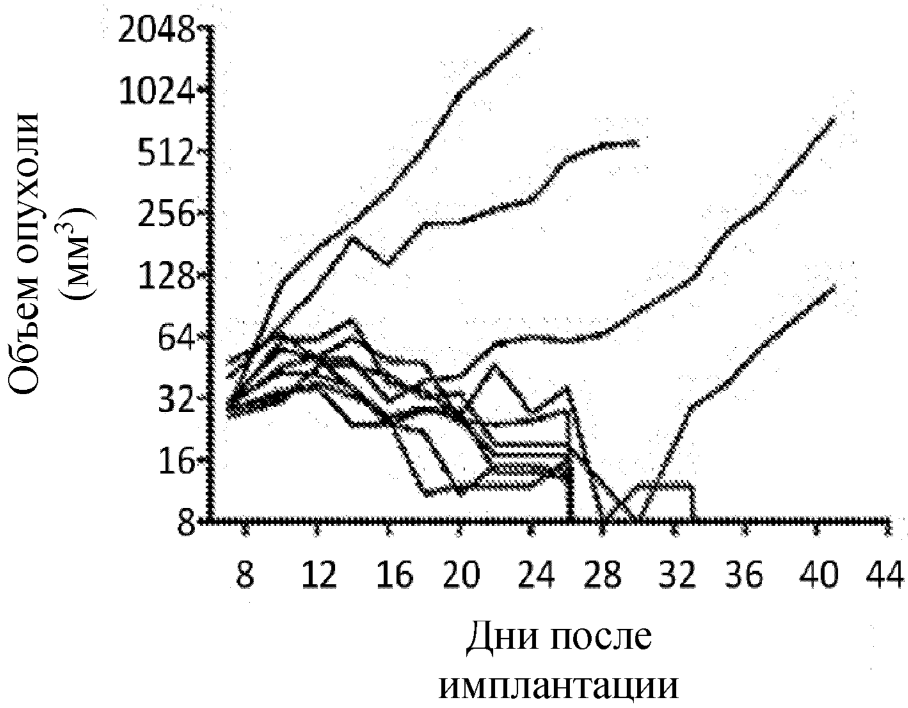
a. если первая РНК кодирует белок IL–12sc, то дополнительная РНК кодирует белок IL–15sushi, белок IFNα и белок GM–CSF;

b. если первая РНК кодирует белок IL–15sushi, то дополнительная РНК кодирует белок IL–12sc, белок IFNα и белок GM–CSF;

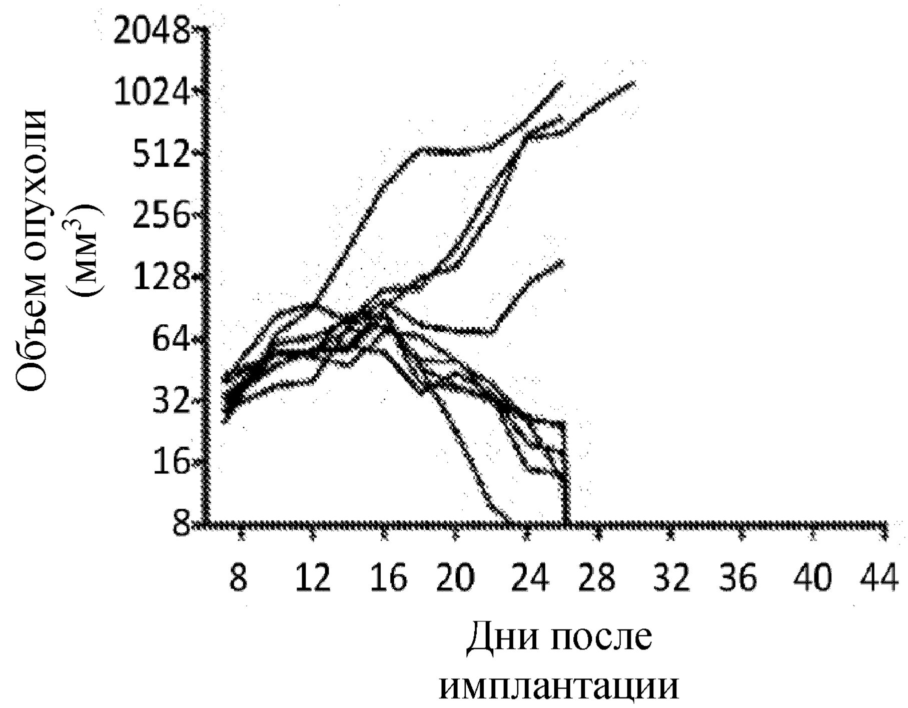
c. если первая РНК кодирует белок IFNα, то дополнительная РНК кодирует белок IL–15sushi, белок IL–12sc и белок GM–CSF; и

d. если первая РНК кодирует белок GM–CSF, то дополнительная РНК кодирует белок IL–15sushi, белок IFNα и белок IL–12sc.

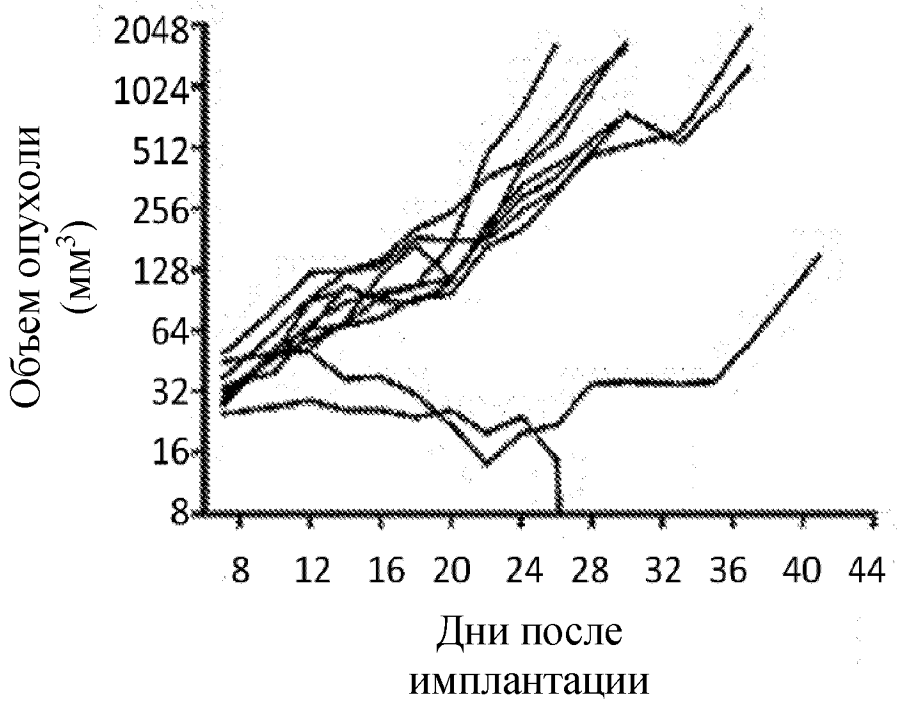
По доверенности


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли (мм^3)
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
Дни после имплантации

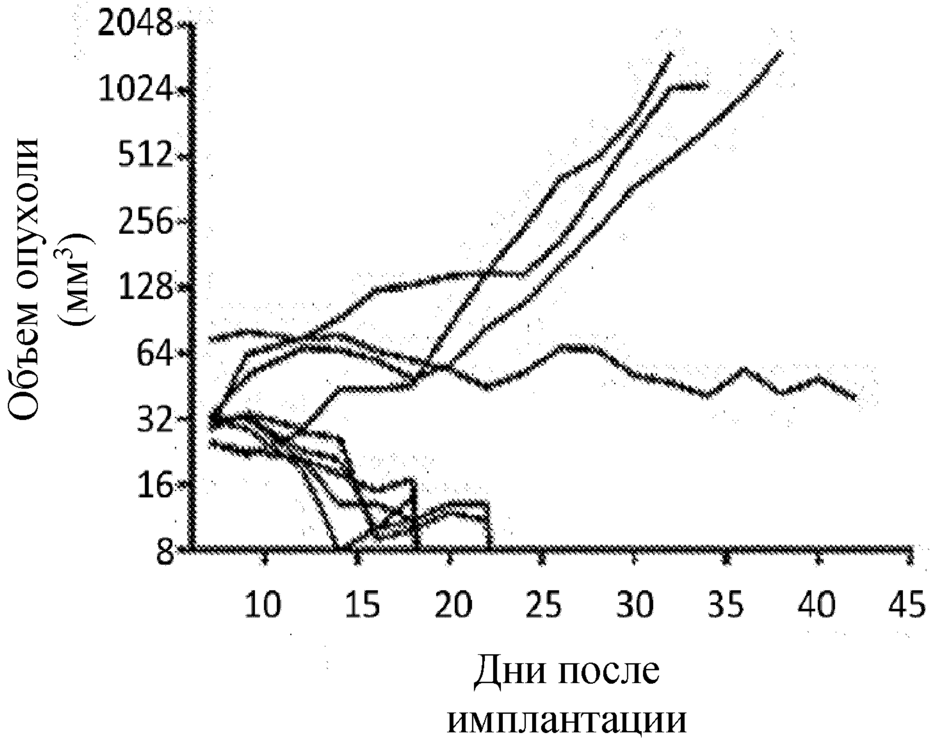
ФИГ. 1А


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли (мм^3)
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
Дни после имплантации

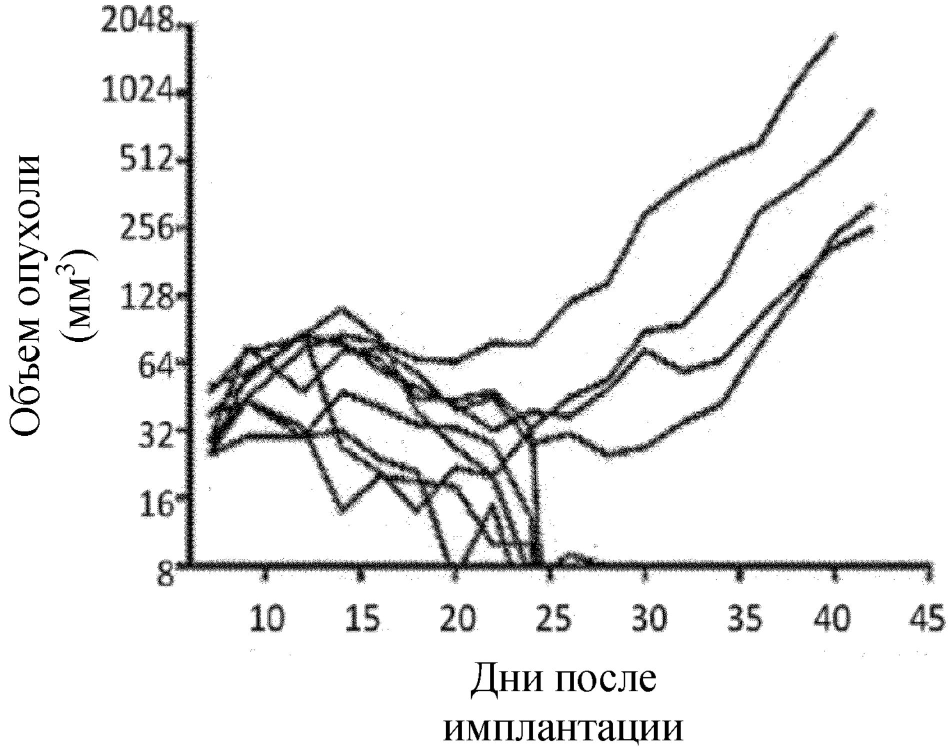
ФИГ. 1В


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли (мм^3)
8 12 16 20 24 28 32 36 40 44
Дни после имплантации

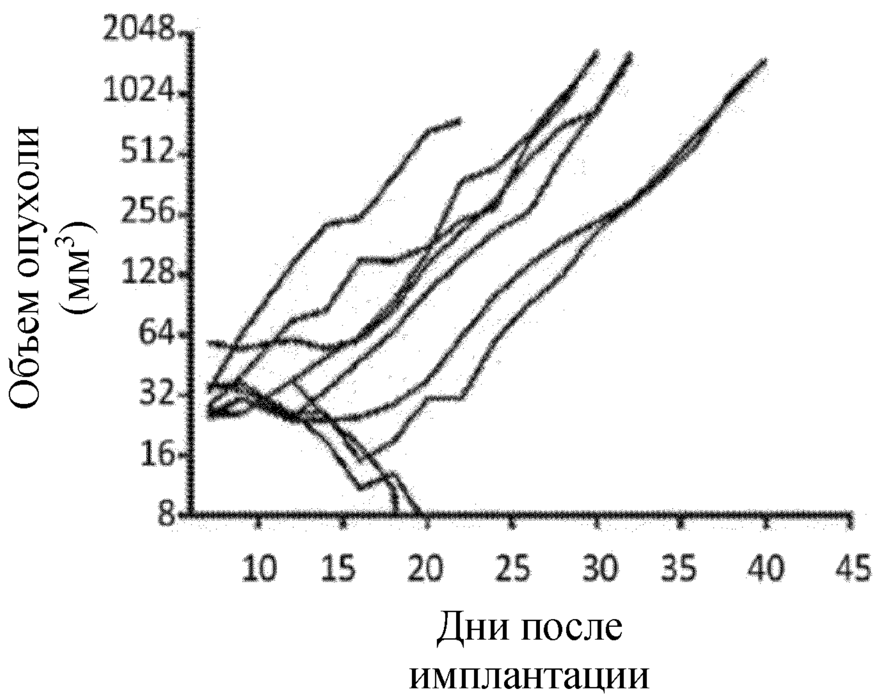
ФИГ. 1C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли (мм^3)
10 15 20 25 30 35 40 45
Дни после имплантации

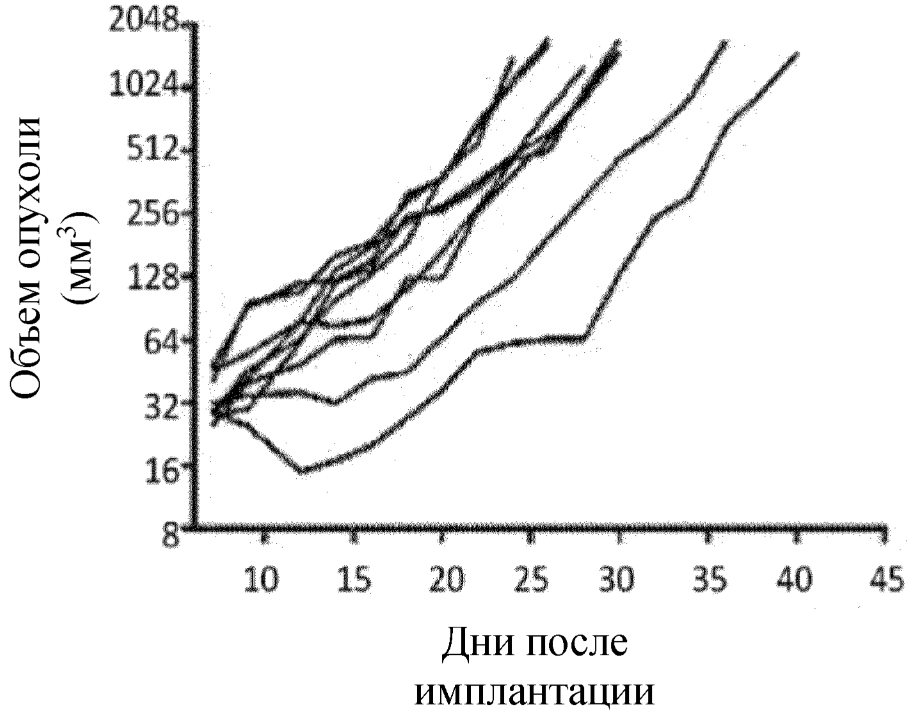
ФИГ. 1D


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли
(мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после
имплантации

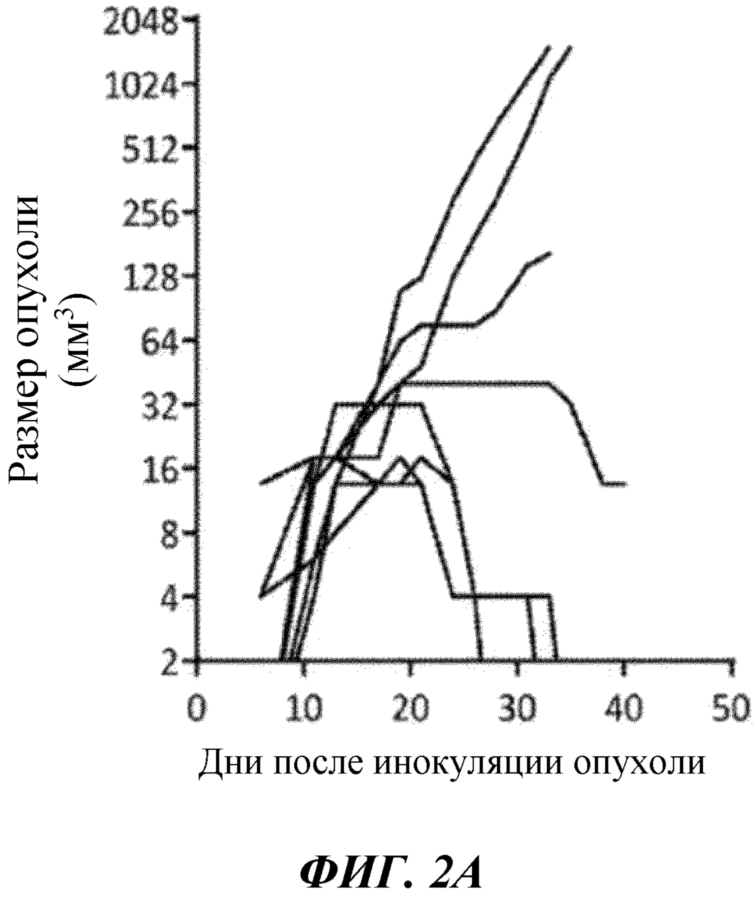
ФИГ. 1E


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли
(мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после
имплантации

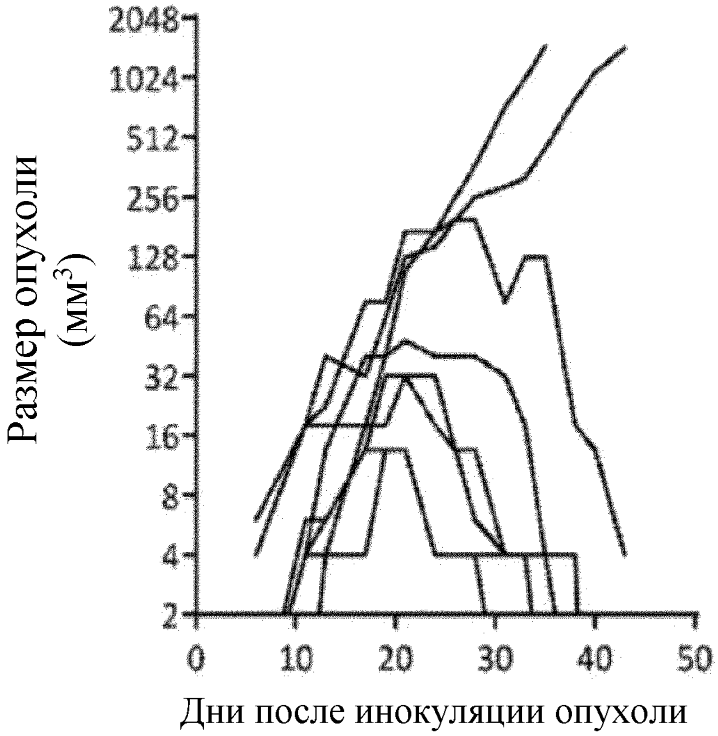
ФИГ. 1F


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

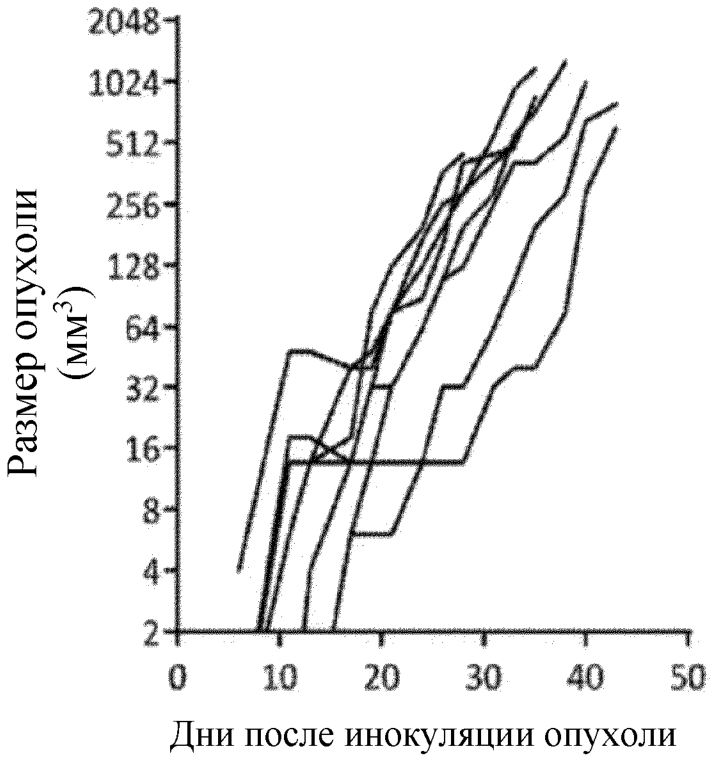
ФИГ. 1G


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
2
Размер опухоли (мм^3)
0
10
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

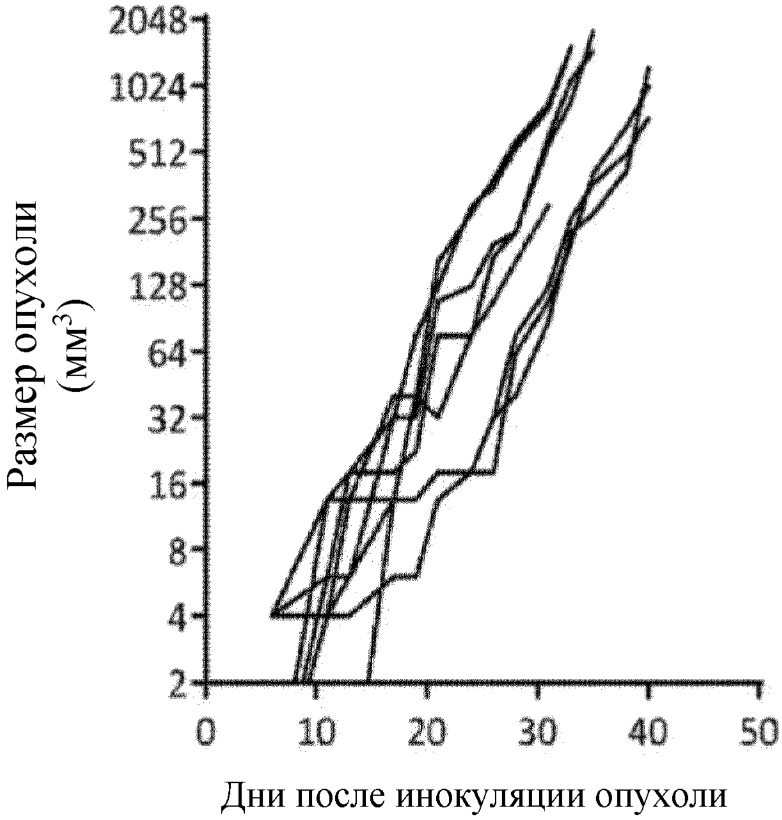
ФИГ. 2A


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
2
Размер опухоли (мм³)
0
10
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

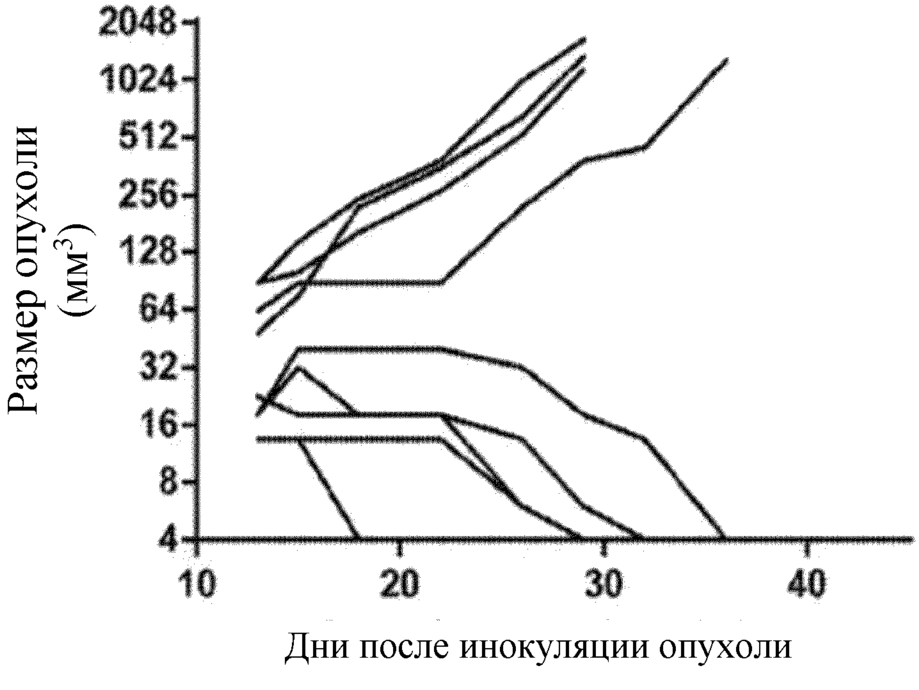
ФИГ. 2B


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
2
Размер опухоли (мм³)
0
10
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

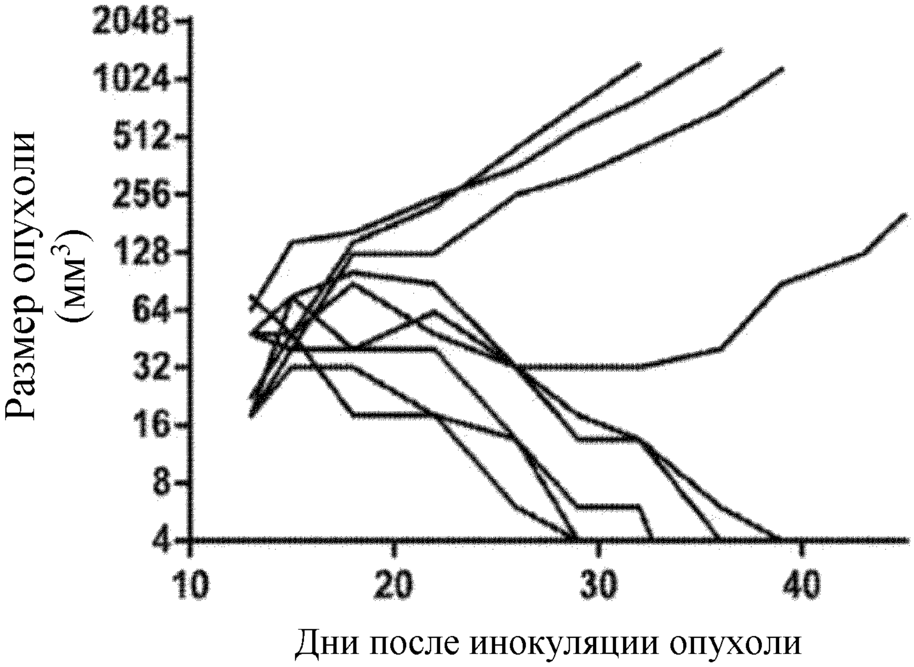
ФИГ. 2C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
2
Размер опухоли
(мм^3)
0
10
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

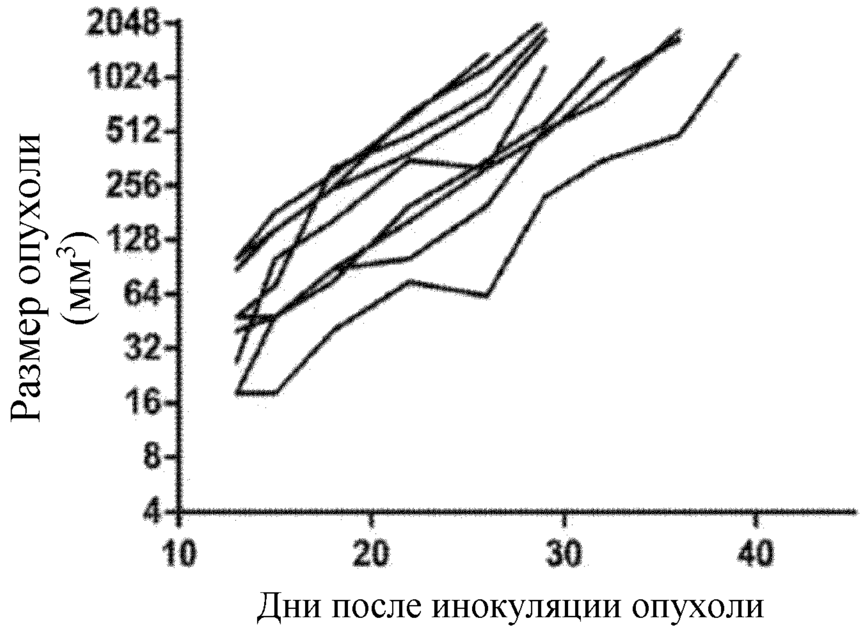
ФИГ. 2D


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Размер опухоли
(мм^3)
10
20
30
40
Дни после инокуляции опухоли

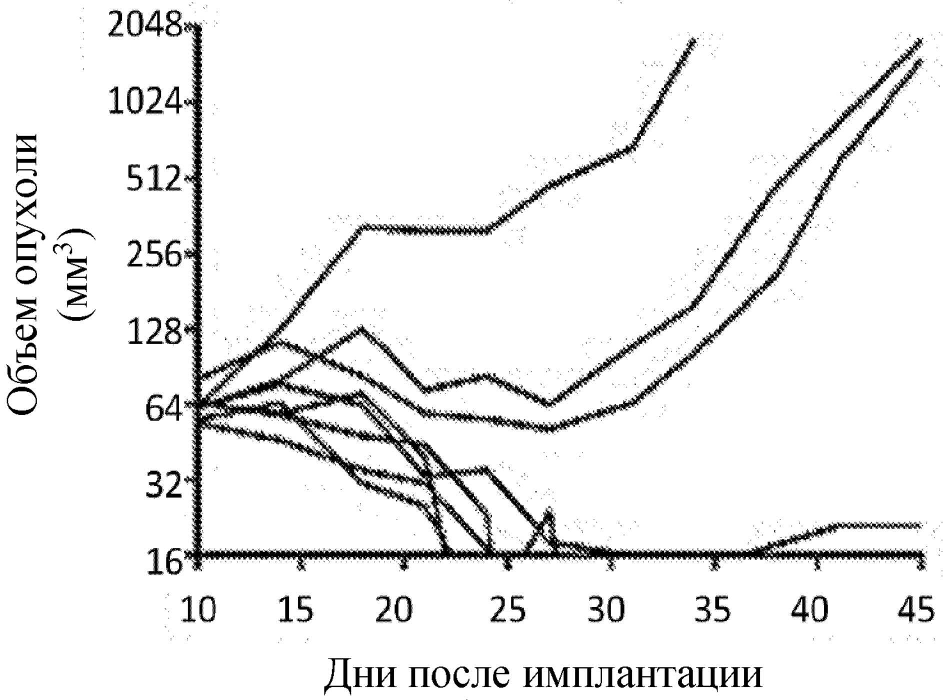
ФИГ. 3A


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Размер опухоли (мм^3)
10
20
30
40
Дни после инокуляции опухоли

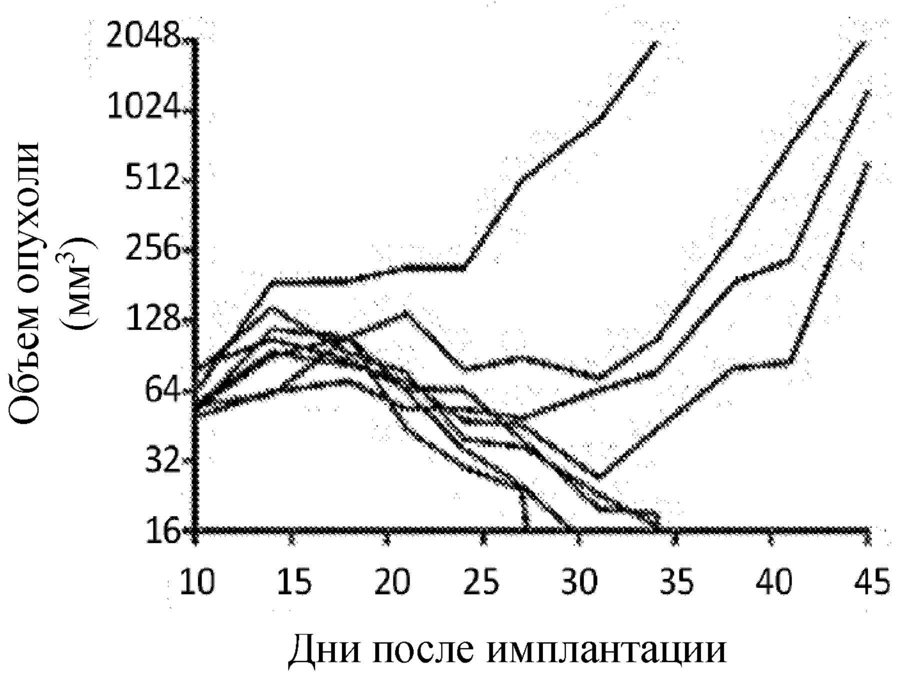
ФИГ. 3B


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Размер опухоли (мм^3)
10
20
30
40
Дни после инокуляции опухоли

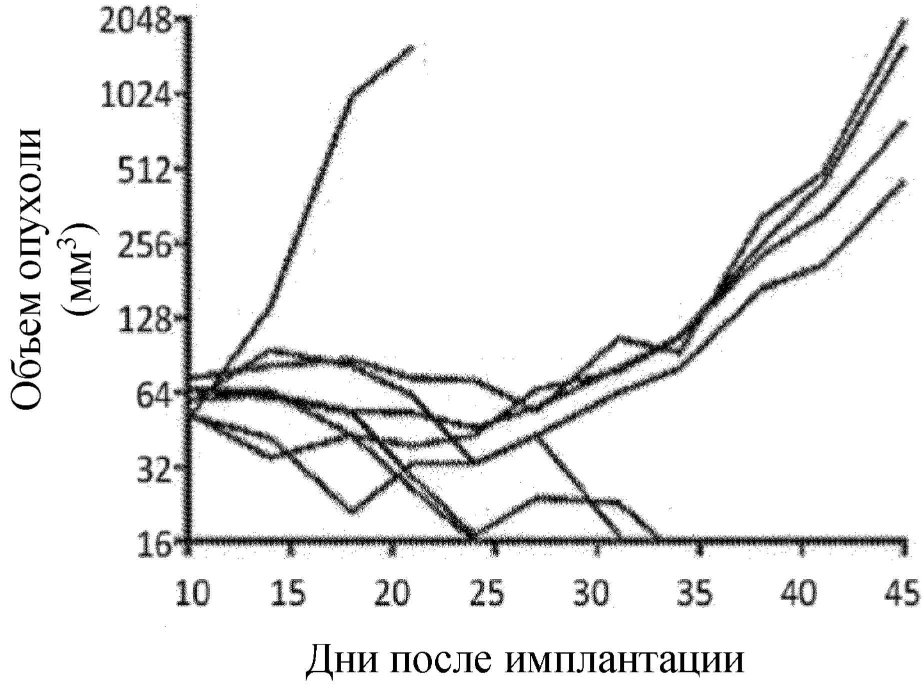
ФИГ. 3C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

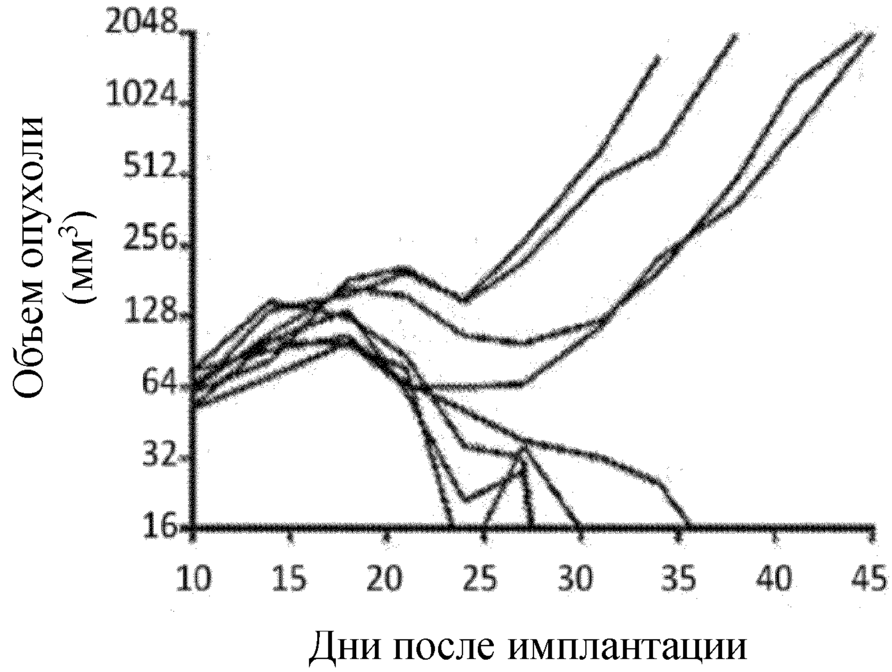
ФИГ. 4А


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

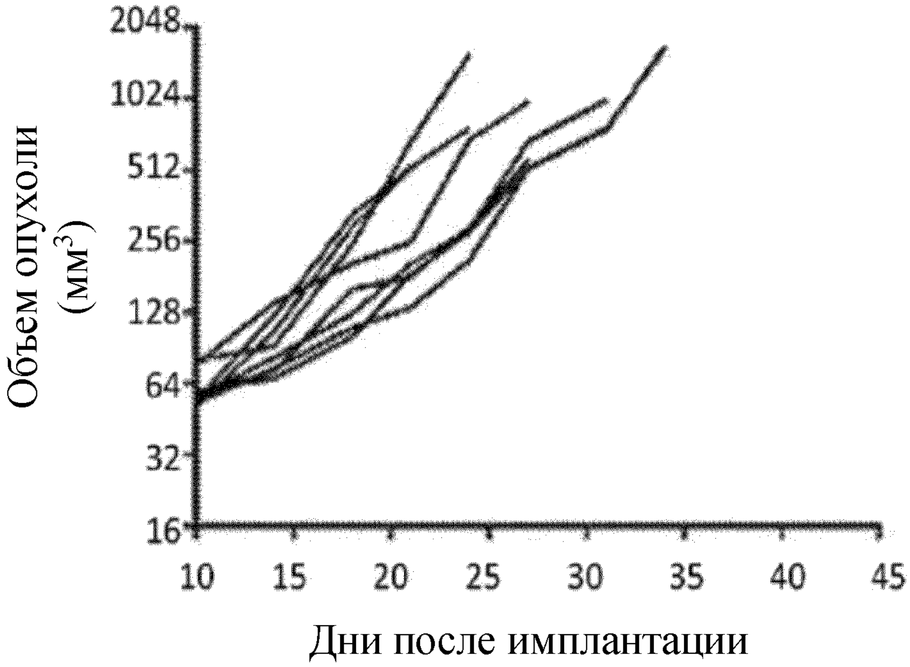
ФИГ. 4В


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

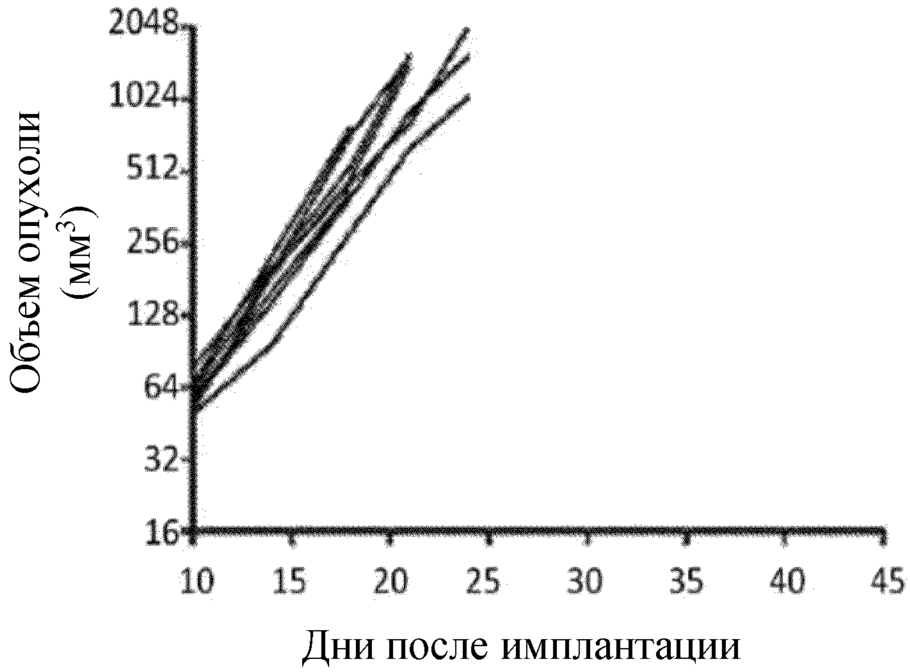
ФИГ. 4C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

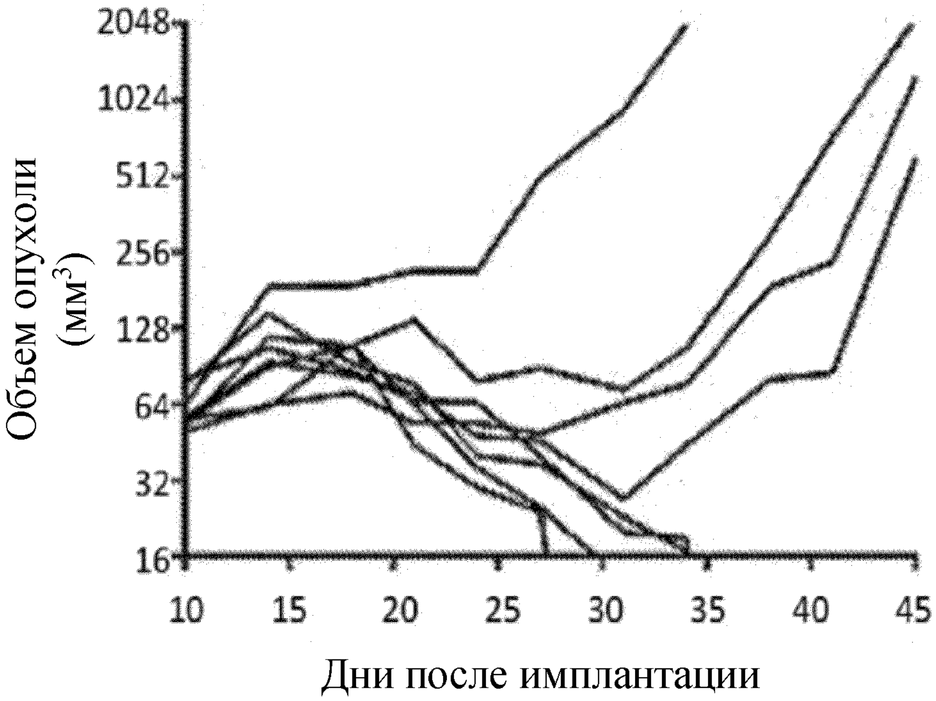
ФИГ. 4D


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

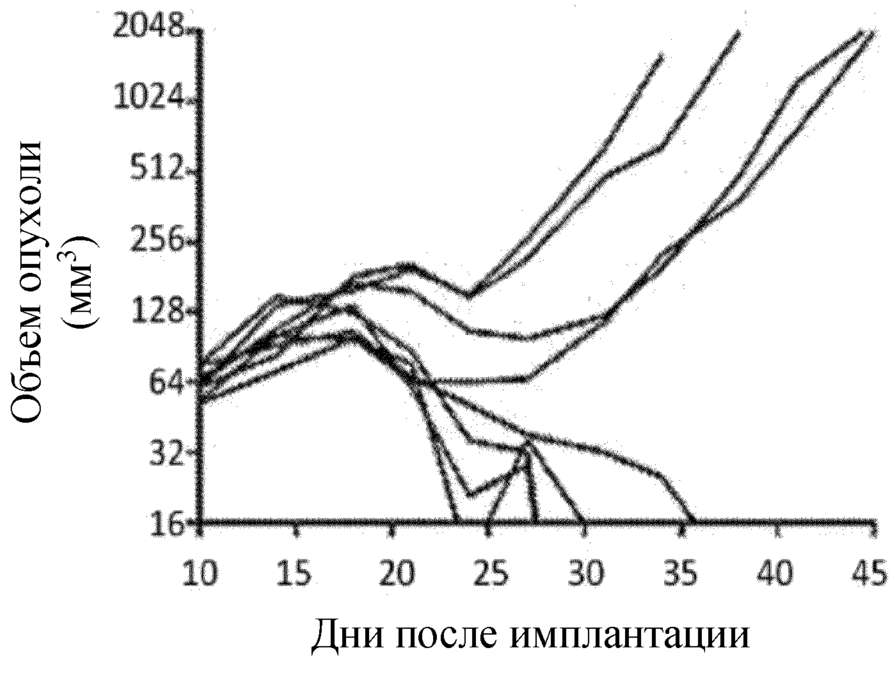
ФИГ. 4E


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

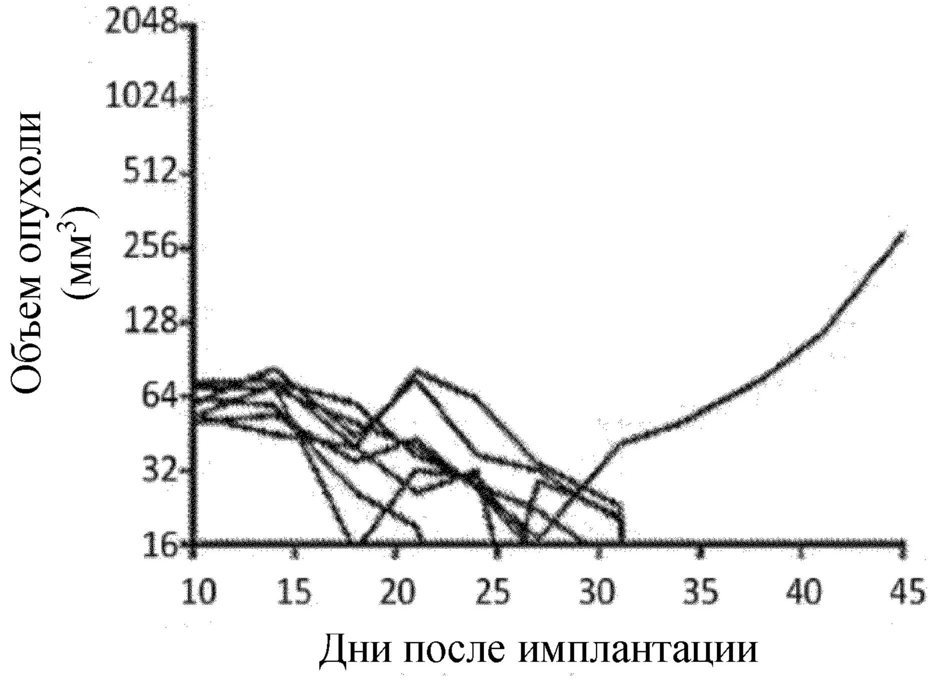
ФИГ. 4F


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм³)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

ФИГ. 5А

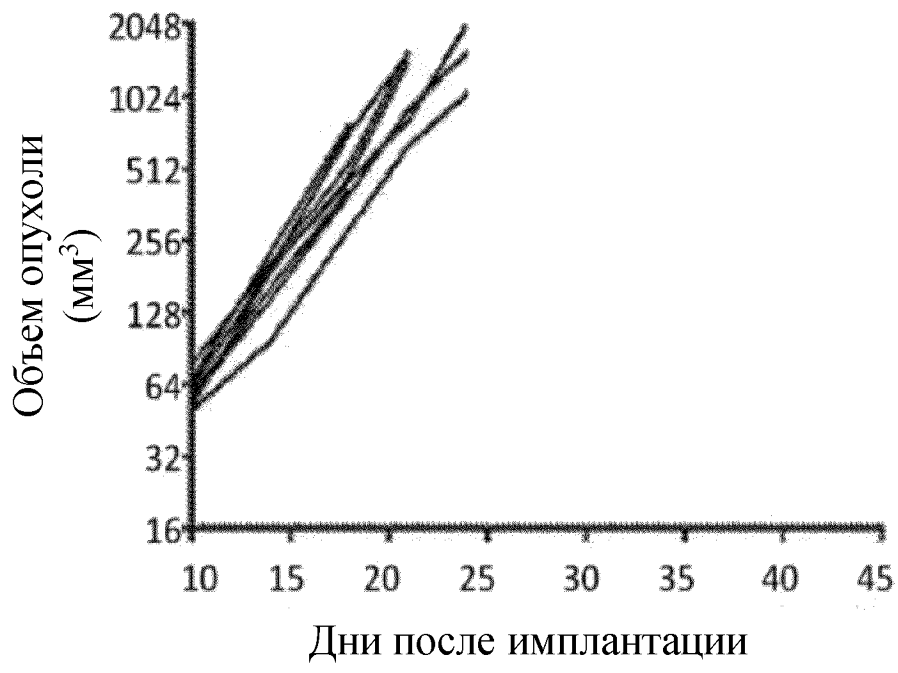

2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм³)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

ФИГ. 5В



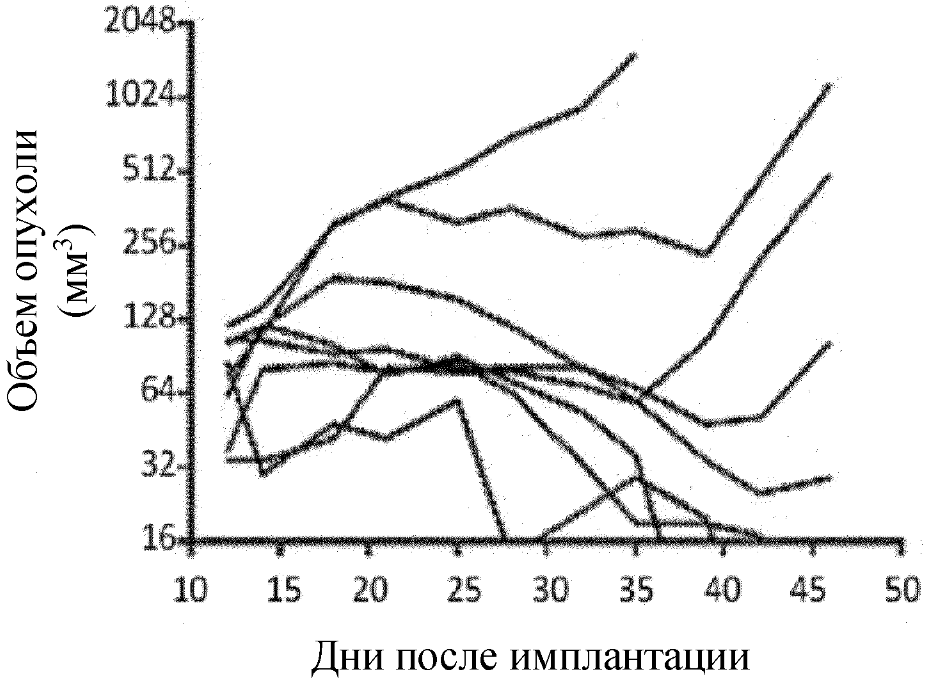
2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

ФИГ. 5C

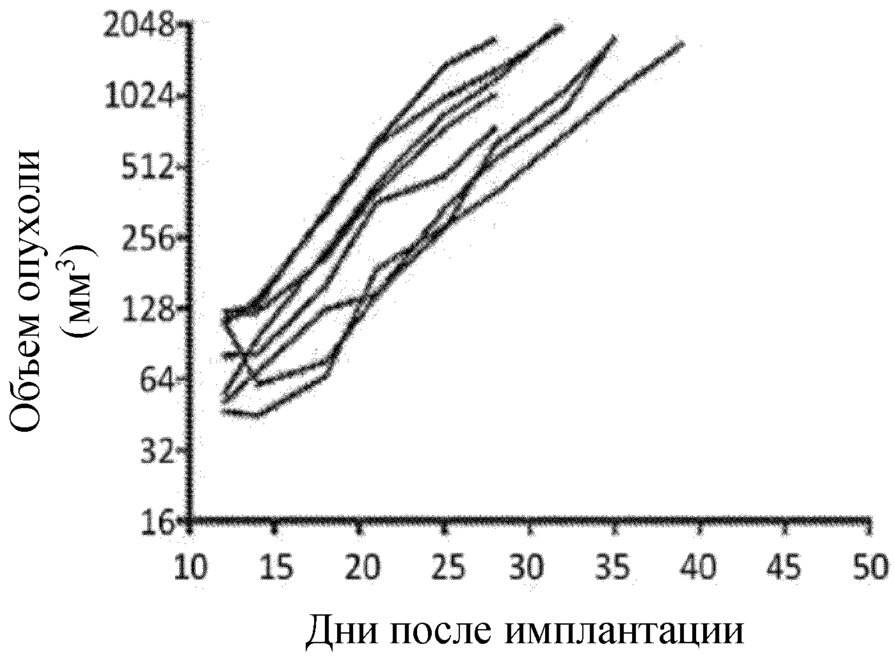


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

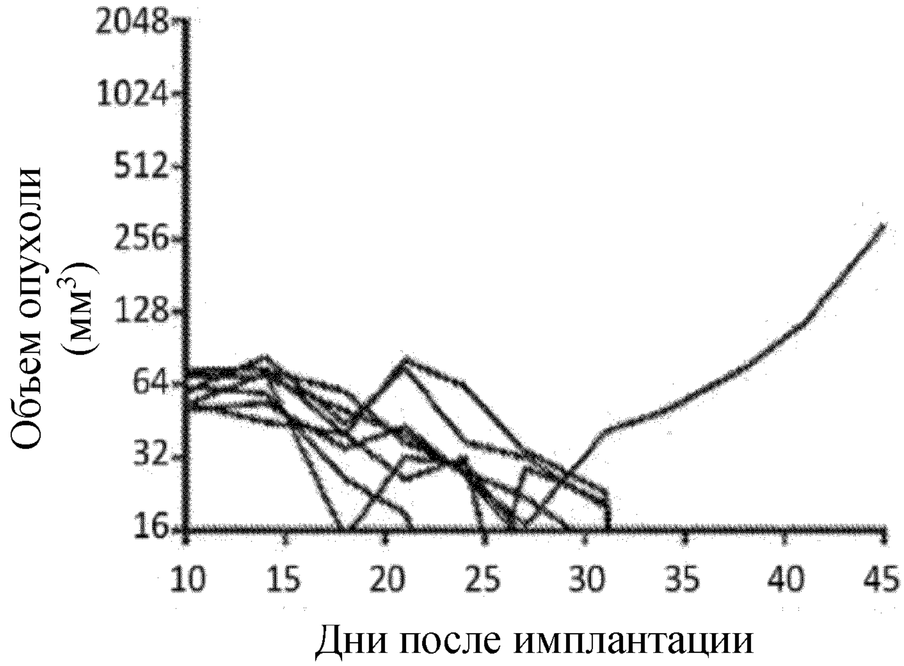
ФИГ. 5D


Объем опухоли
(мм^3)
2048
1024
512
256
128
64
32
16
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Дни после имплантации

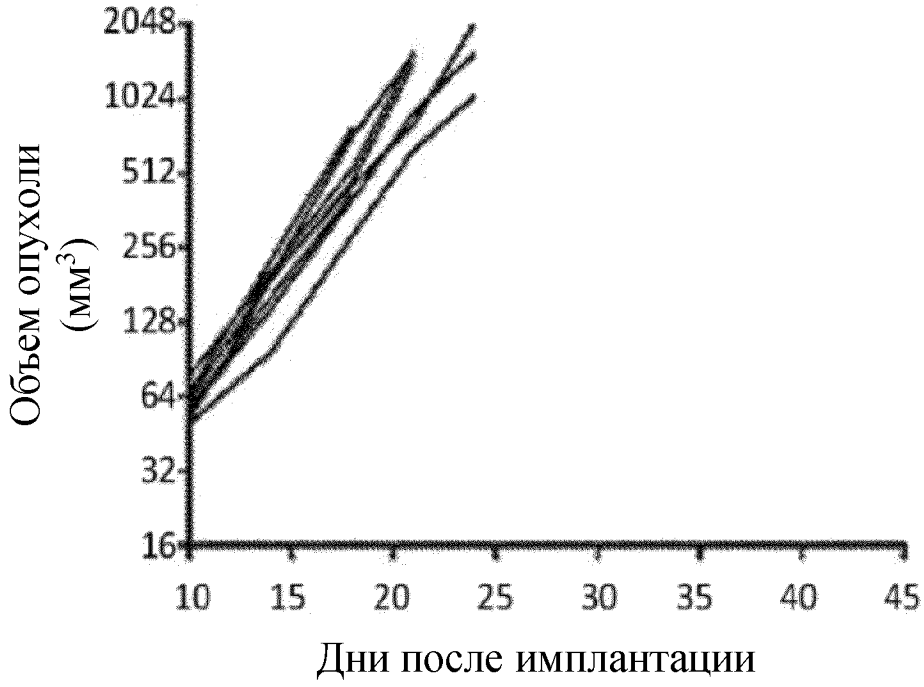
ФИГ. 6A


Объем опухоли
(мм^3)
2048
1024
512
256
128
64
32
16
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Дни после имплантации

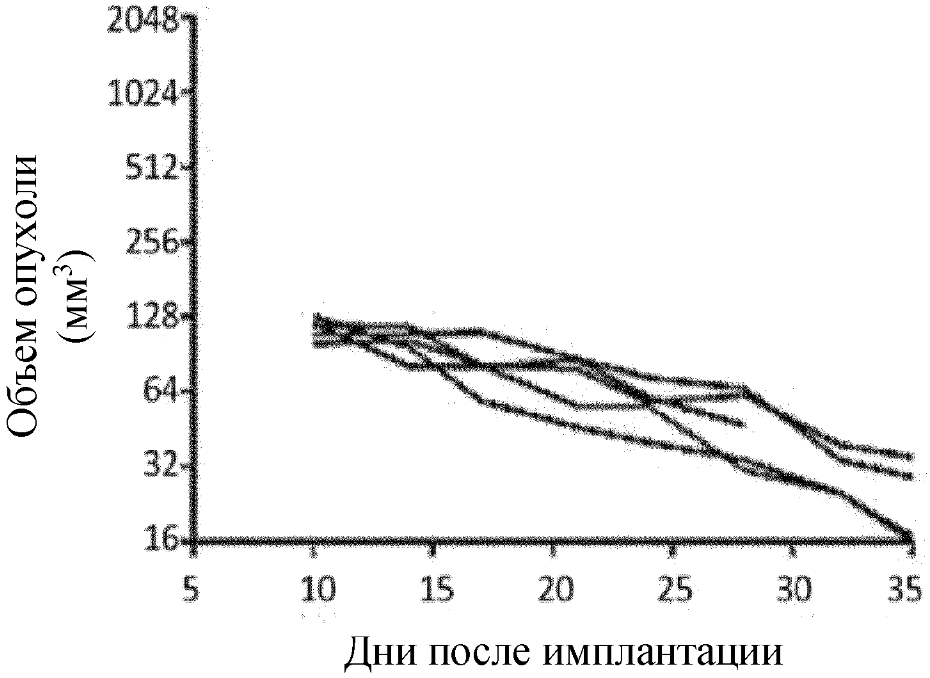
ФИГ. 6B


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

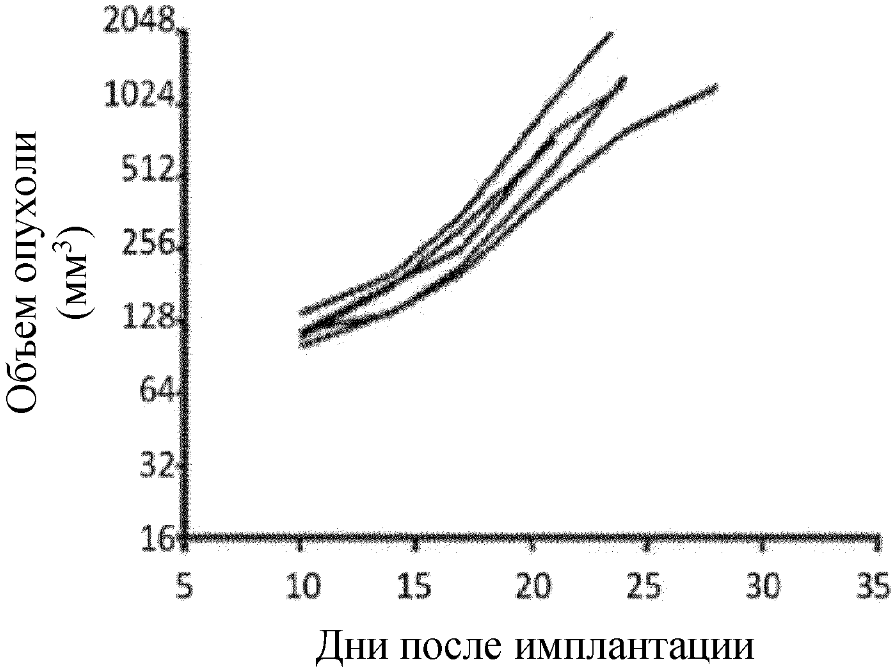
ФИГ. 6C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм3)
10
15
20
25
30
35
40
45
Дни после имплантации

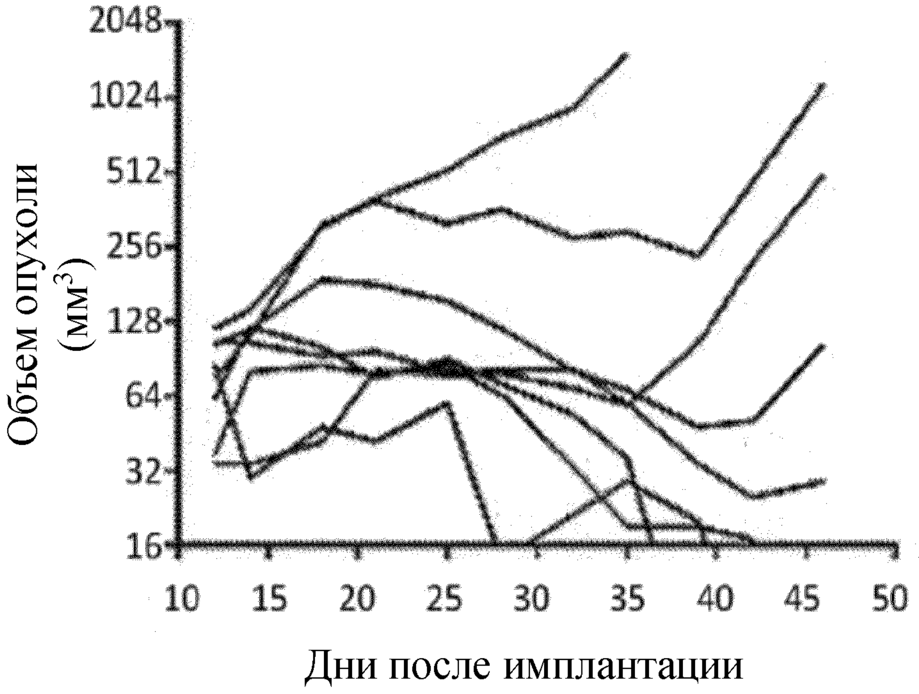
ФИГ. 6D


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
5
10
15
20
25
30
35
Дни после имплантации

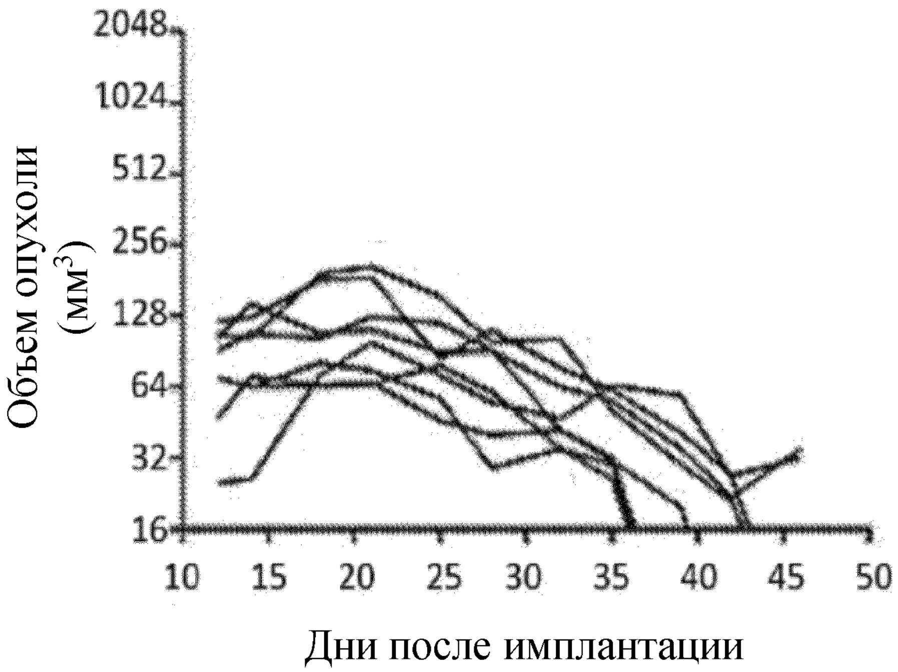
ФИГ. 6E


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
5
10
15
20
25
30
35
Дни после имплантации

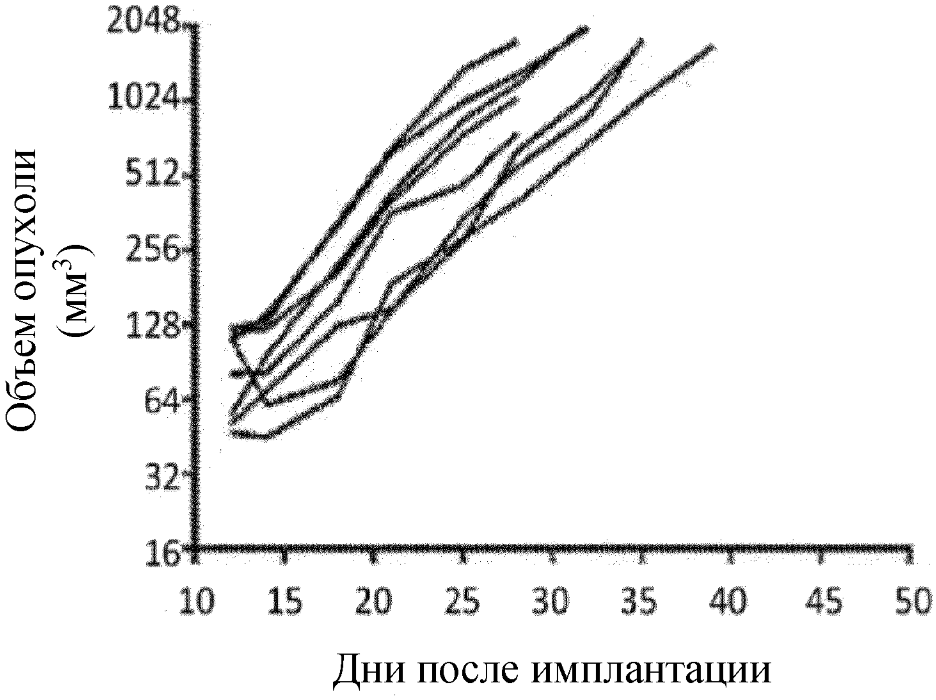
ФИГ. 6F


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Дни после имплантации

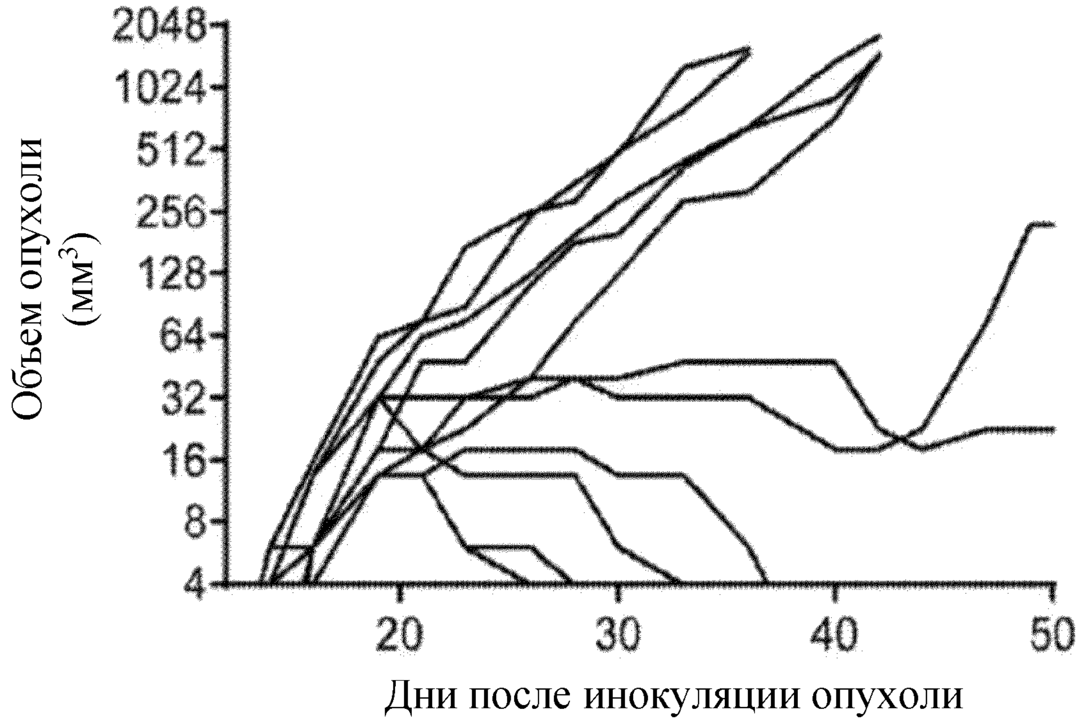
ФИГ. 7A


2048
1024
512
256
128
64
32
16
Объем опухоли (мм^3)
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Дни после имплантации

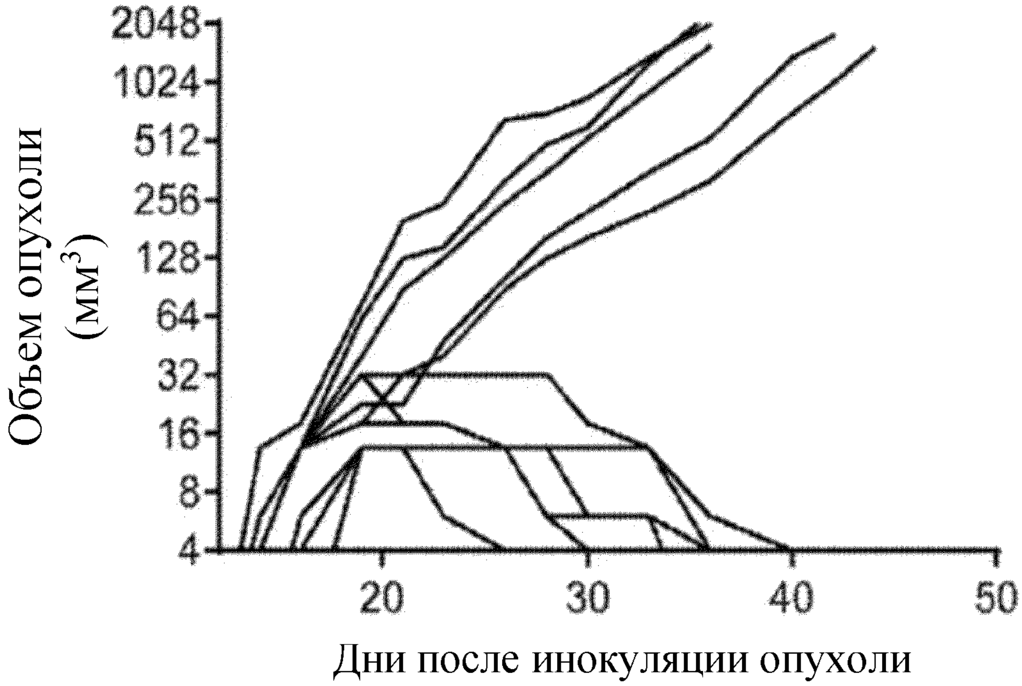
ФИГ. 7B


2048
1024
512
256
128
64
32
16
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Объем опухоли
(мм3)
Дни после имплантации

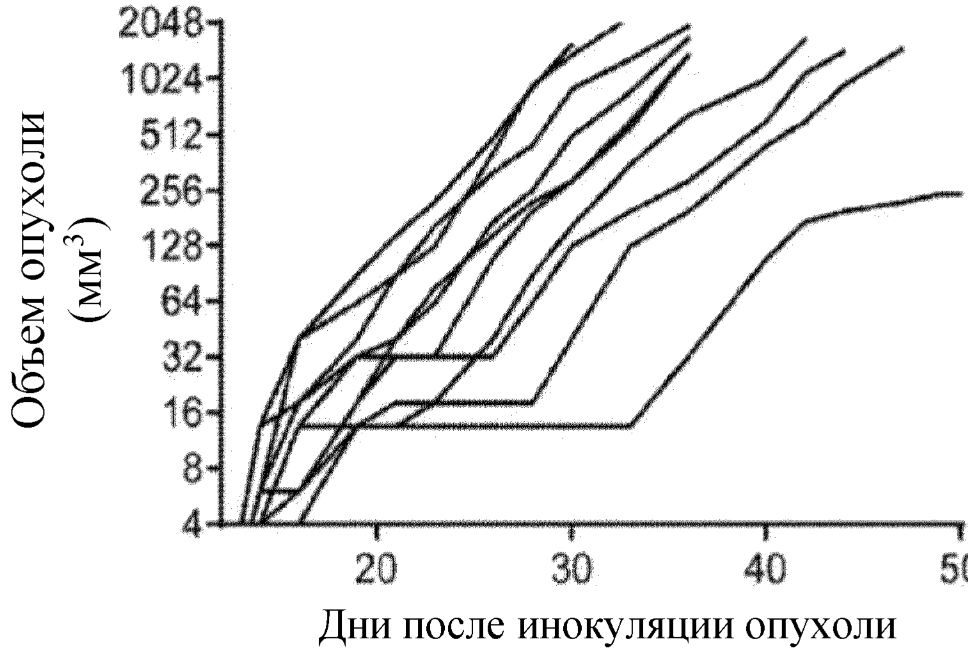
ФИГ. 7C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
20
30
40
50
Объем опухоли
(мм3)
Дни после инокуляции опухоли

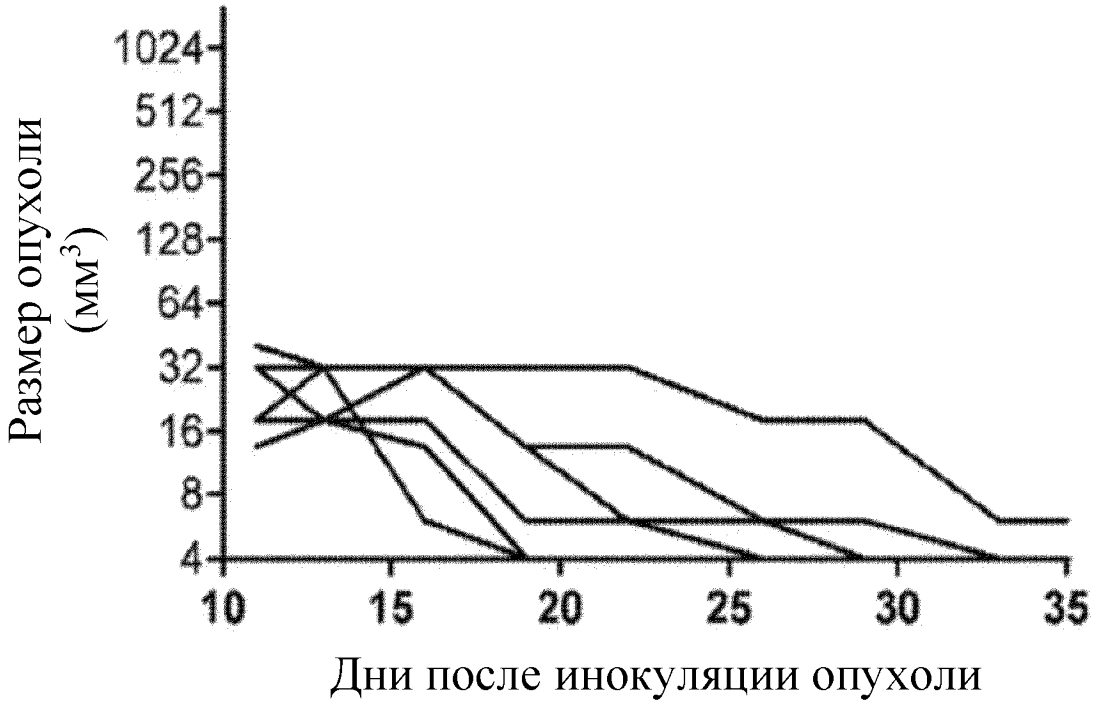
ФИГ. 7D


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли (мм^3)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

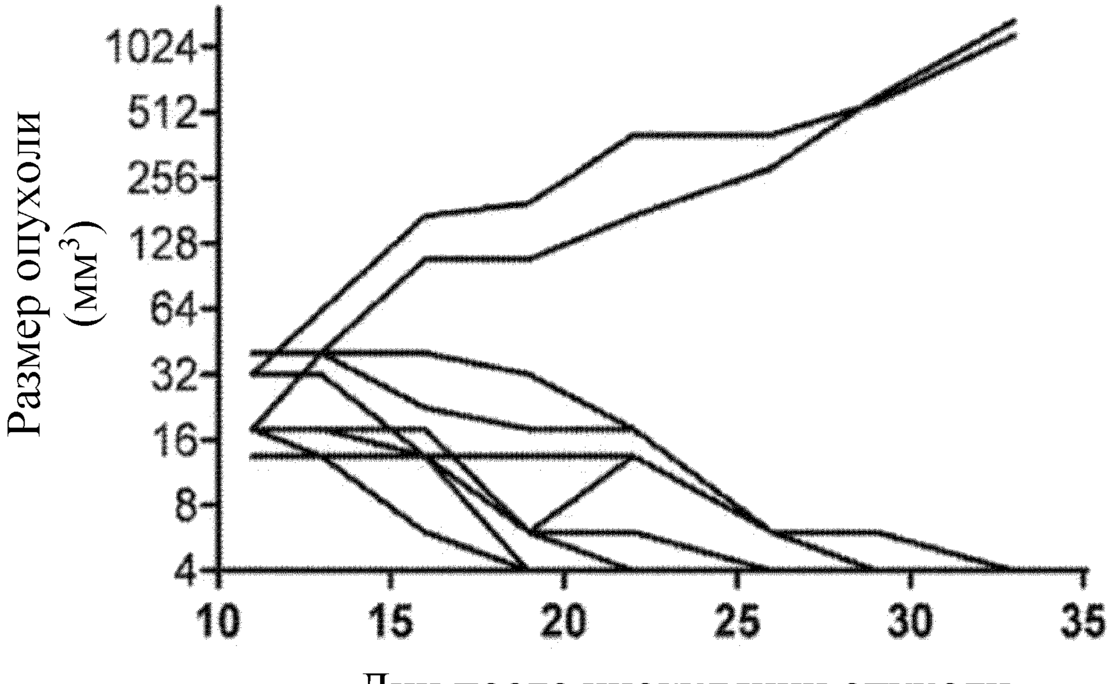
ФИГ. 7E


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли (мм^3)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

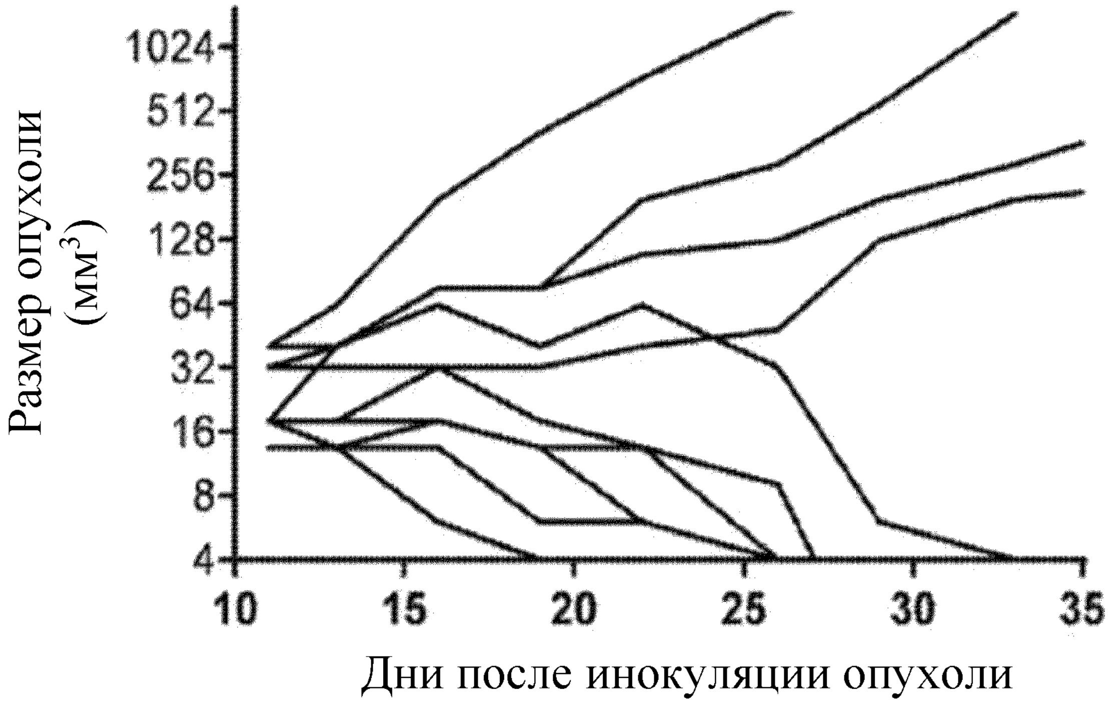
ФИГ. 7F


1024
512
256
128
64
32
16
8
4
10
15
20
25
30
35
Размер опухоли (мм^3)
Дни после инокуляции опухоли

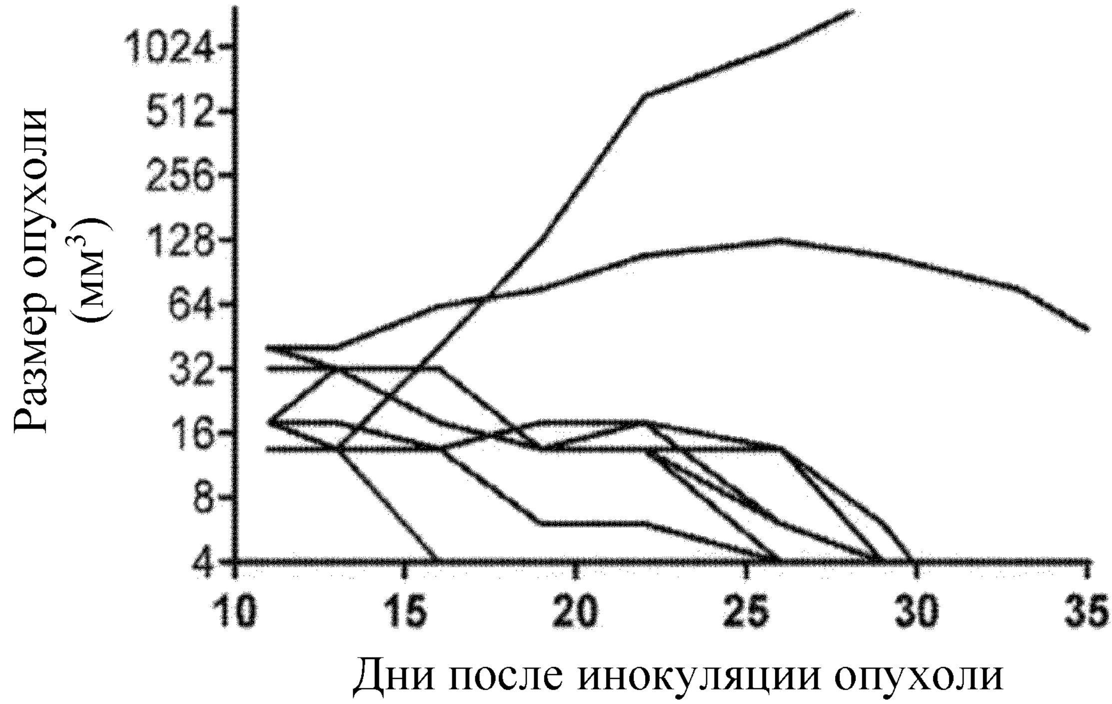
ФИГ. 8A


1024
512
256
128
64
32
16
8
4
10
15
20
25
30
35
Размер опухоли (мм^3)
Дни после инокуляции опухоли

ФИГ. 8B


1024
512
256
128
64
32
16
8
4
10
15
20
25
30
35
Размер опухоли
(мм^3)
Дни после инокуляции опухоли

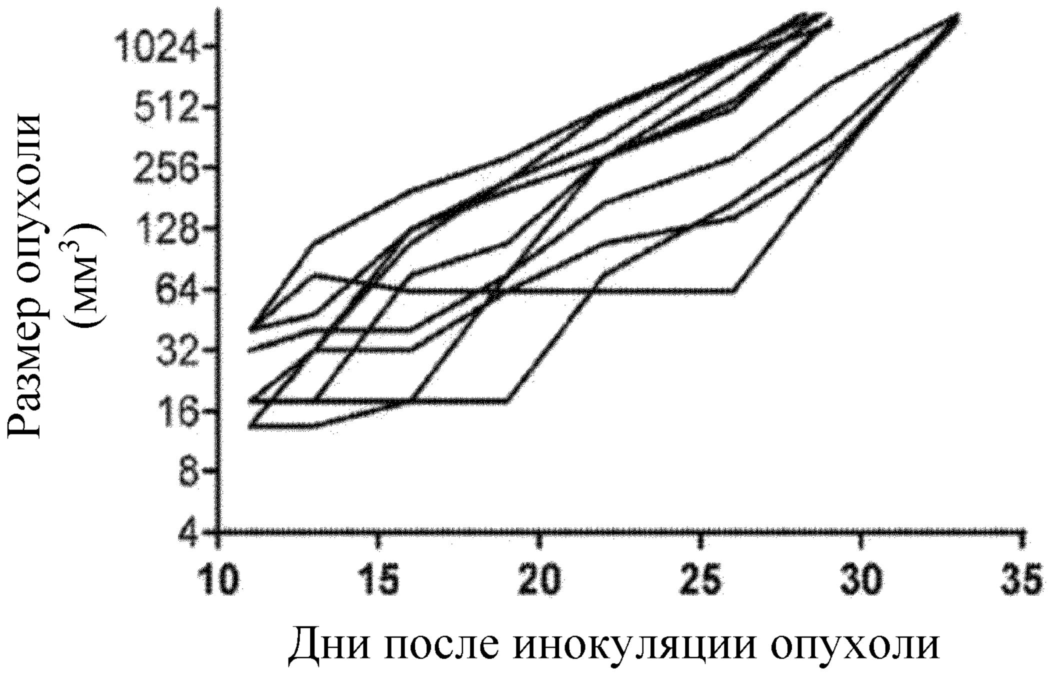
ФИГ. 8C


1024
512
256
128
64
32
16
8
4
10
15
20
25
30
35
Размер опухоли
(мм^3)
Дни после инокуляции опухоли

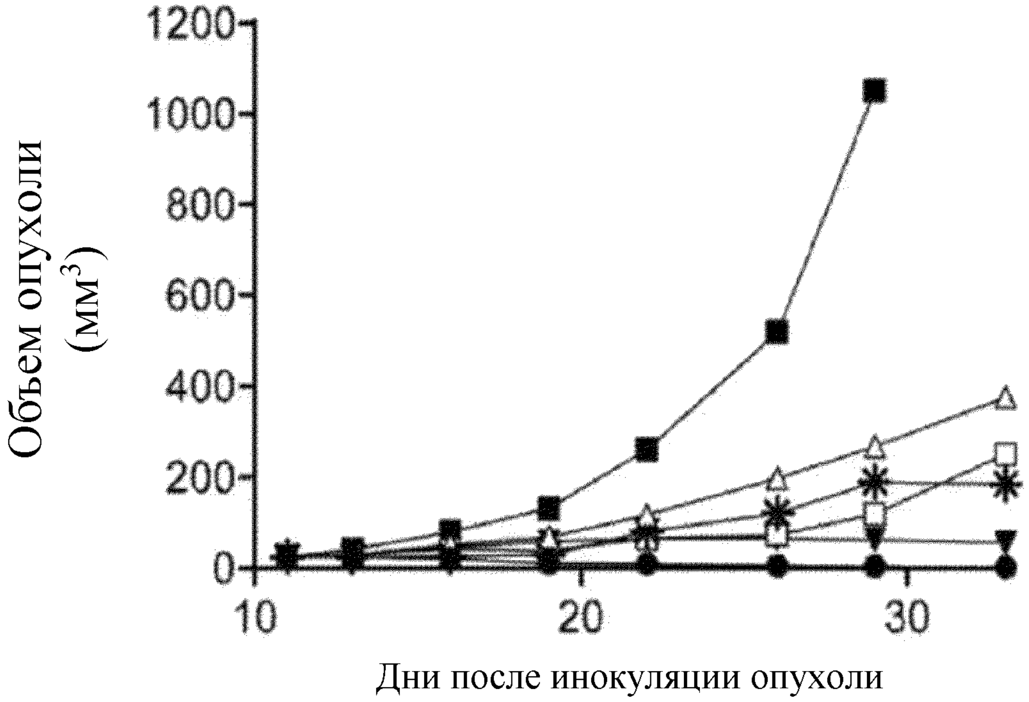
ФИГ. 8D


1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Размер опухоли
(мм^3)
10
15
20
25
30
35
Дни после инокуляции опухоли

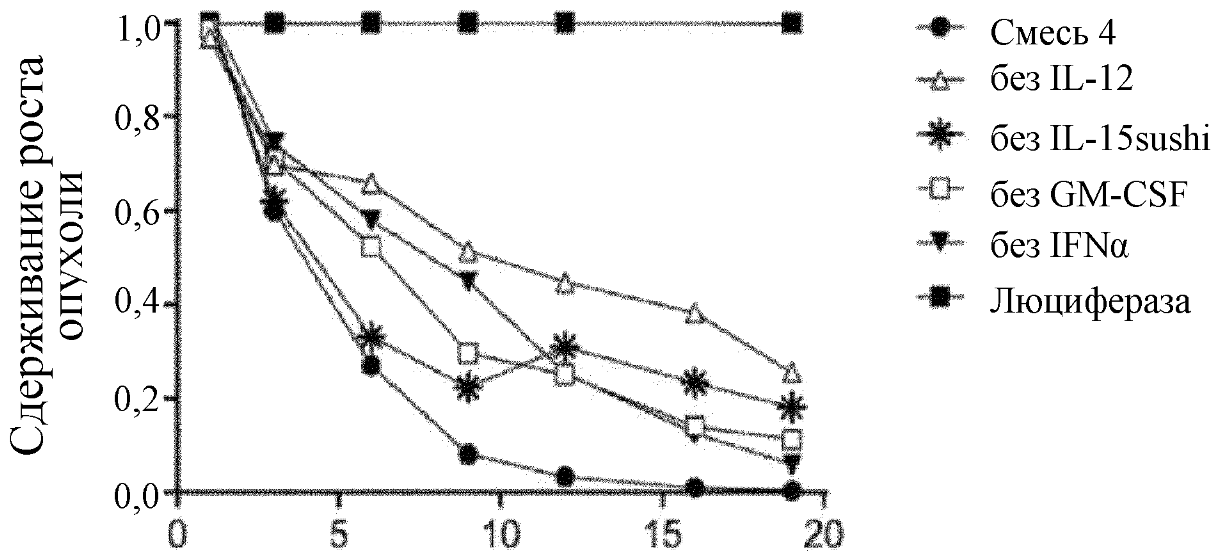
ФИГ. 8E


1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Размер опухоли
(мм^3)
10
15
20
25
30
35
Дни после инокуляции опухоли

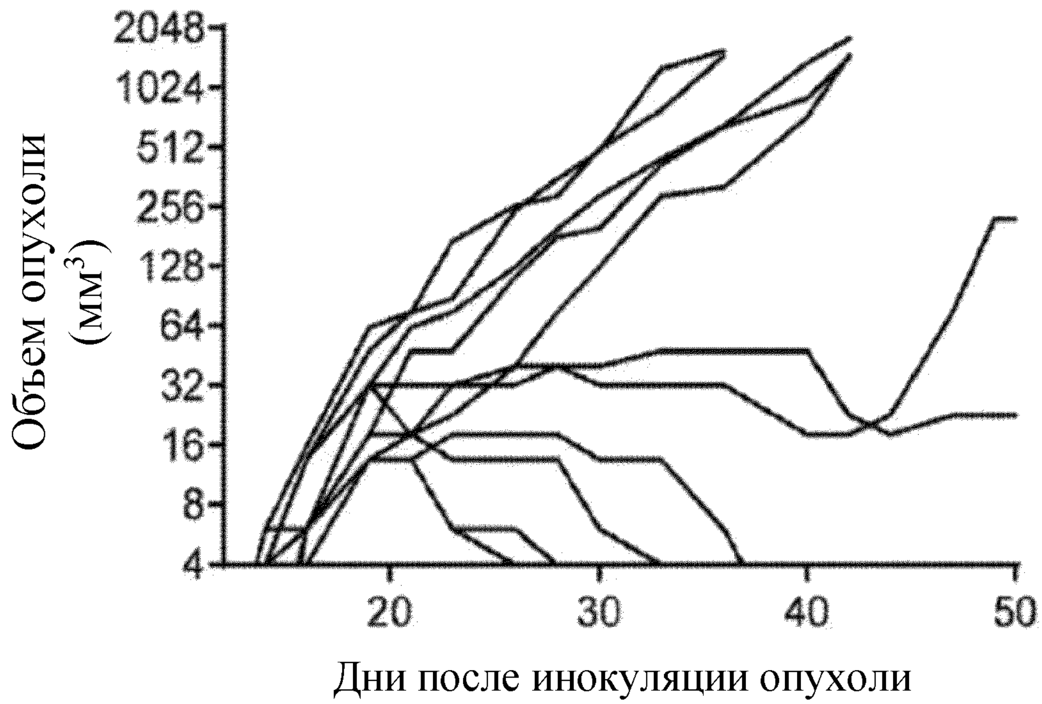
ФИГ. 8F


Объем опухоли
(мм3)
1200
1000
800
600
400
200
0
10
20
30
Дни после инокуляции опухоли

ФИГ. 8G

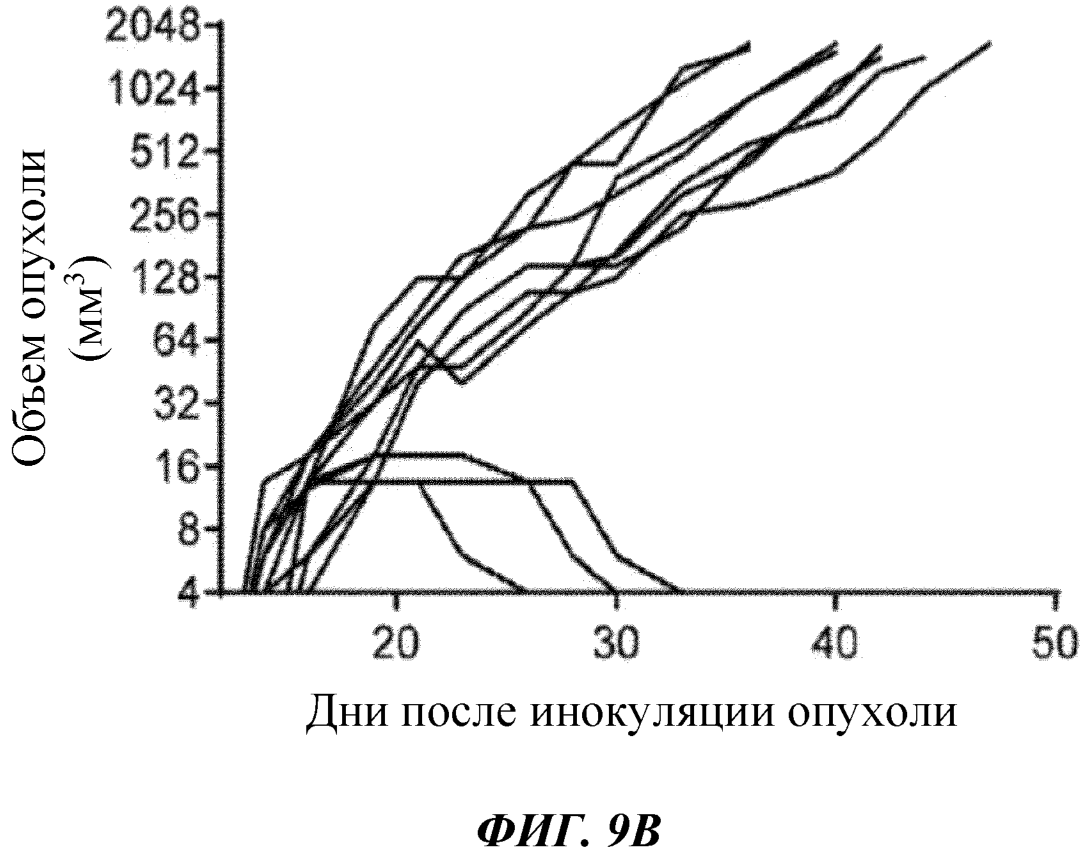

Сдерживание роста опухоли
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
5
10
15
20
Дни после инокуляции опухоли
Смесь 4
без IL-12
без IL-15sushi
без GM-CSF
без IFNα
Люцифераза

ФИГ. 8H



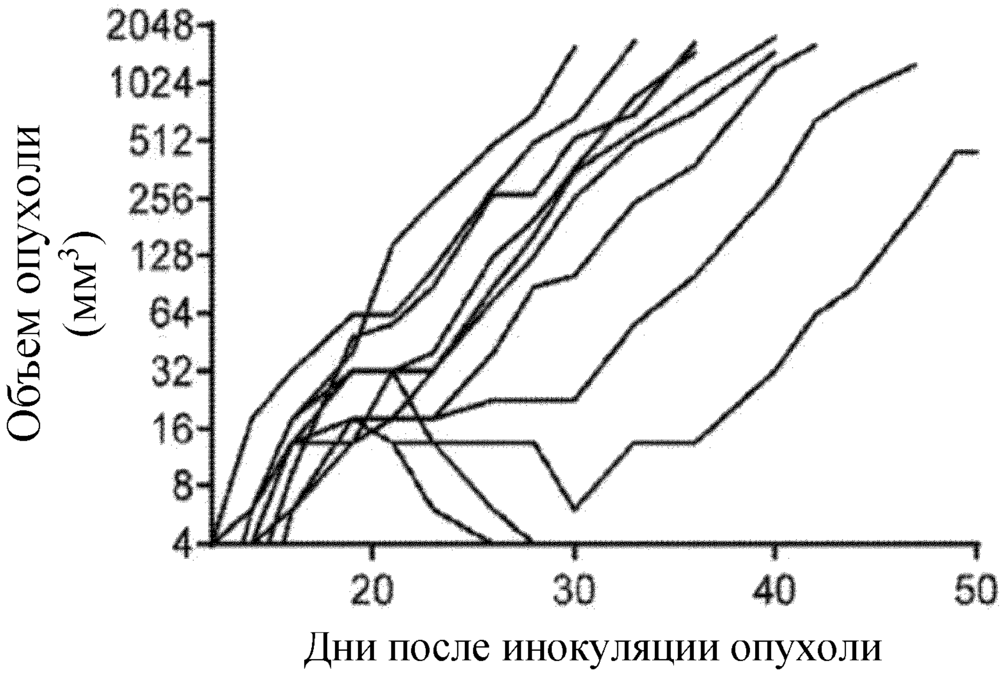
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли (мм³)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

ФИГ. 9A

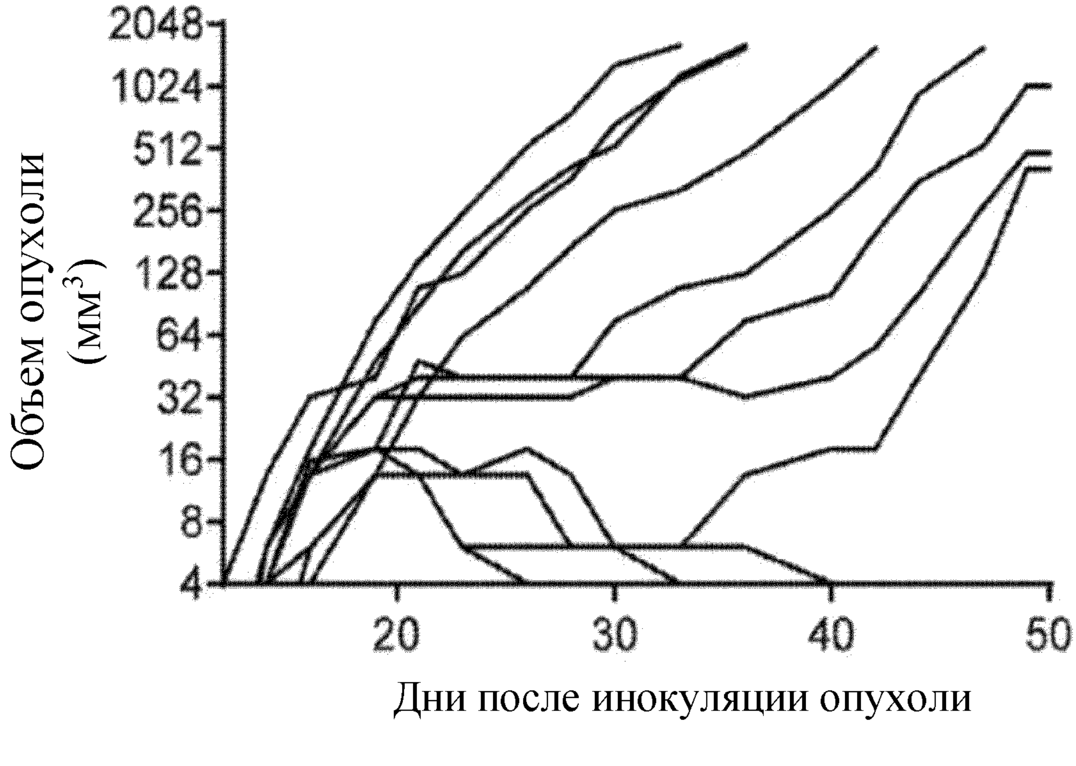


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли (мм³)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

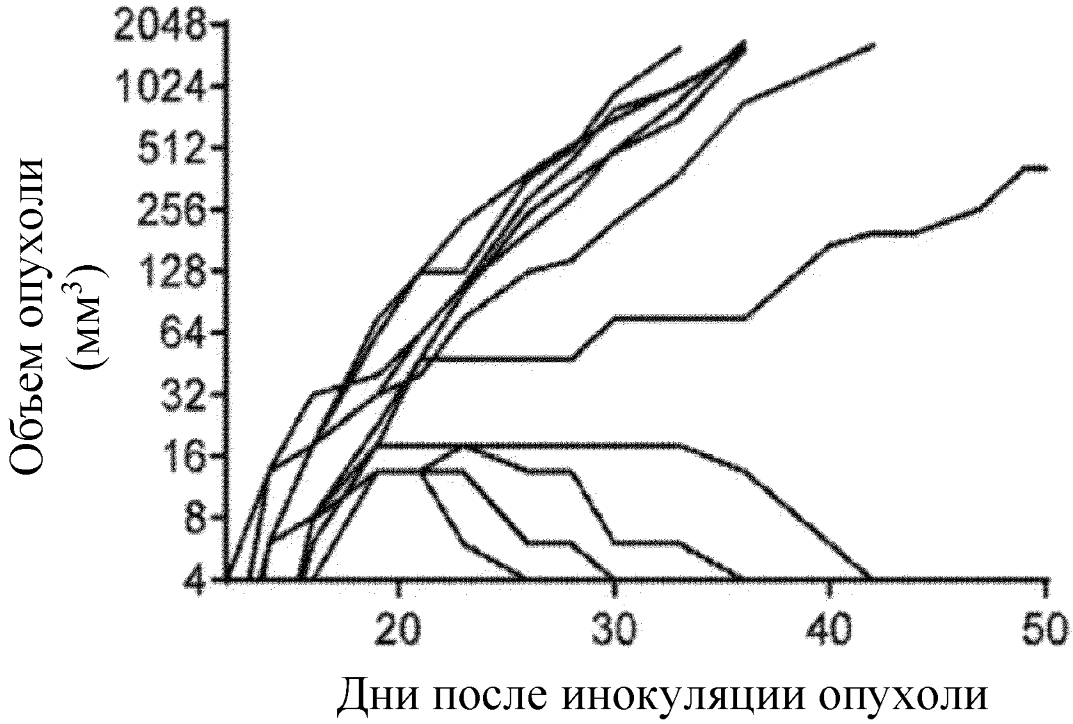
ФИГ. 9B


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли
(мм^3)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

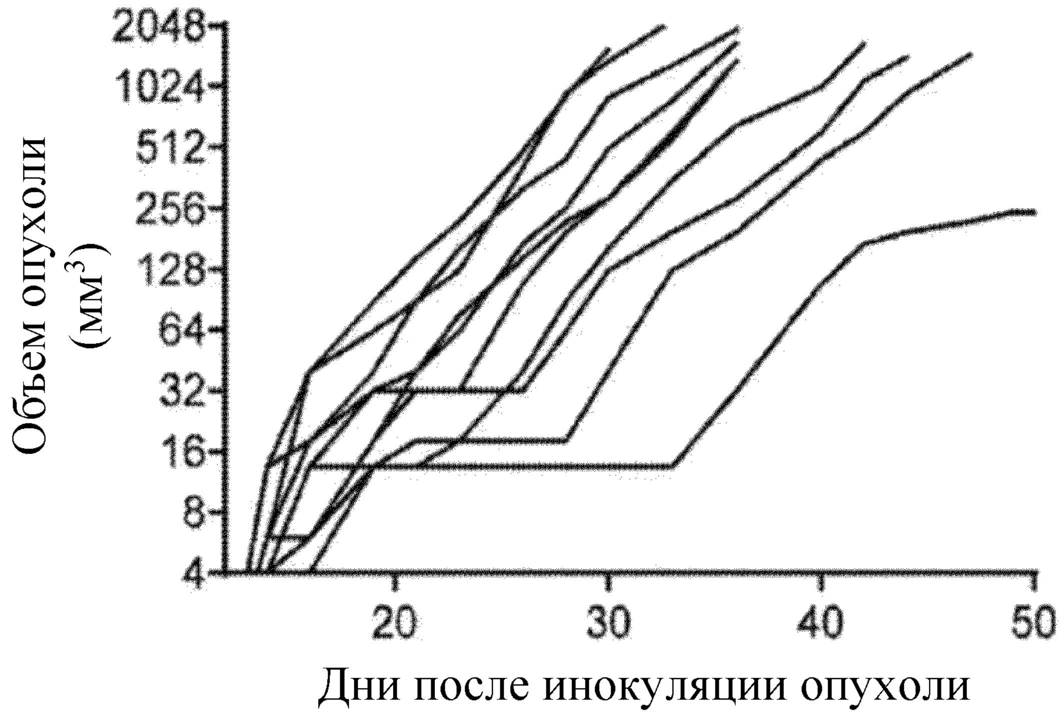
ФИГ. 9C


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли
(мм^3)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

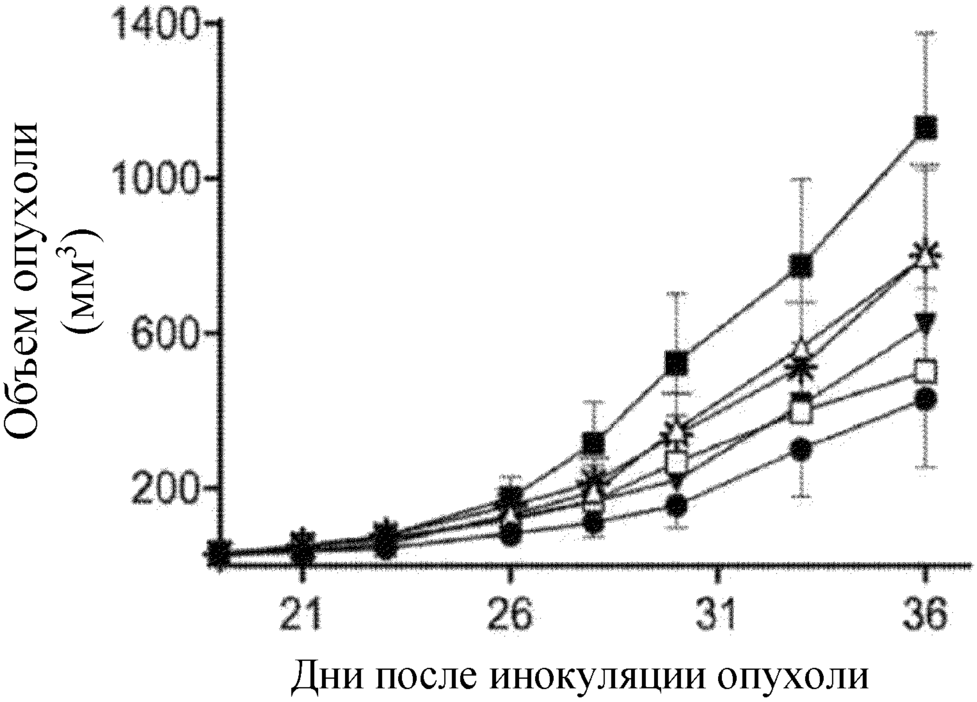
ФИГ. 9D


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли (мм^3)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

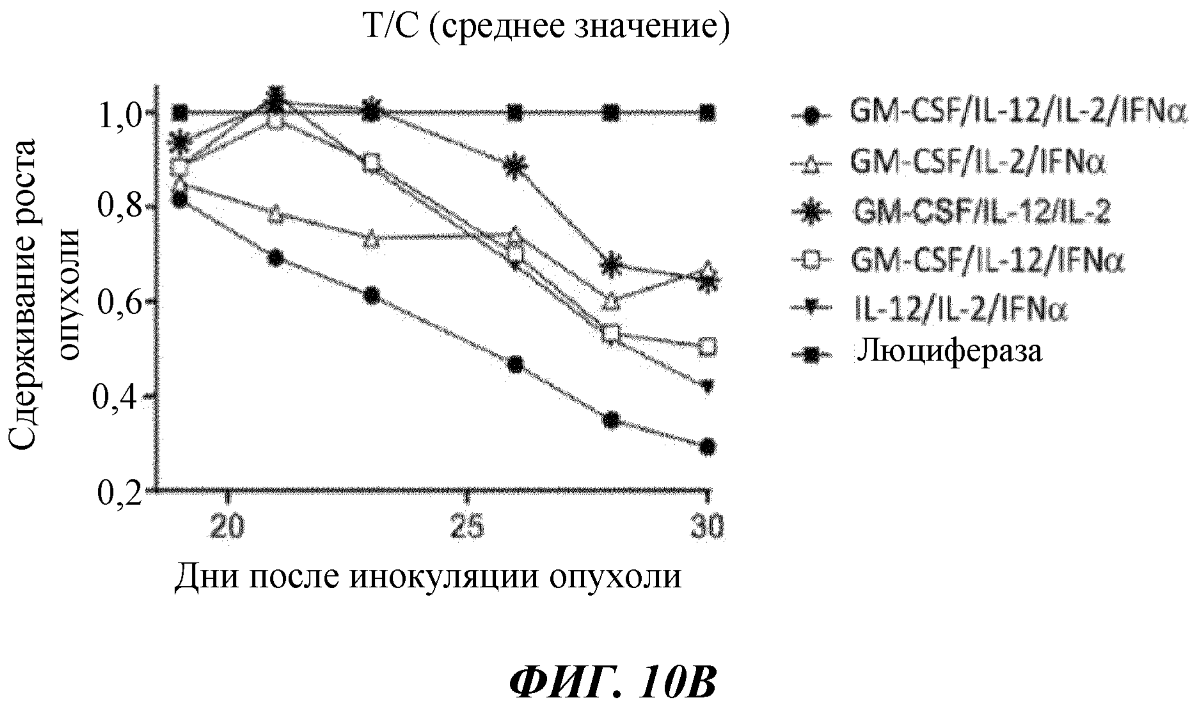
ФИГ. 9E


2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
Объем опухоли (мм^3)
20
30
40
50
Дни после инокуляции опухоли

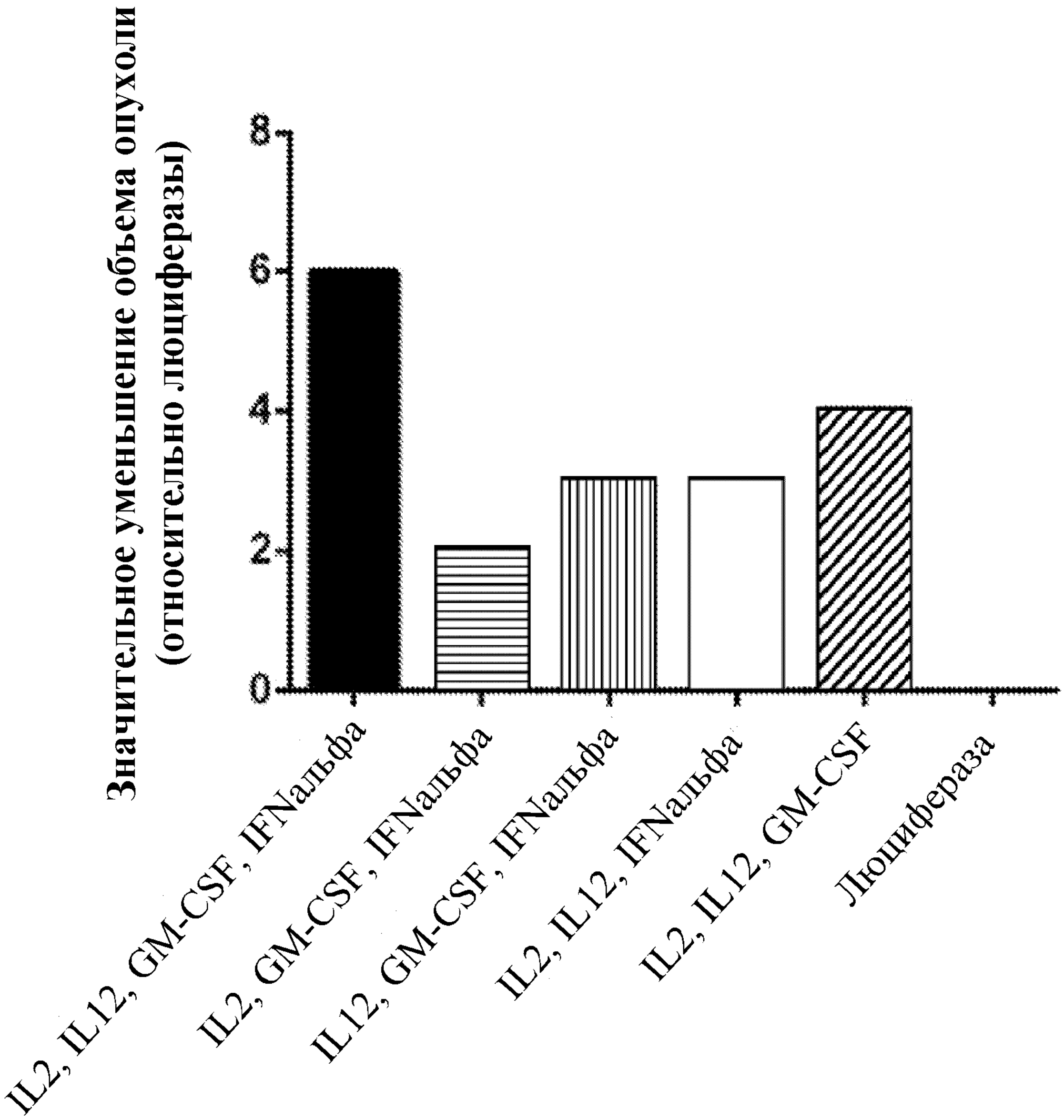
ФИГ. 9F



ФИГ. 10A

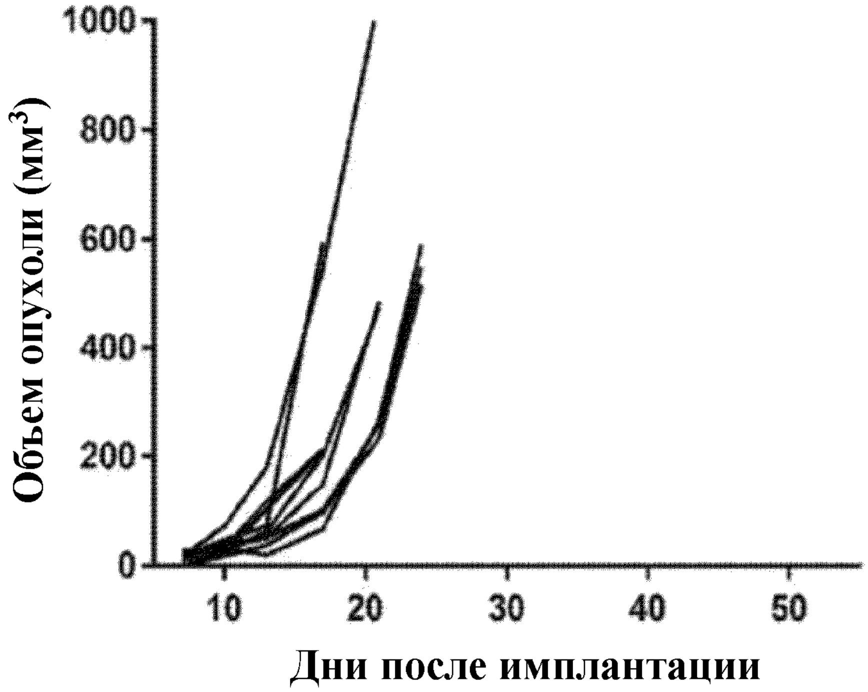


ФИГ. 10B

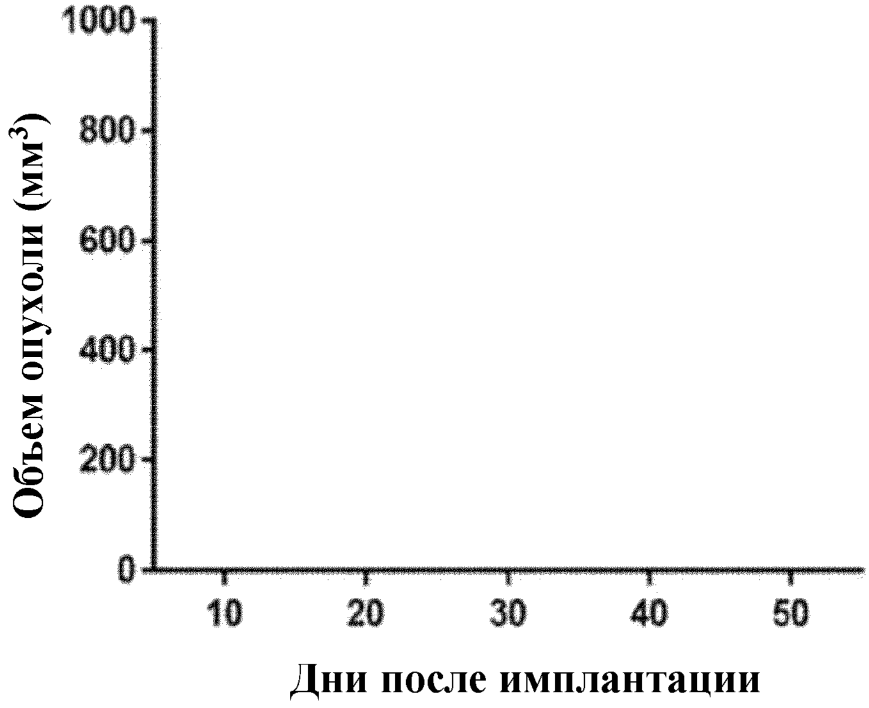


Значительное уменьшение объема опухоли
(относительно люциферазы)
8
6
4
2
0
IL2, IL12, GM-CSF, IFNальфа
IL2, GM-CSF, IFNальфа
IL12, GM-CSF, IFNальфа
IL2, IL12, IFNальфа
IL2, IL12, GM-CSF
Люцифераза

ФИГ. 11



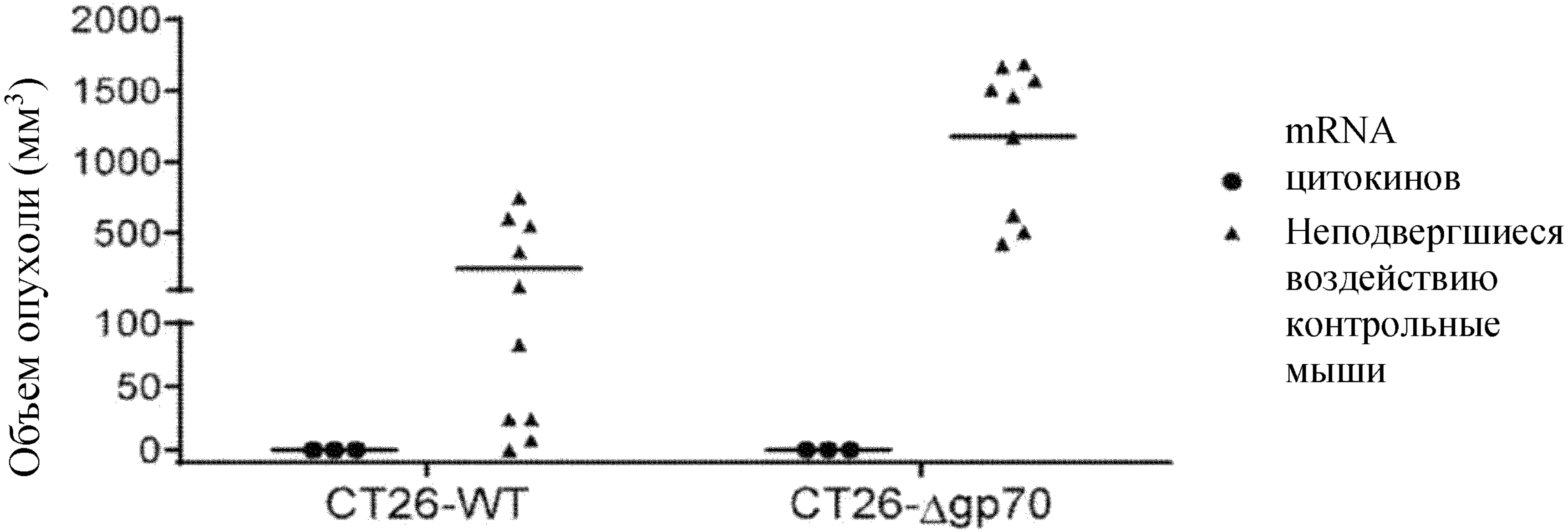
ФИГ. 12А



ФИГ. 12В

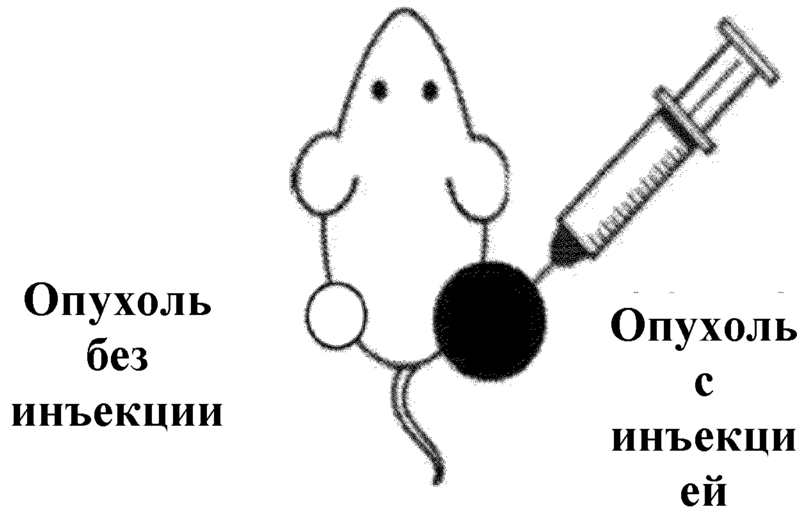
Локализованное витилиго в участке опухоли

ФИГ. 12С

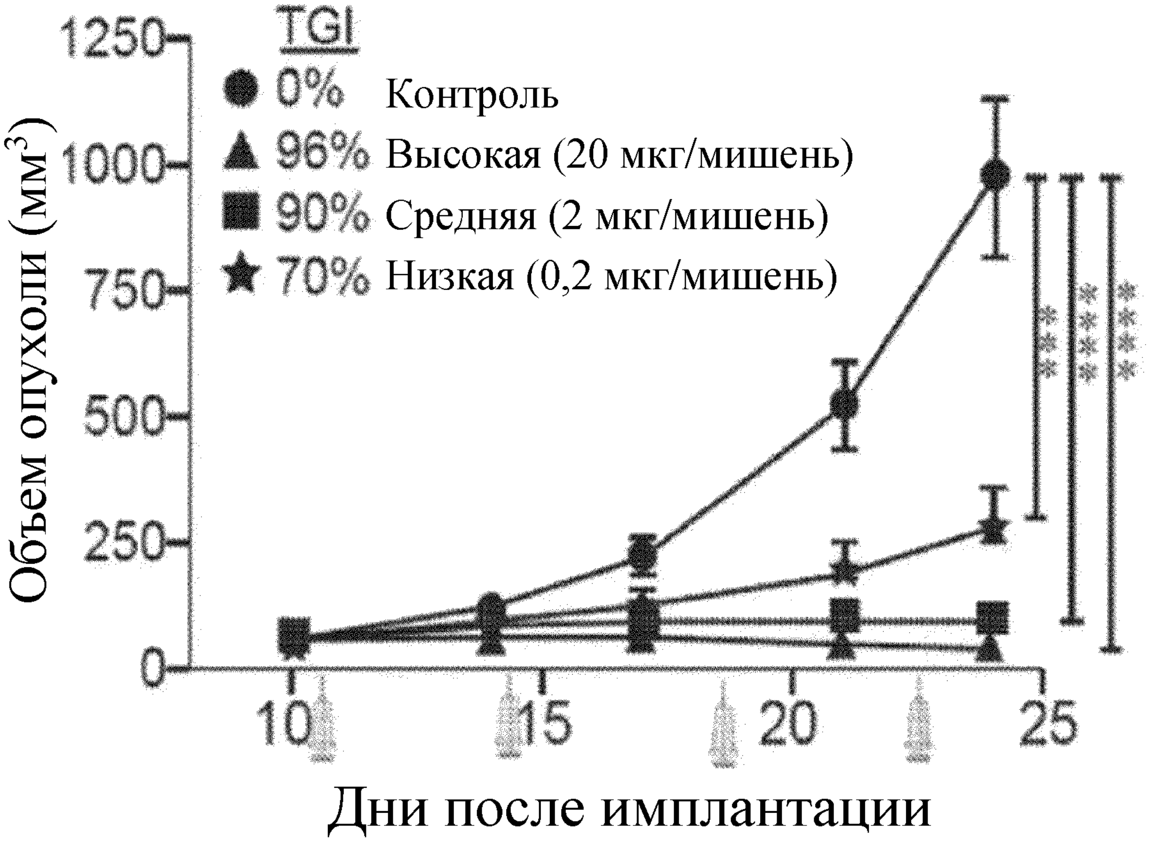


2000
1500
1000
500
100
50
0
Объем опухоли (мм^3)
CT26-WT
CT26-Δgp70
mRNA цитокинов
Неподвергшиеся воздействию контрольные мыши

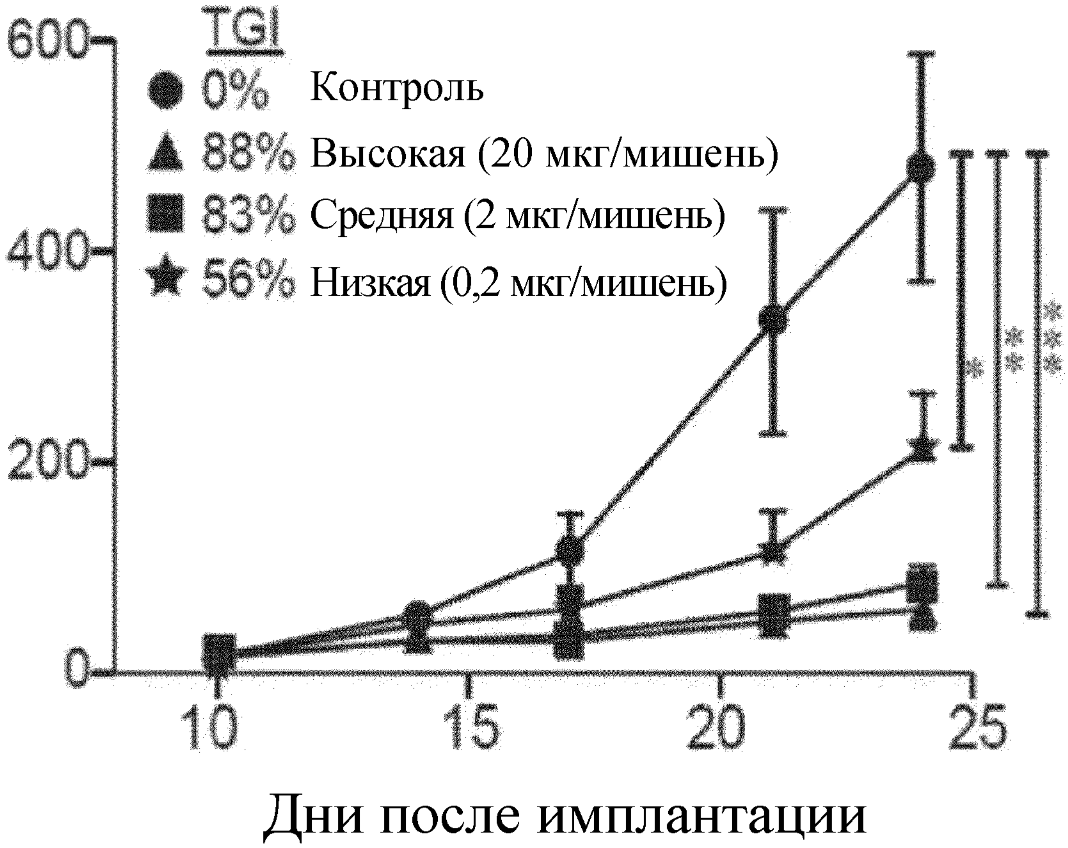
ФИГ. 12D



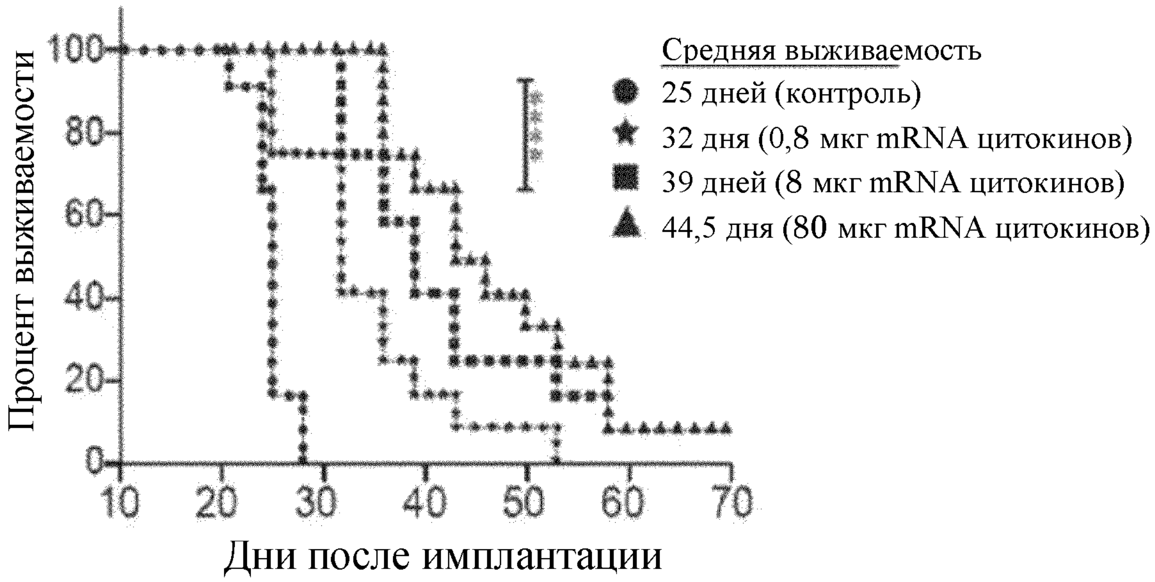
ФИГ. 13А



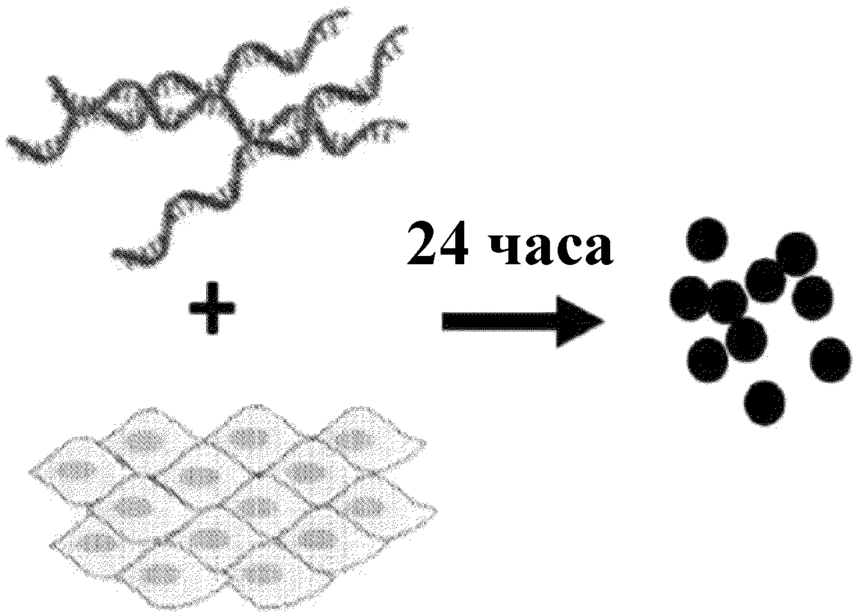
ФИГ. 13В



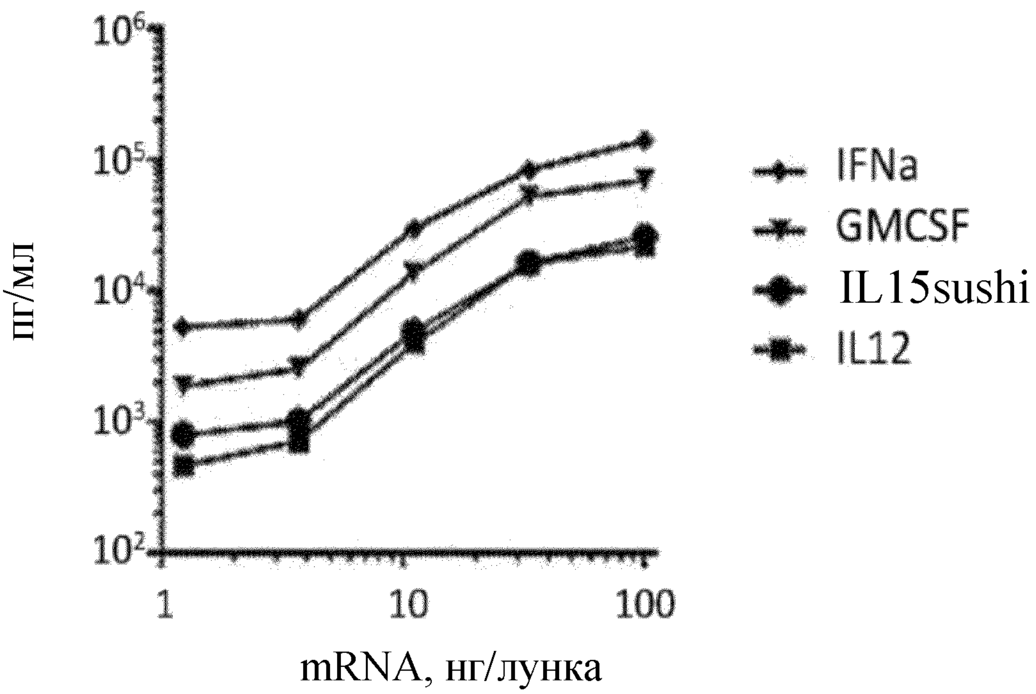
ФИГ. 13C



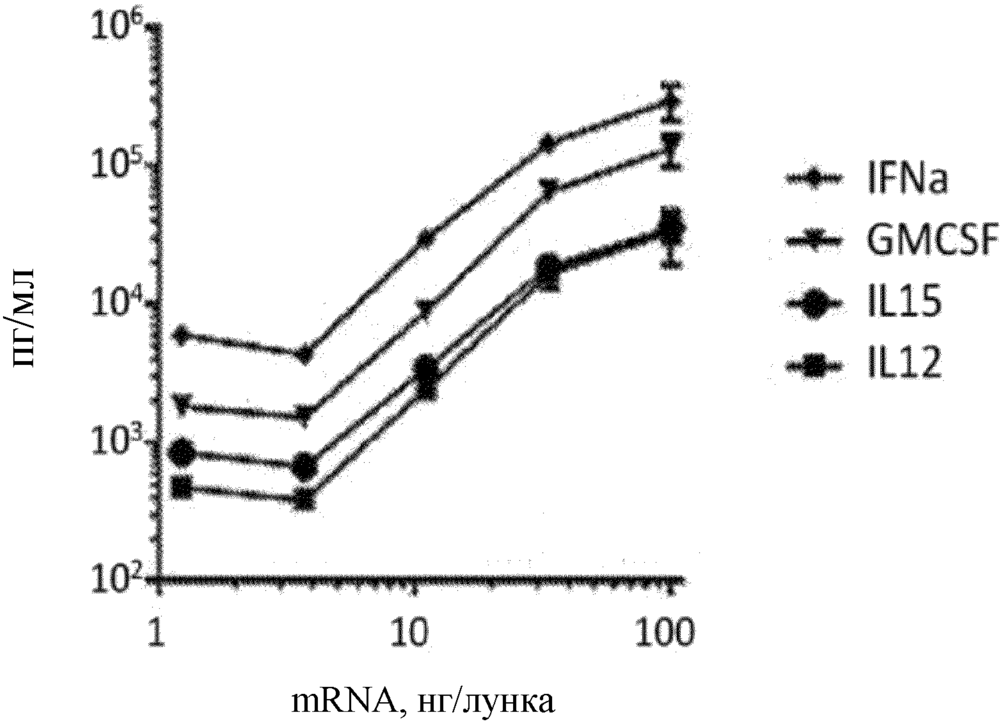
ФИГ. 13D



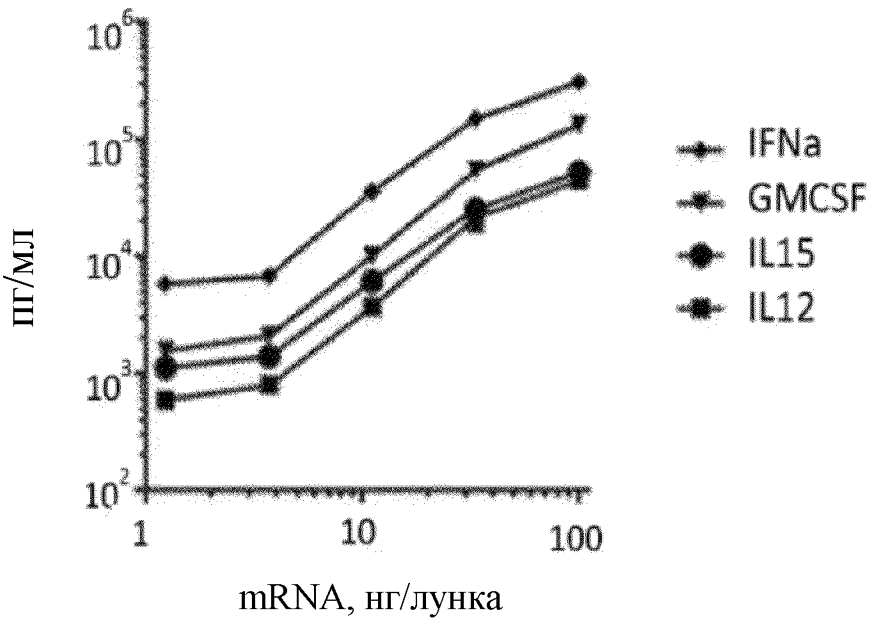
ФИГ. 14A



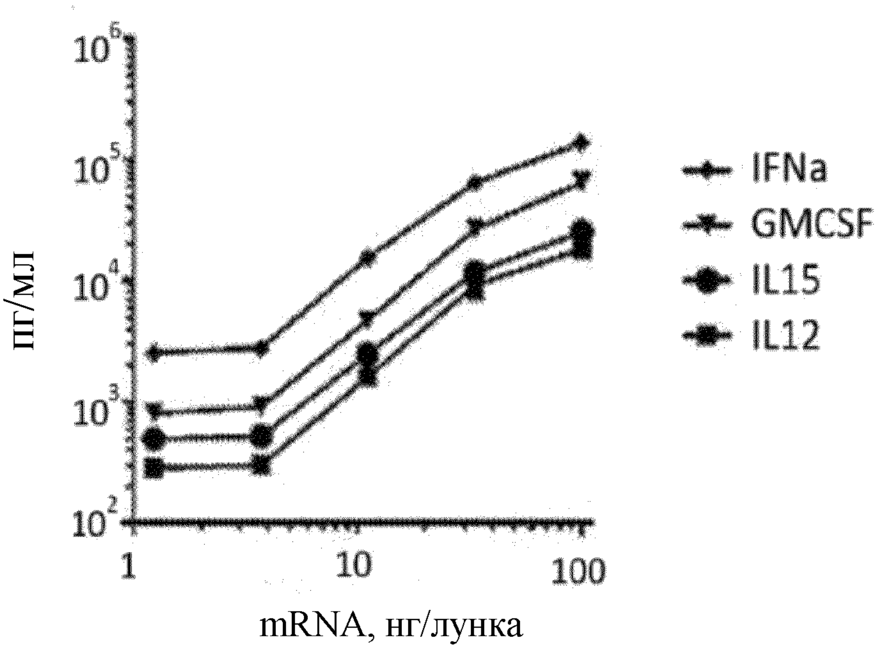
ФИГ. 14B



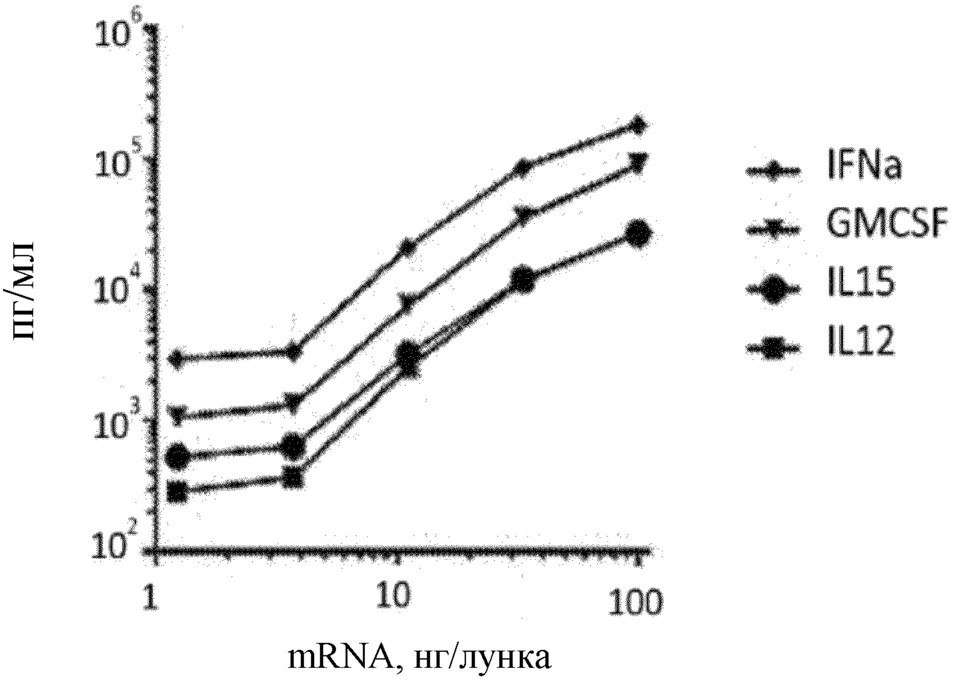
ФИГ. 14C



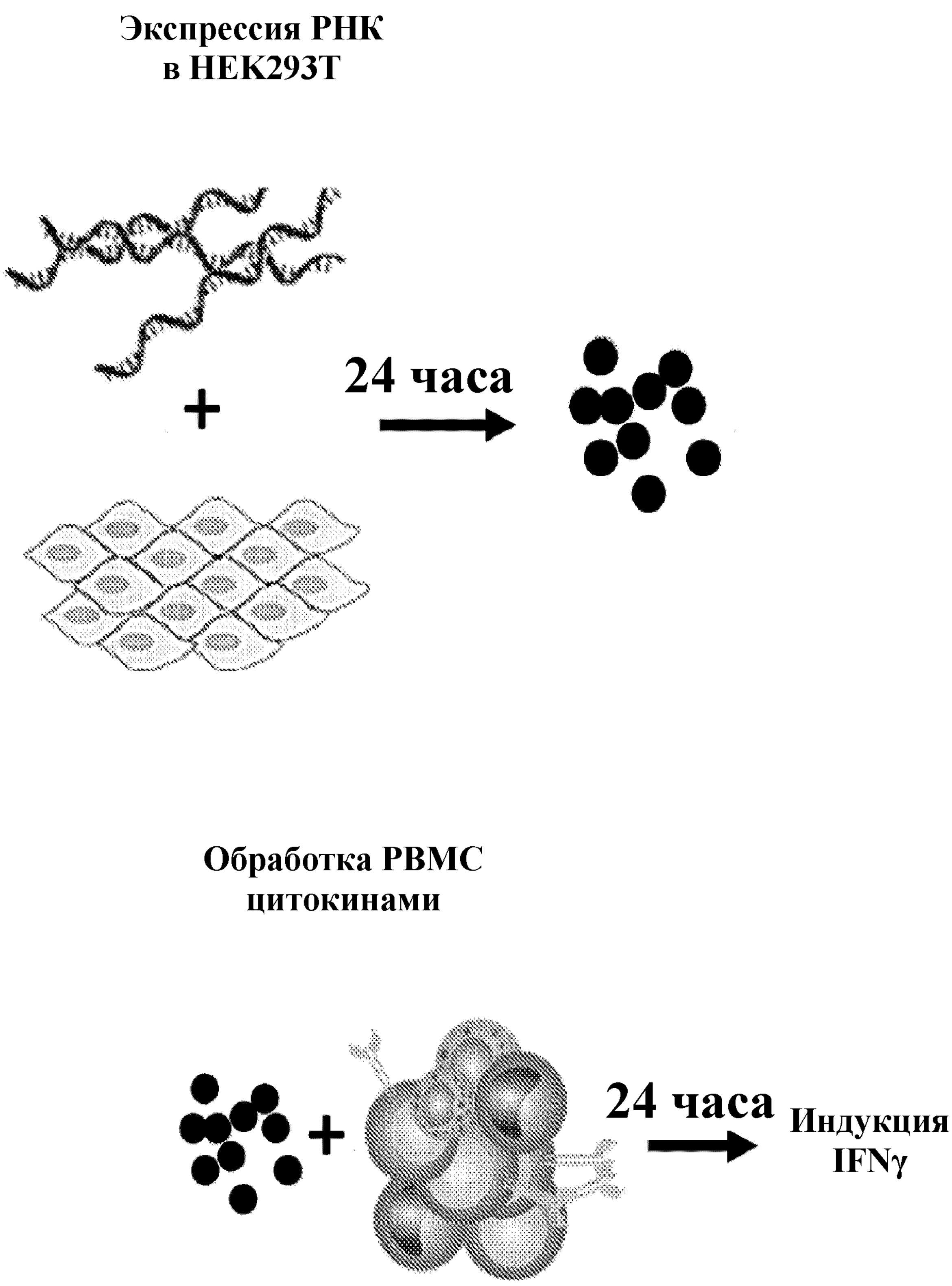
ФИГ. 14D



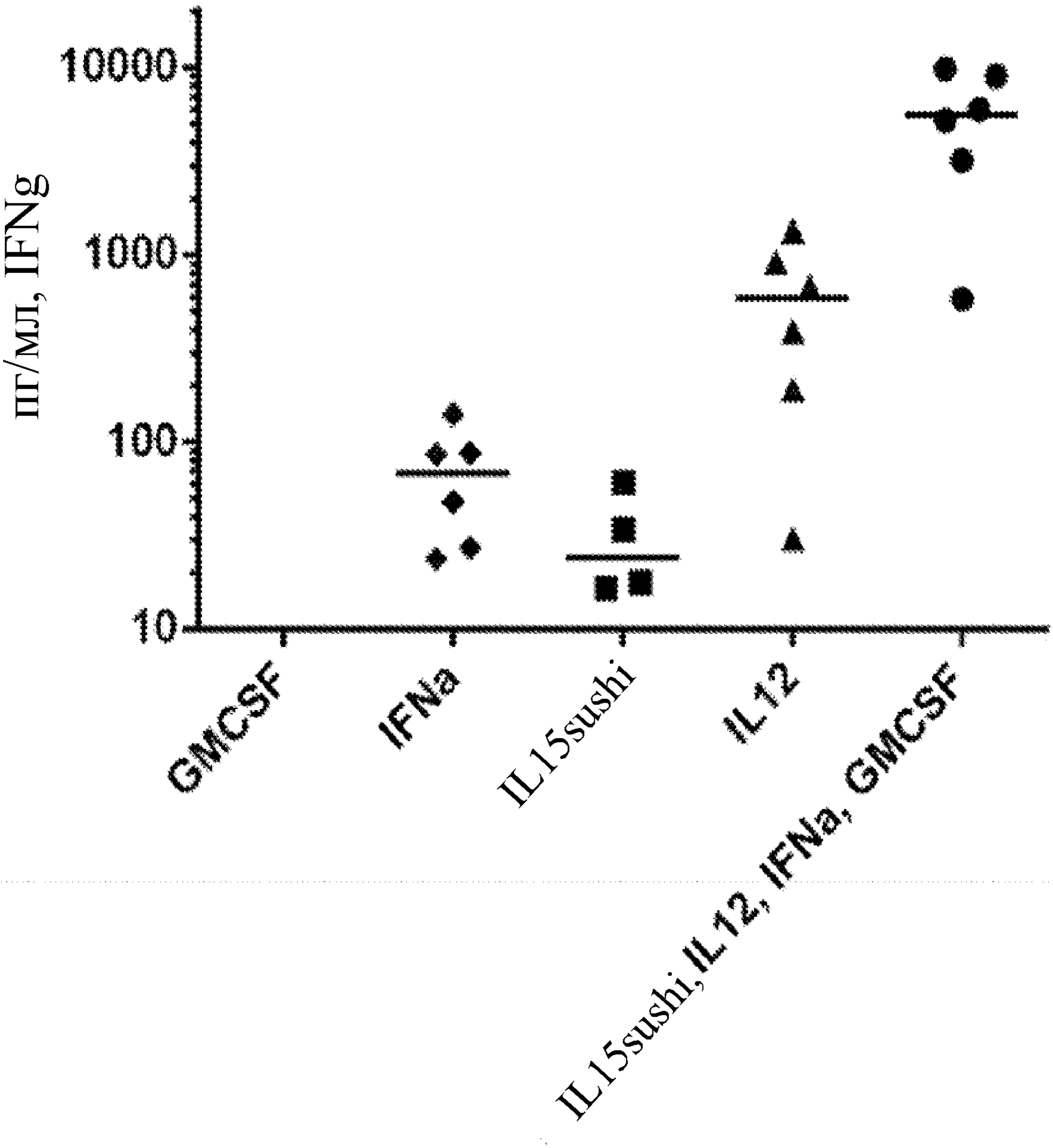
ФИГ. 14E



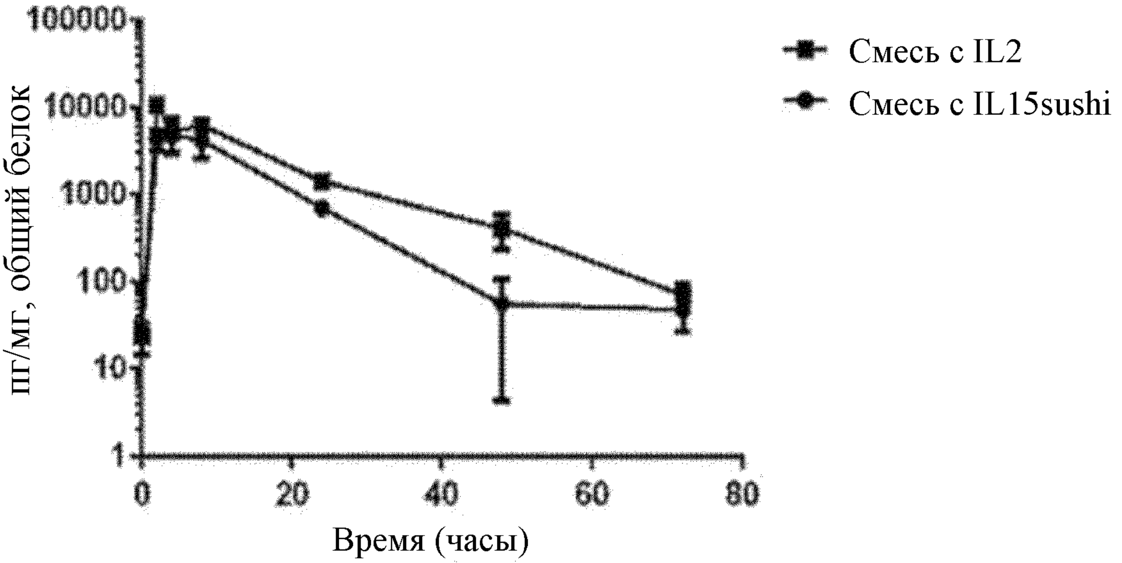
ФИГ. 14F


Экспрессия РНК
в HEK293T
+
24 часа
Обработка PBMC
цитокинами
+
24 часа
Индукция
IFNγ

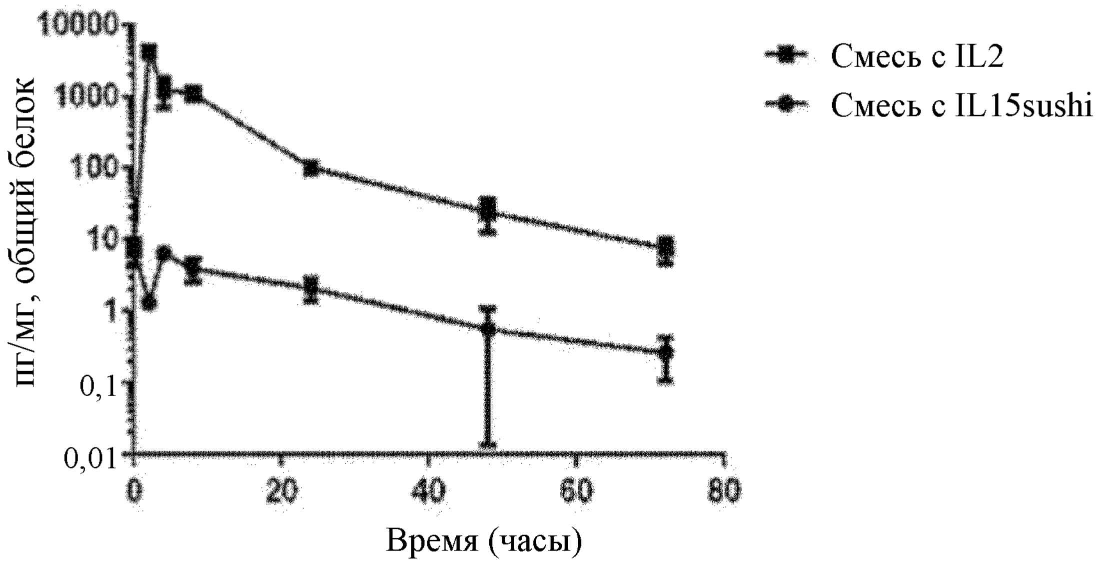
ФИГ. 15А


пг/мл, IFNg
10000
1000
100
10
GMCSF
IFNa
IL15sushi
IL12
IL15sushi, IL12, IFNa, GMCSF

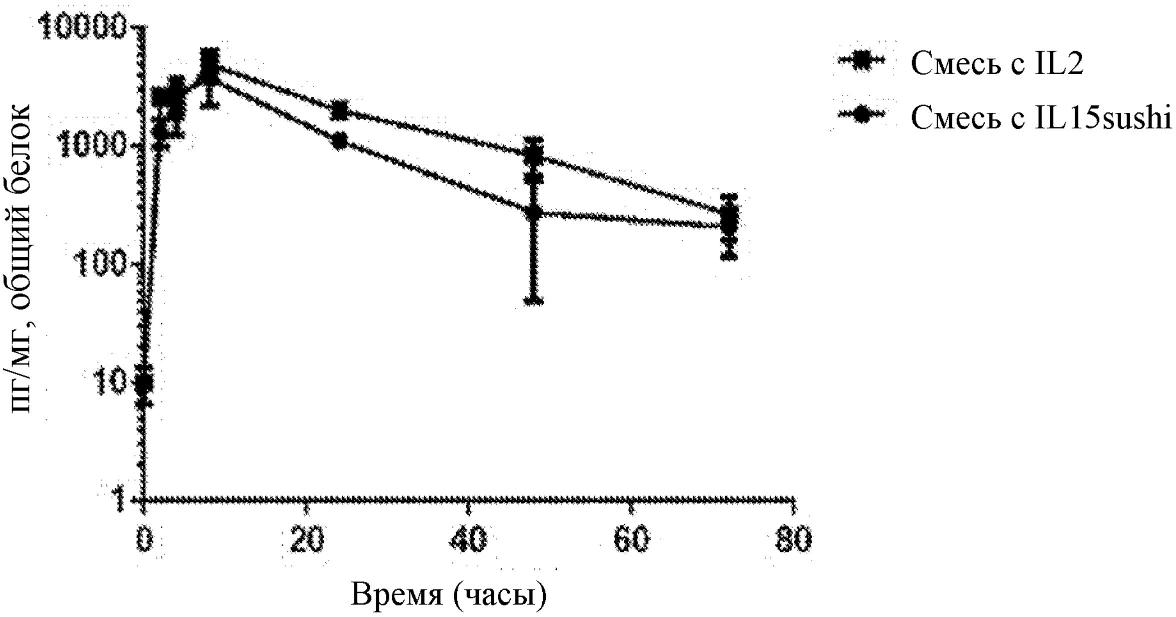
ФИГ. 15B



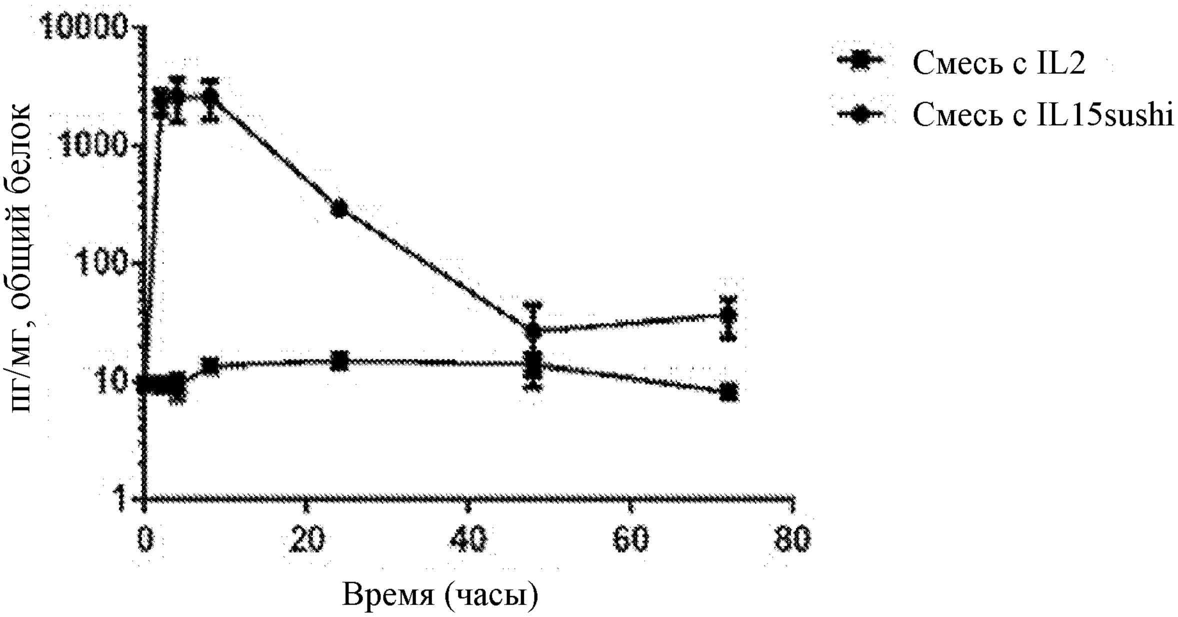
ФИГ. 16A



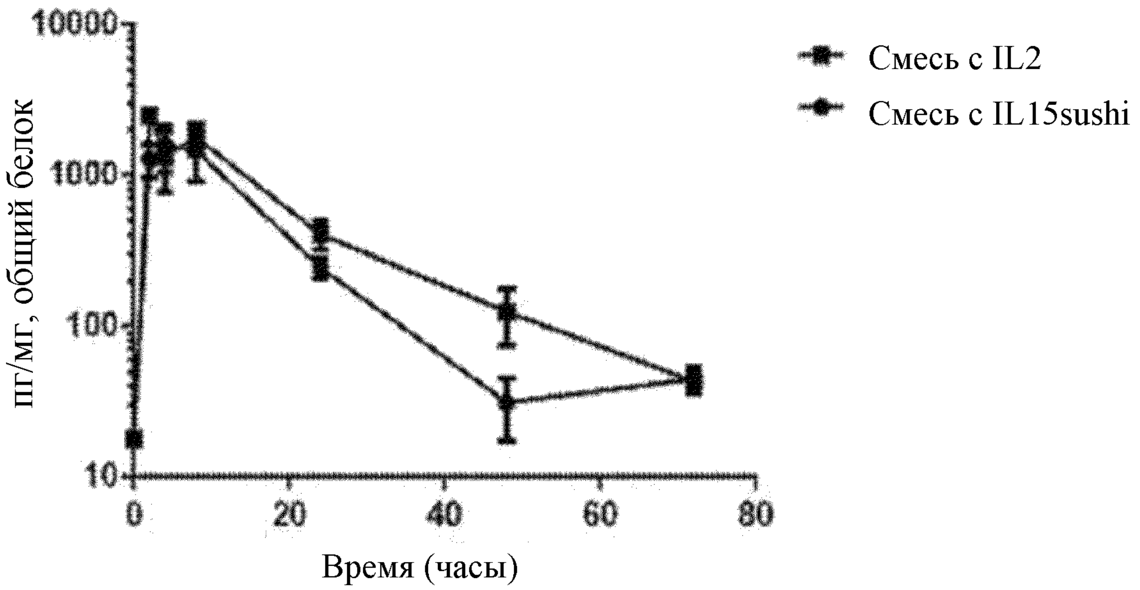
ФИГ. 16B



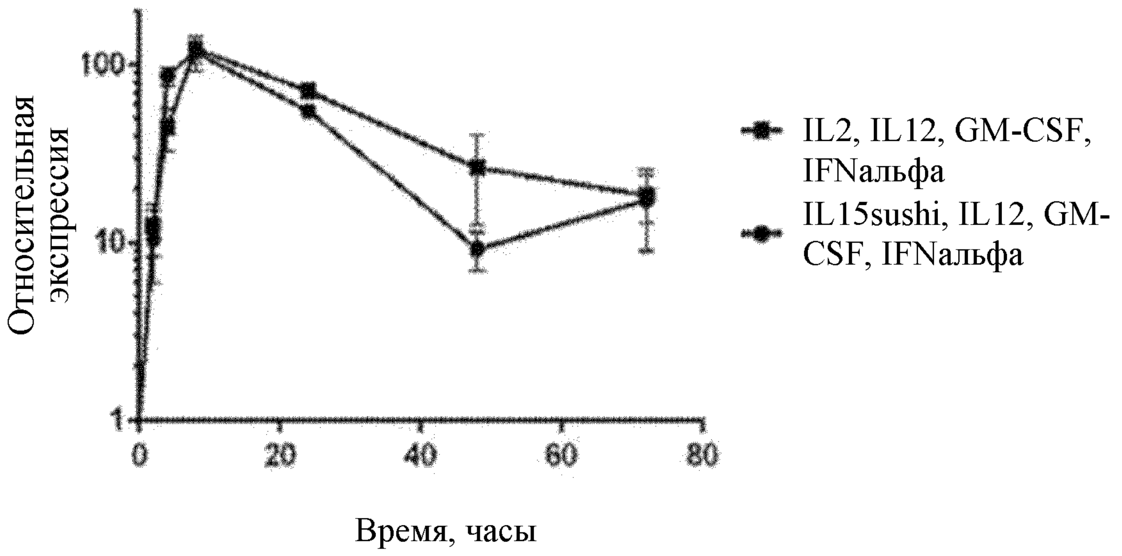
ФИГ. 16C



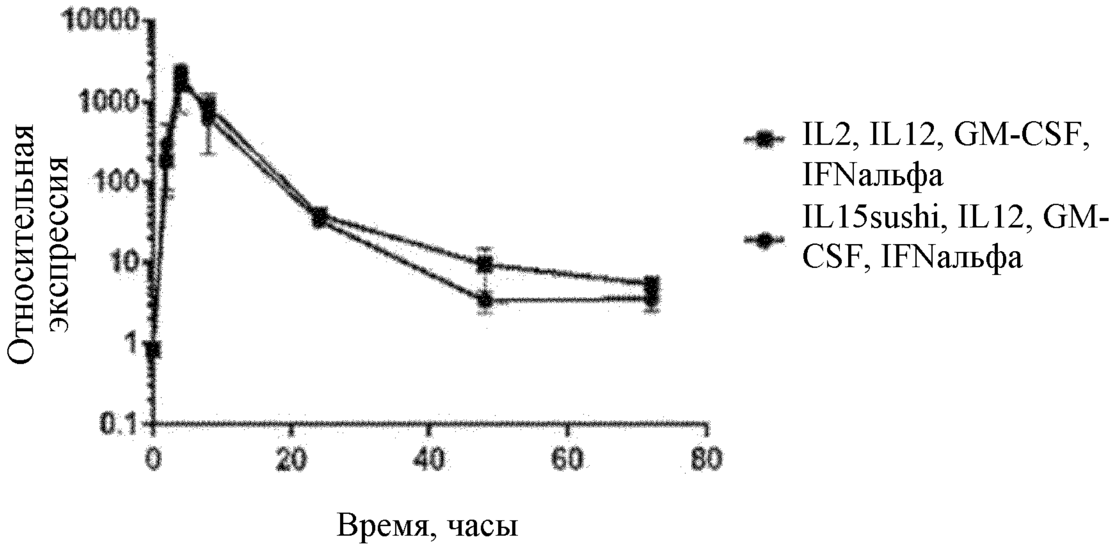
ФИГ. 16D



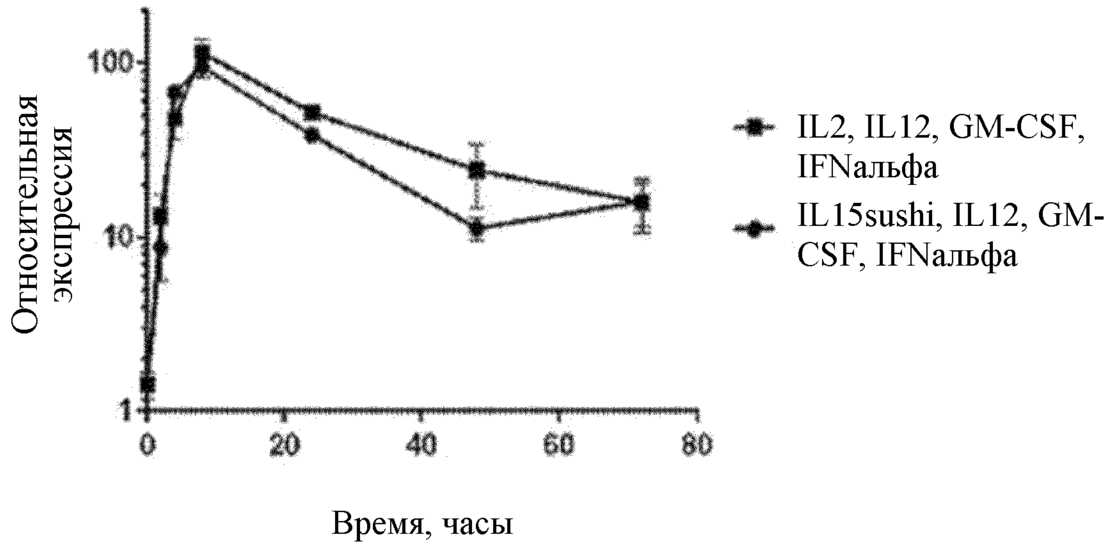
ФИГ. 16E



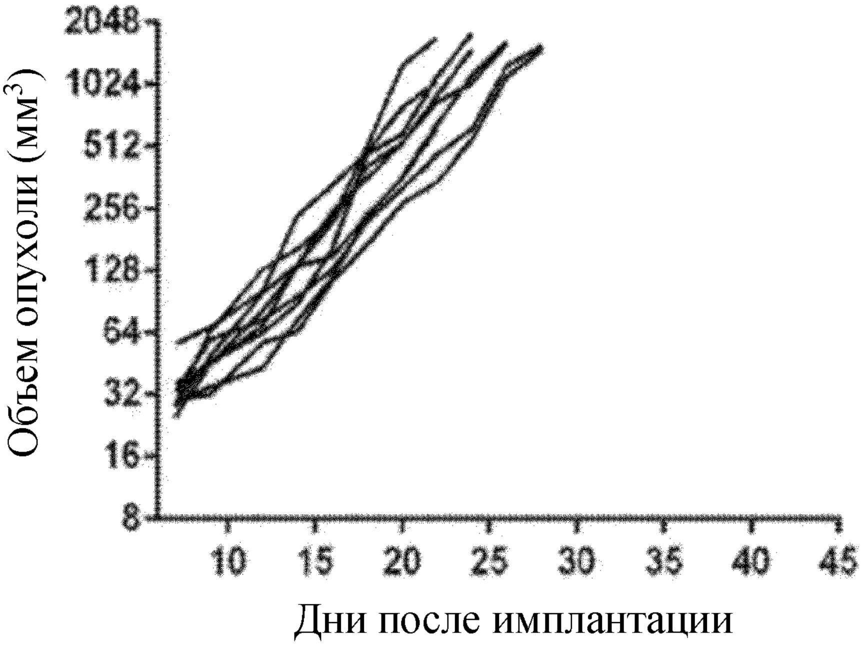
ФИГ. 17A



ФИГ. 17В

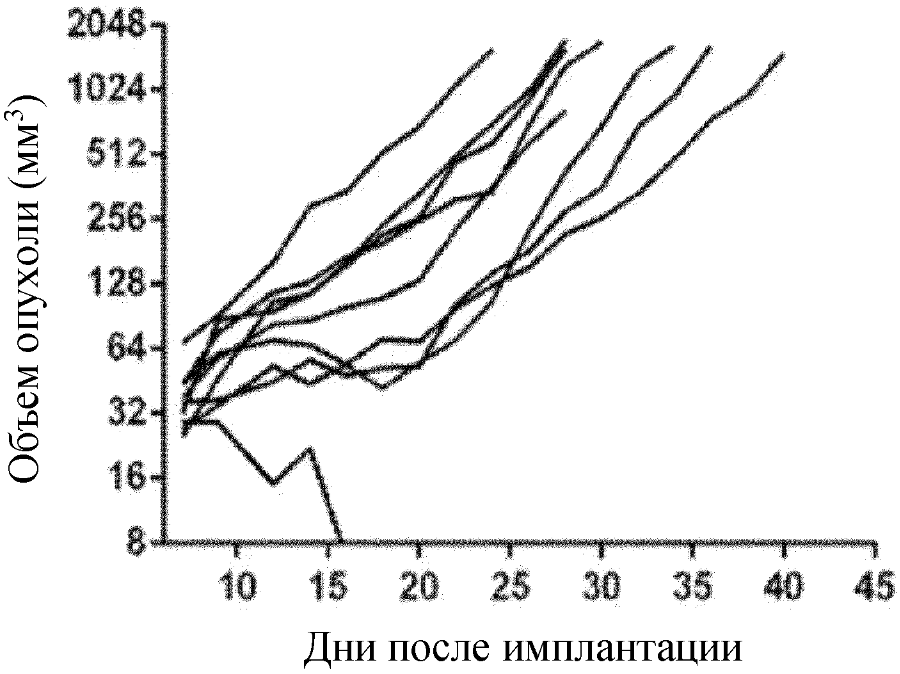


ФИГ. 17С

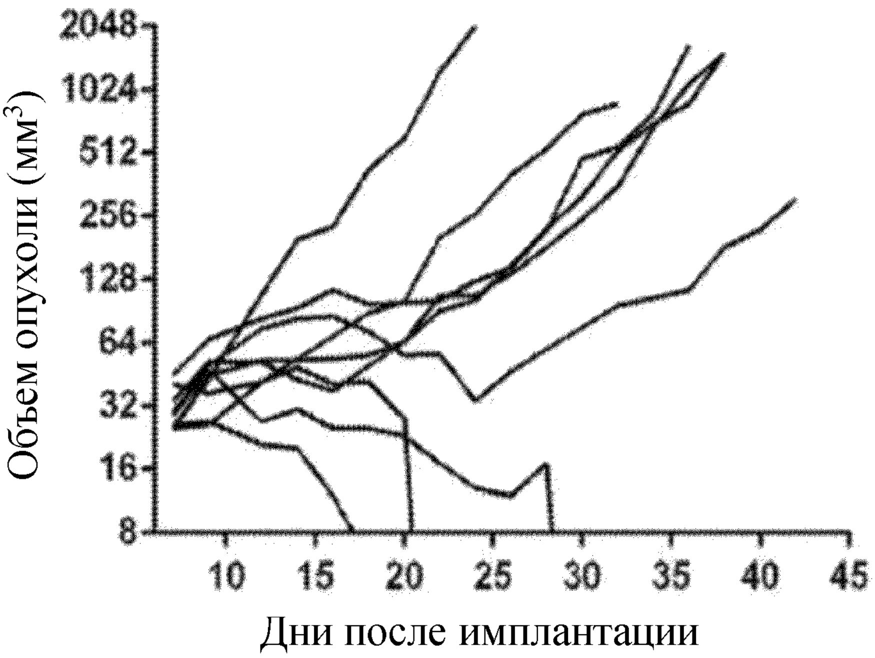


ФИГ. 18A

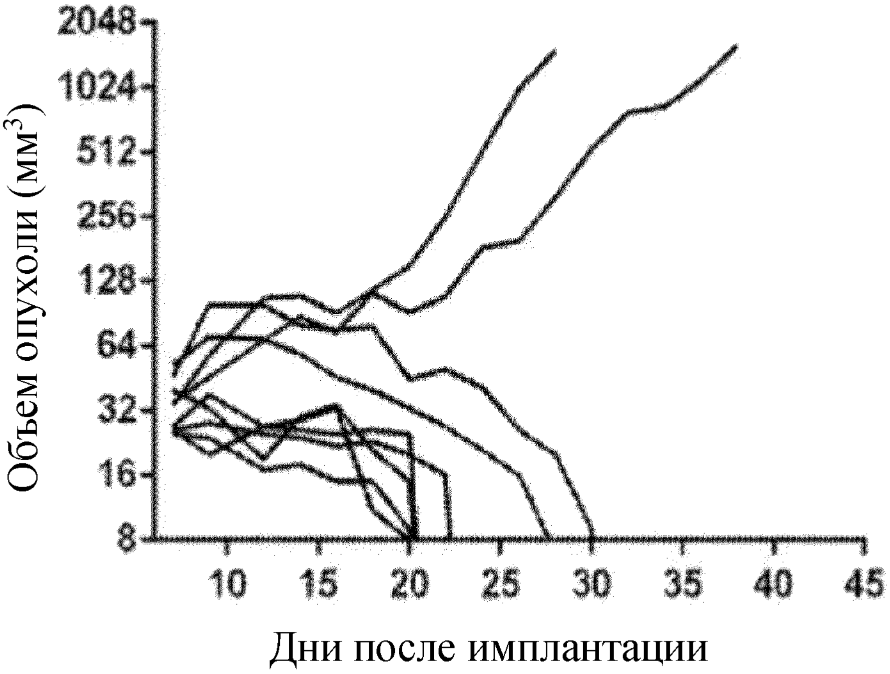
ФИГ. 18B



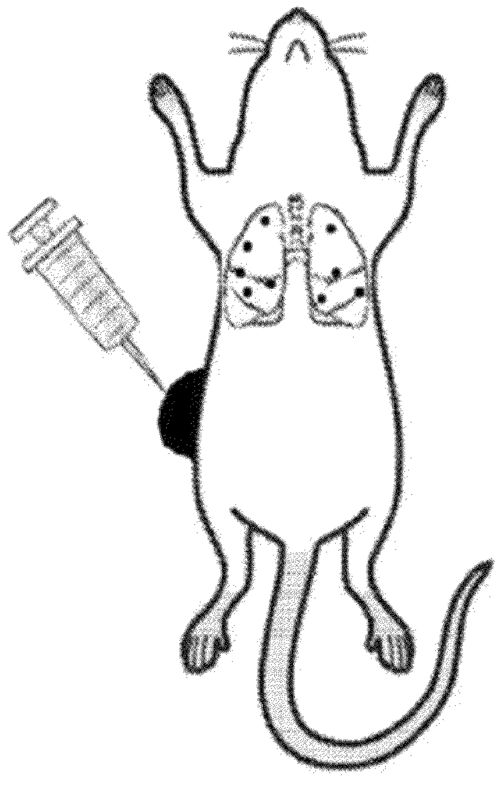
ФИГ. 18C



ФИГ. 18D



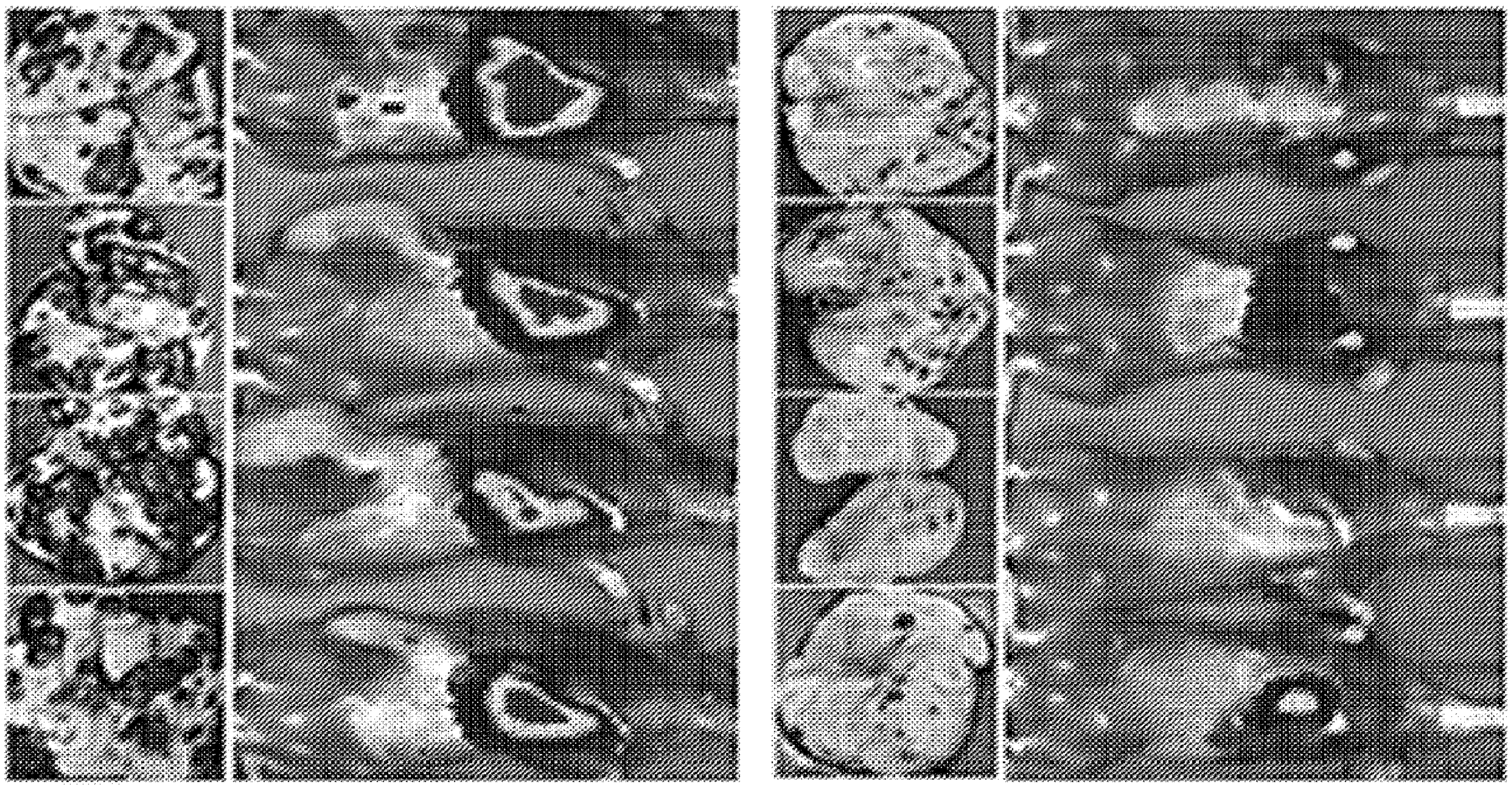
ФИГ. 18E



ФИГ. 19A

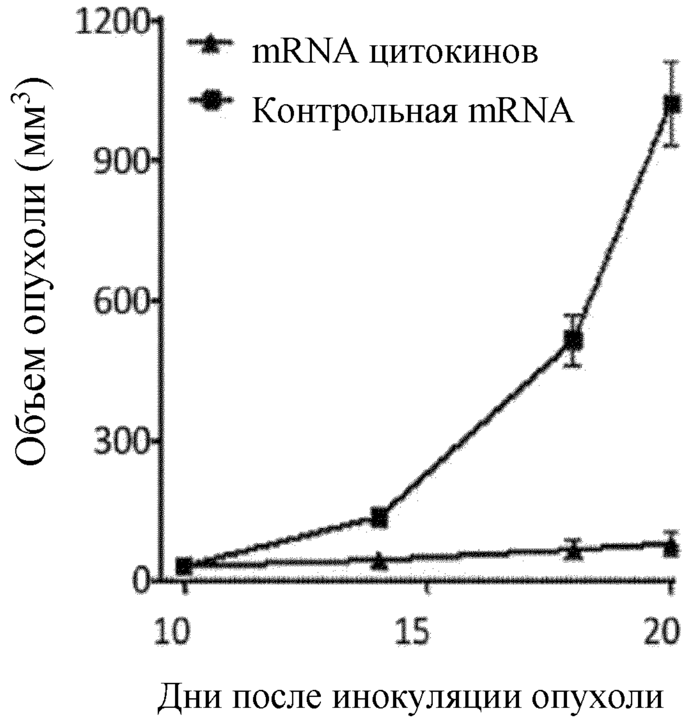
Контрольная mRNA

mRNA цитокинов

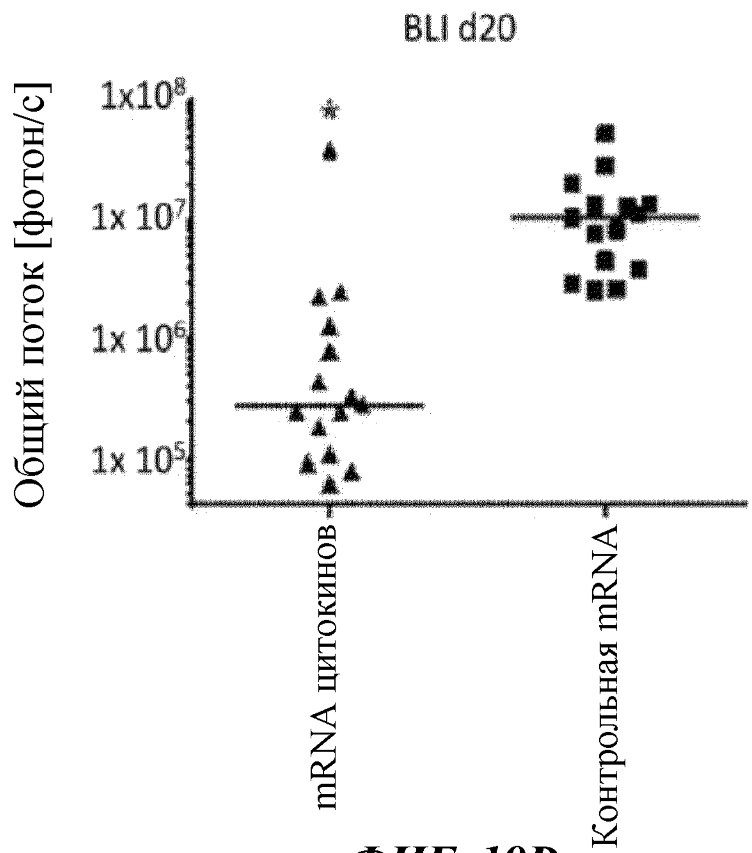


Общий поток [фотон/с]

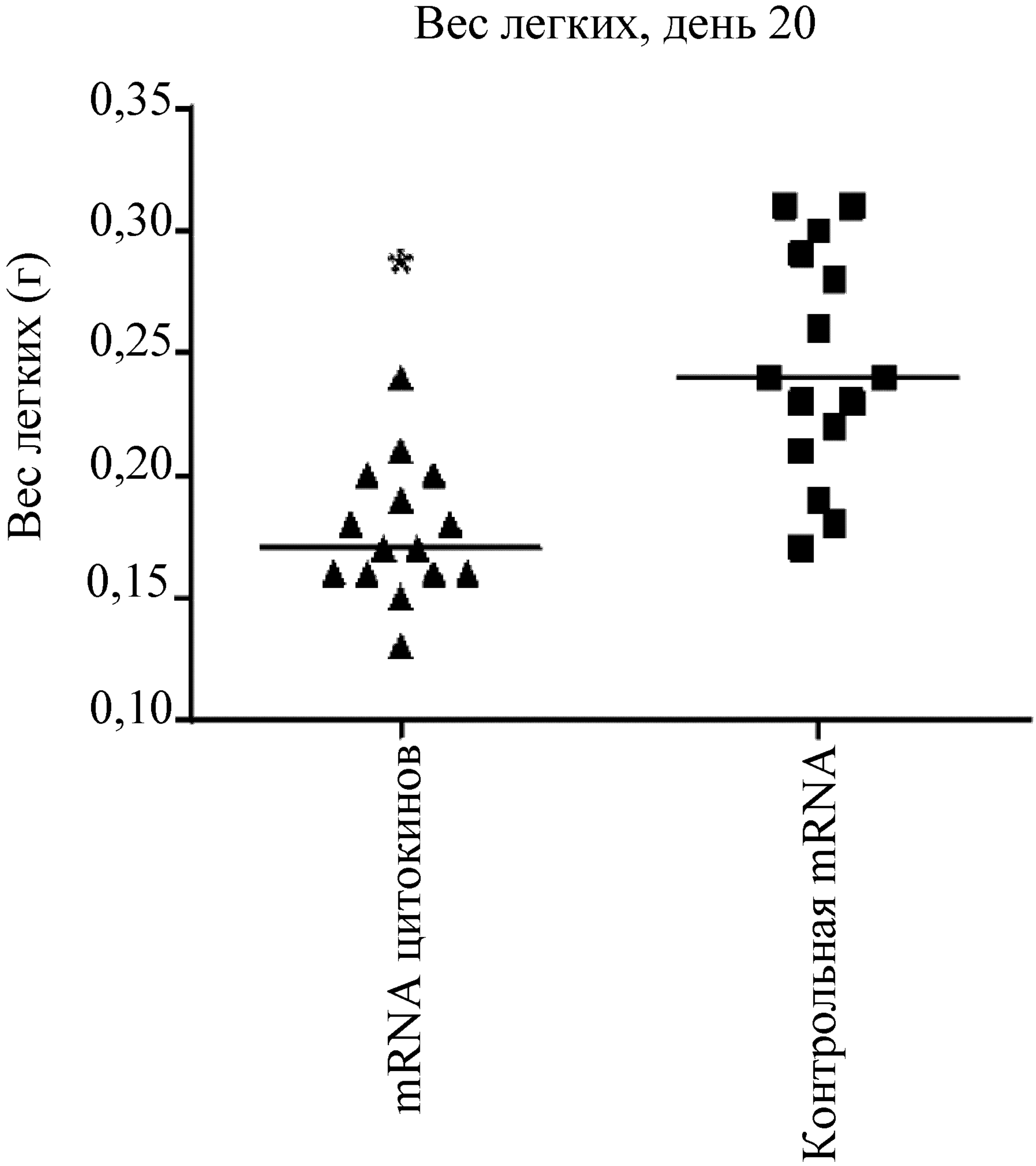
ФИГ. 19B



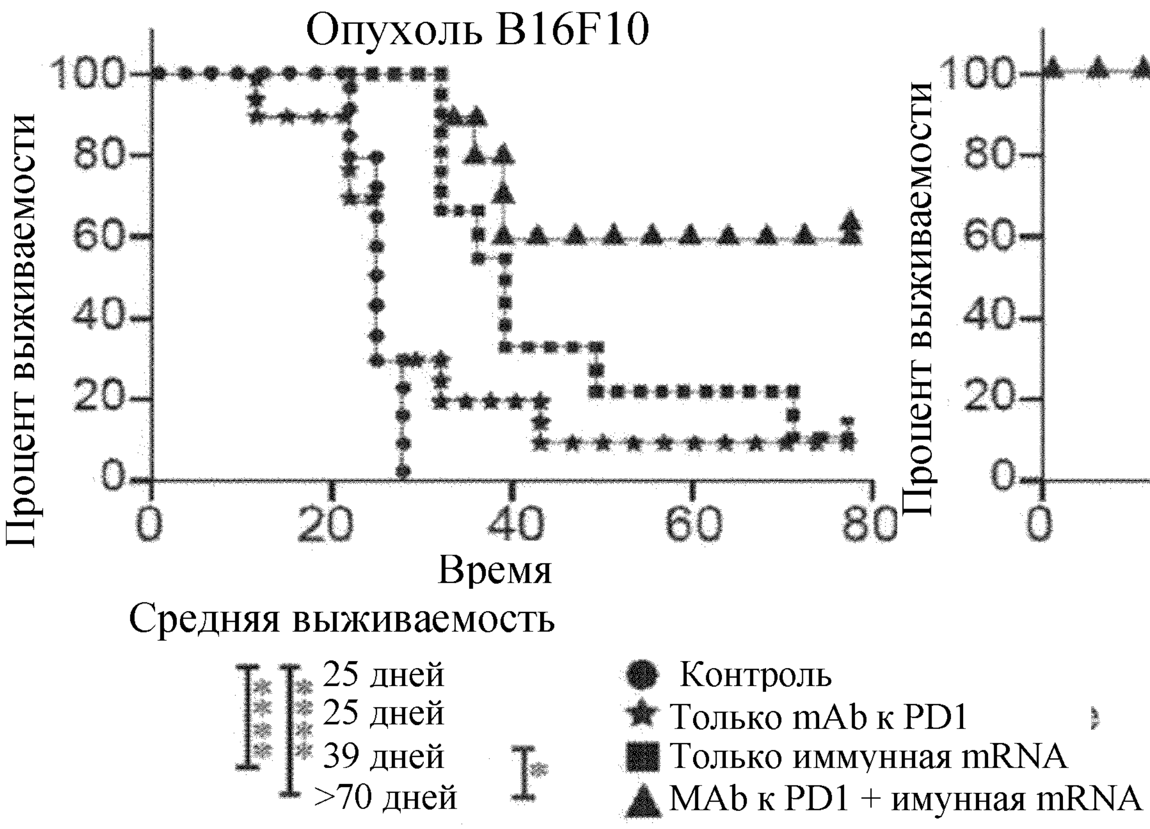
ФИГ. 19C



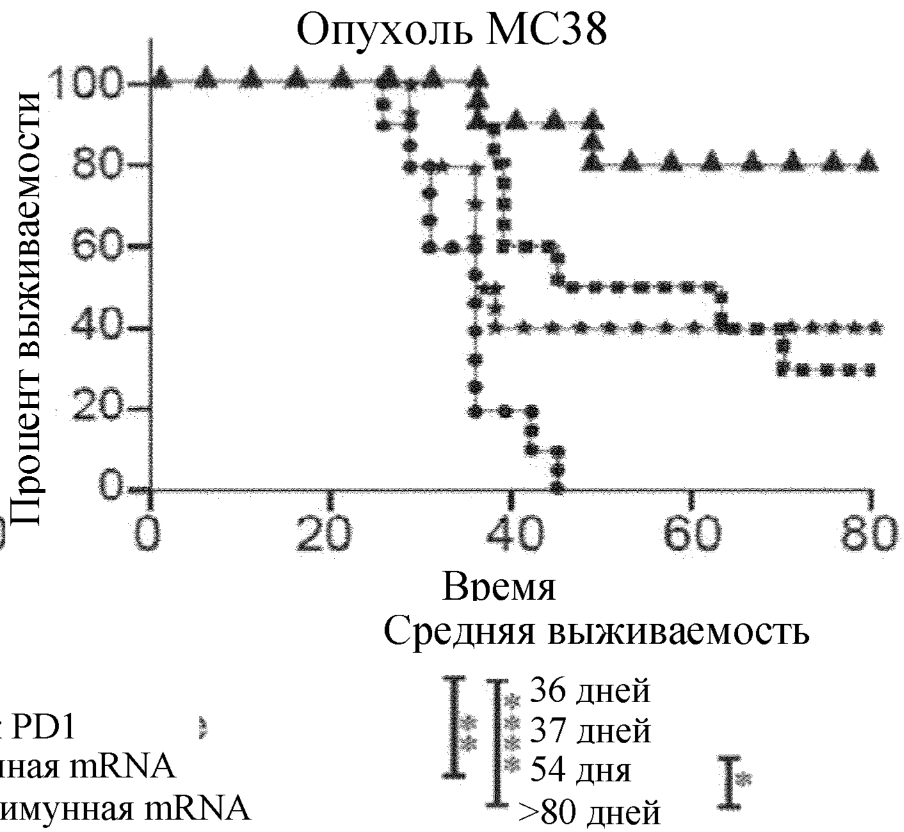
ФИГ. 19D


Вес легких, день 20
Вес легких (г)
0,35
0,30
0,25
0,20
0,15
0,10
*
mRNA цитокинов
Контрольная mRNA

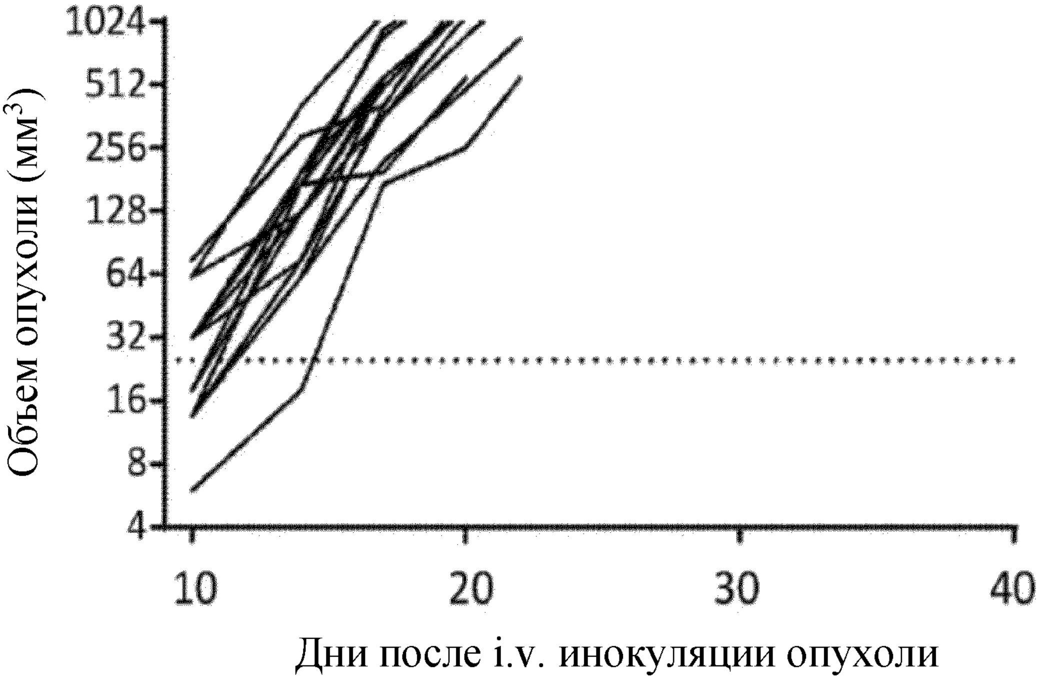
ФИГ. 19E



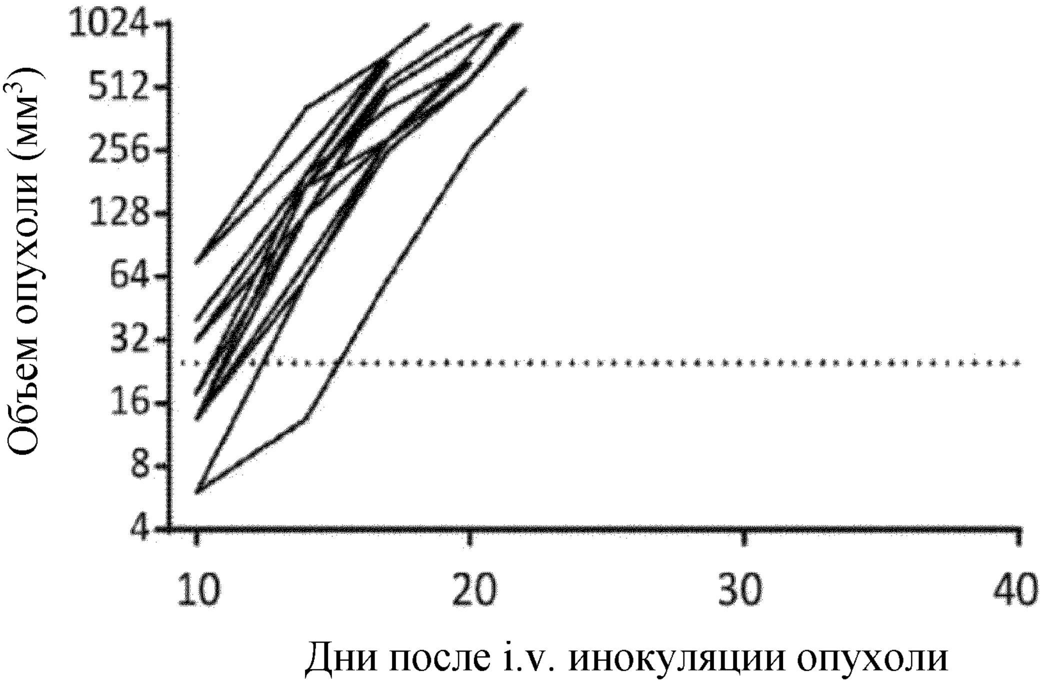
ФИГ. 20A



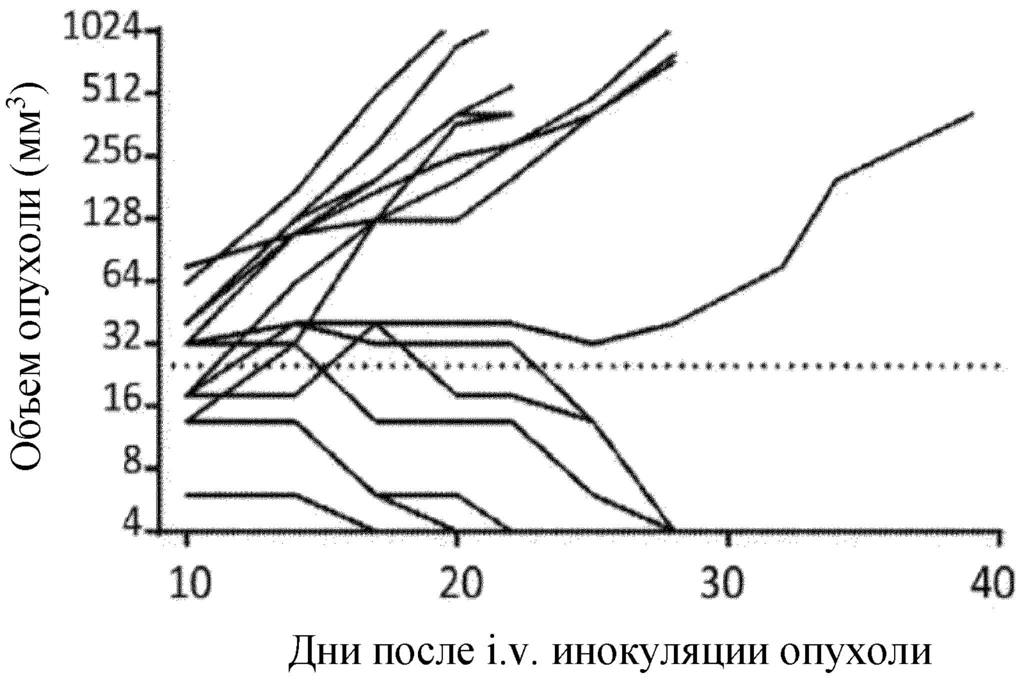
ФИГ. 20B



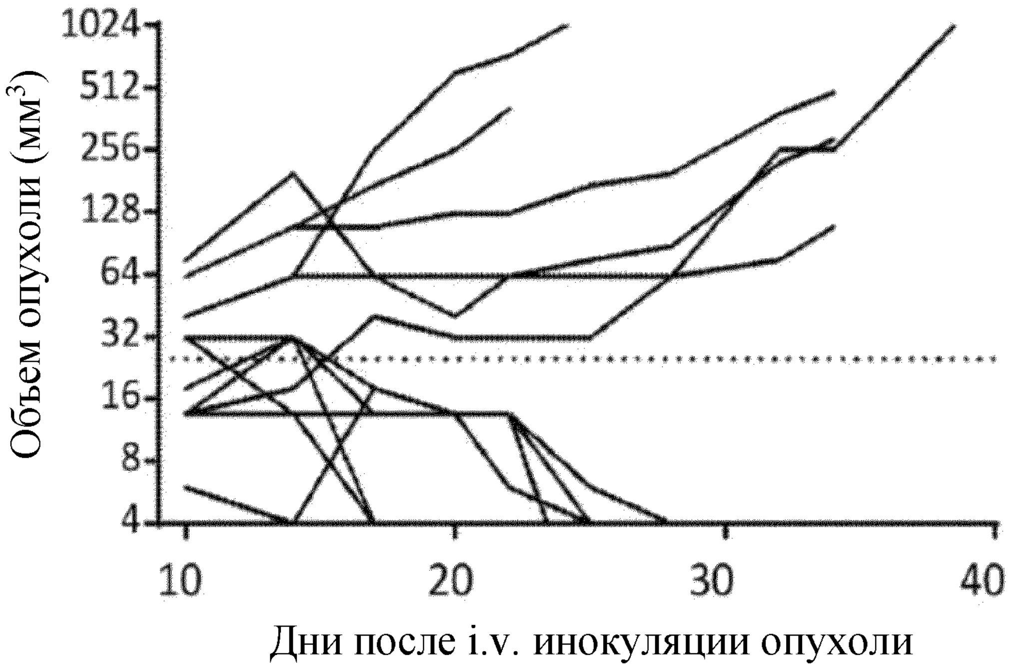
ФИГ. 20C



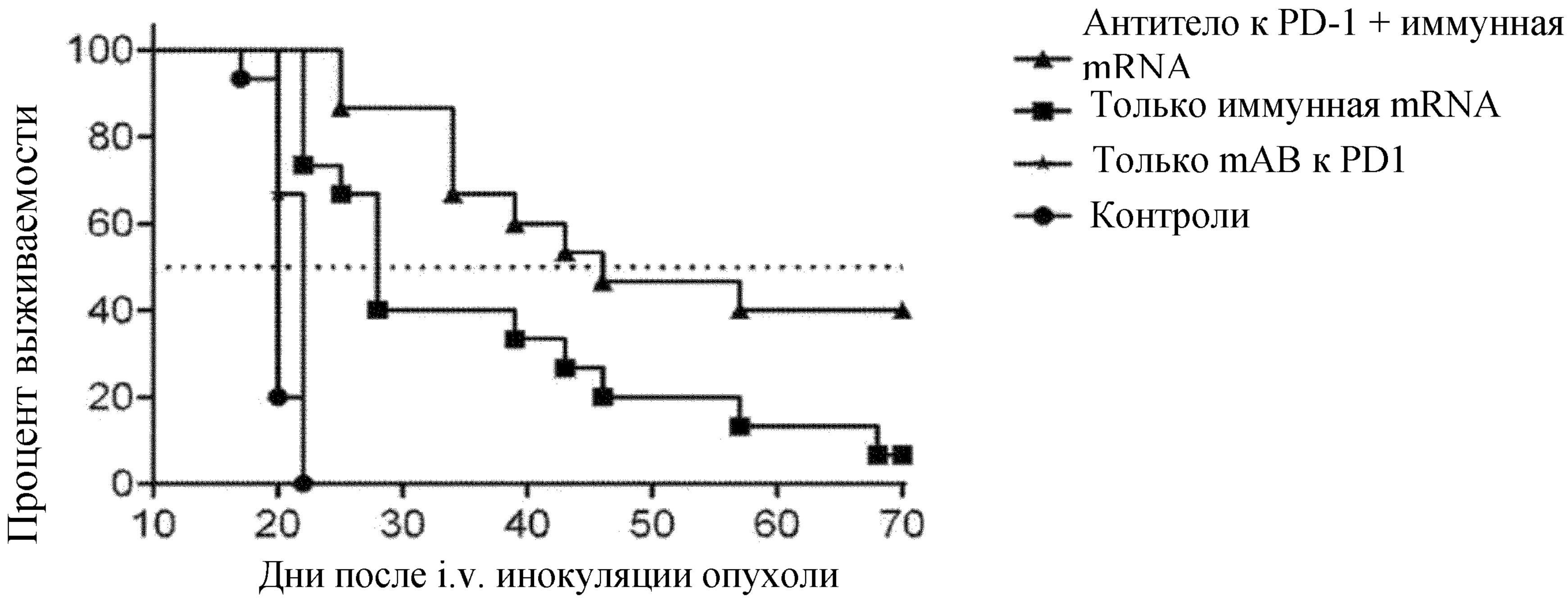
ФИГ. 20D



ФИГ. 20E



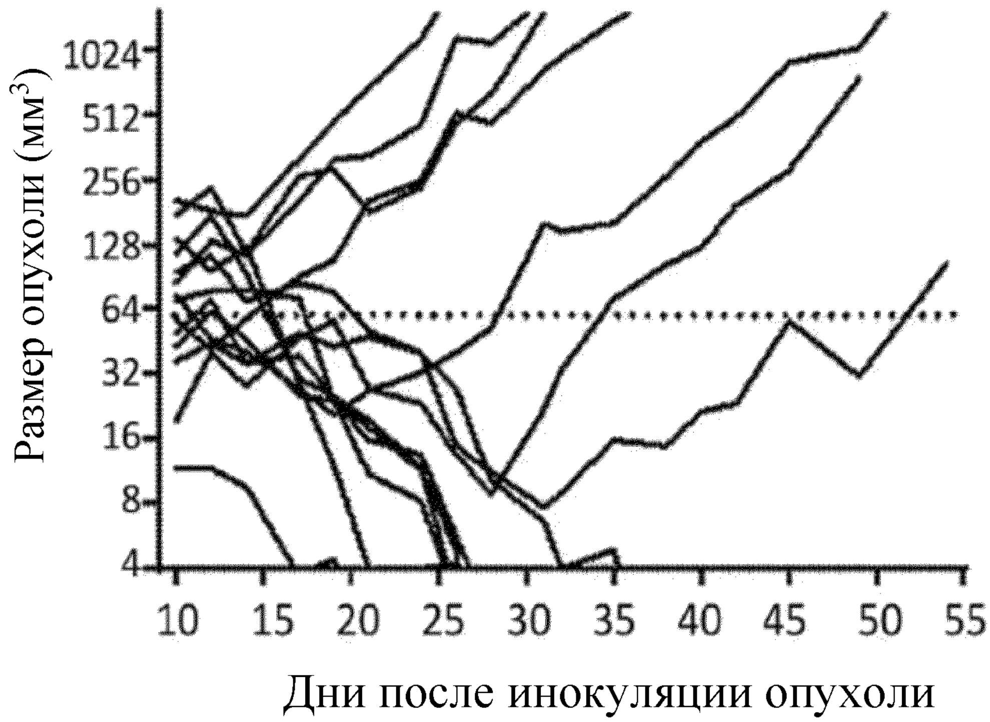
ФИГ. 20F


Процент выживаемости
100
80
60
40
20
0
10
20
30
40
50
60
70
Дни после i.v. инокуляции опухоли
Антитело к PD-1 + иммунная mRNA
Только иммунная mRNA
Только mAB к PD1
Контроли

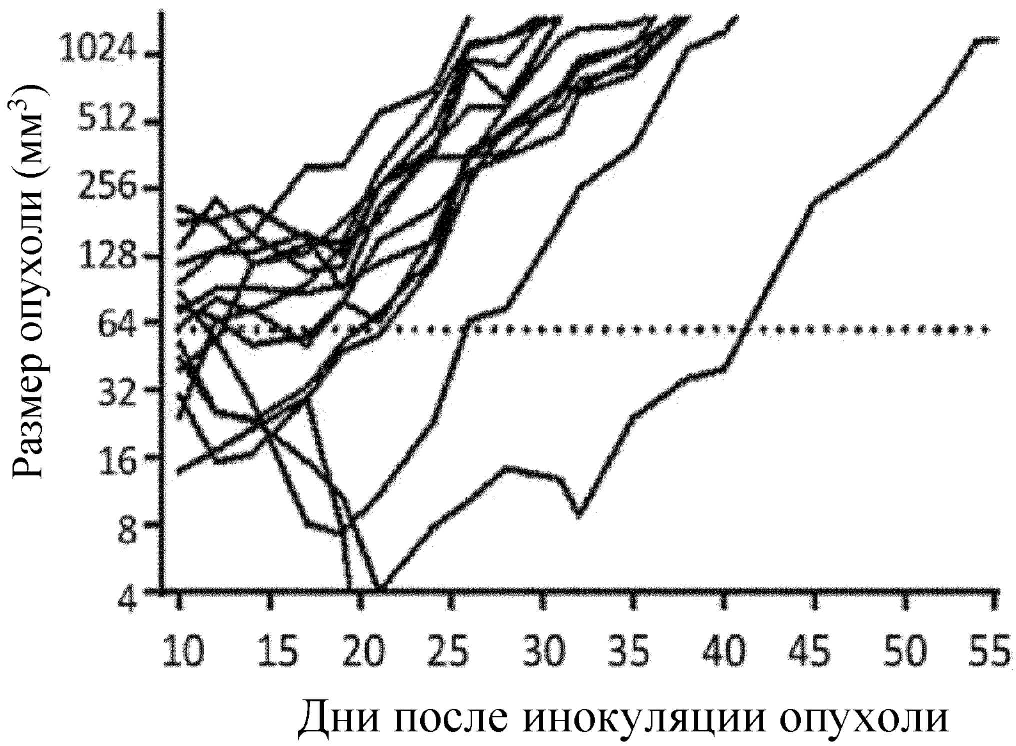
ФИГ. 20G

ФИГ. 21A

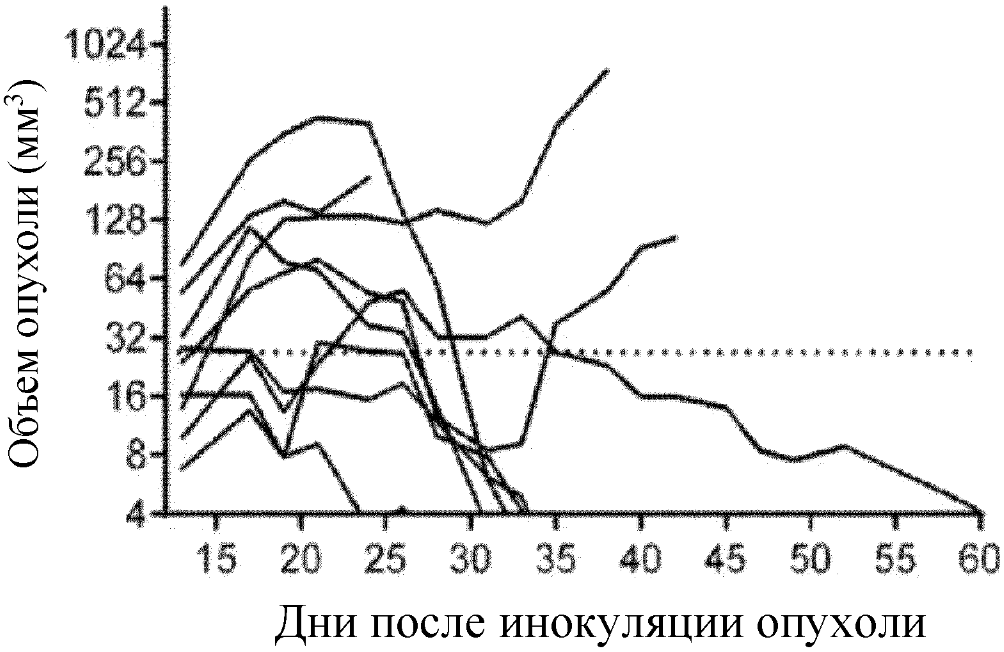
ФИГ. 21B



ФИГ. 21C

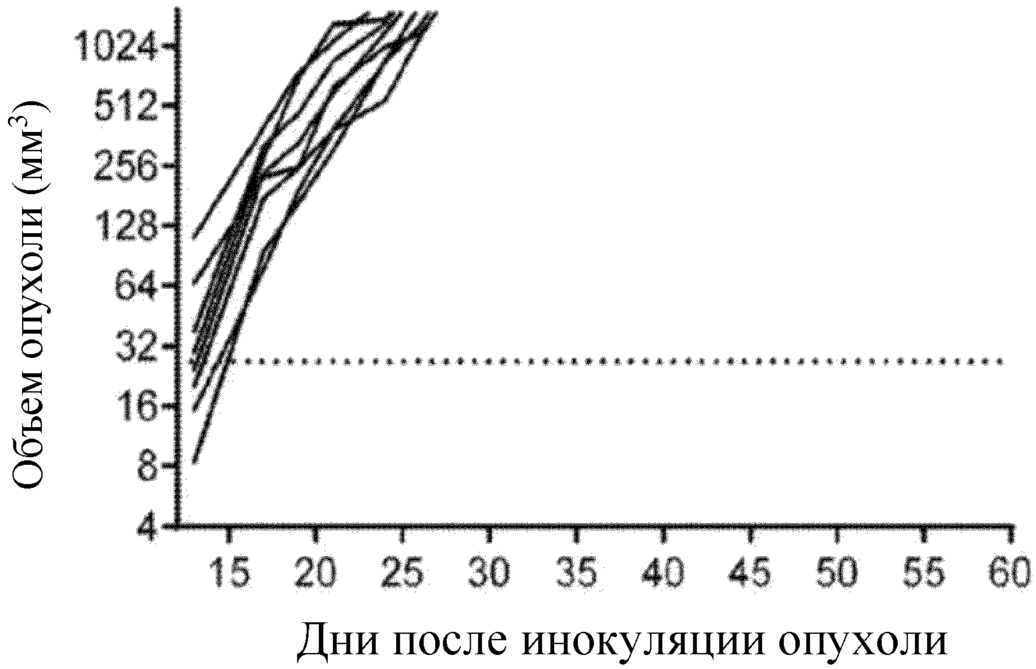


ФИГ. 21D

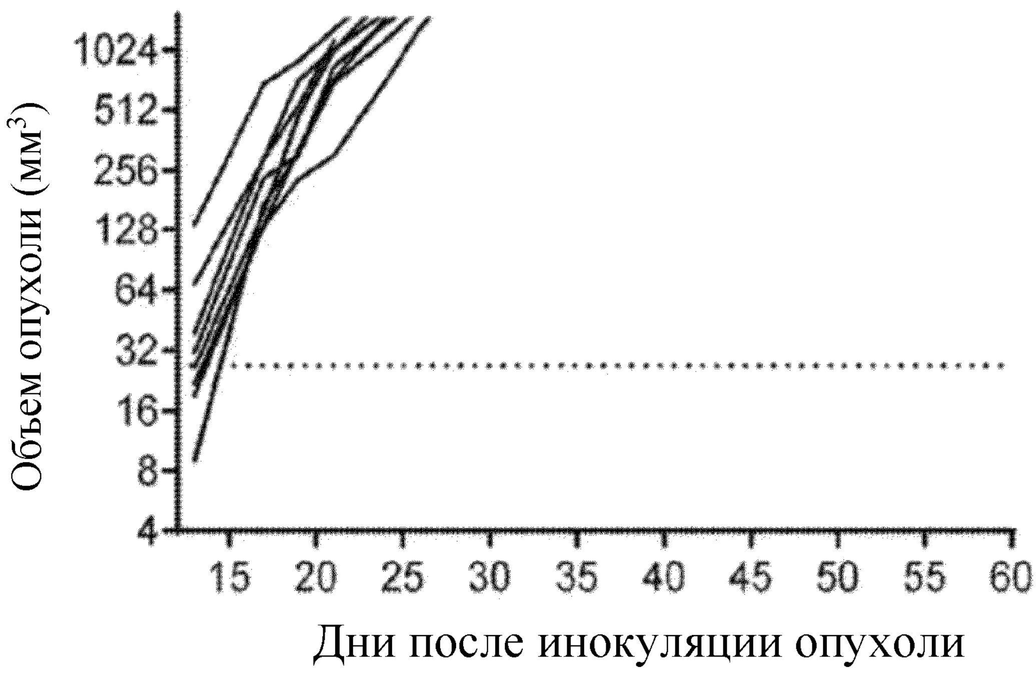


ФИГ. 21E

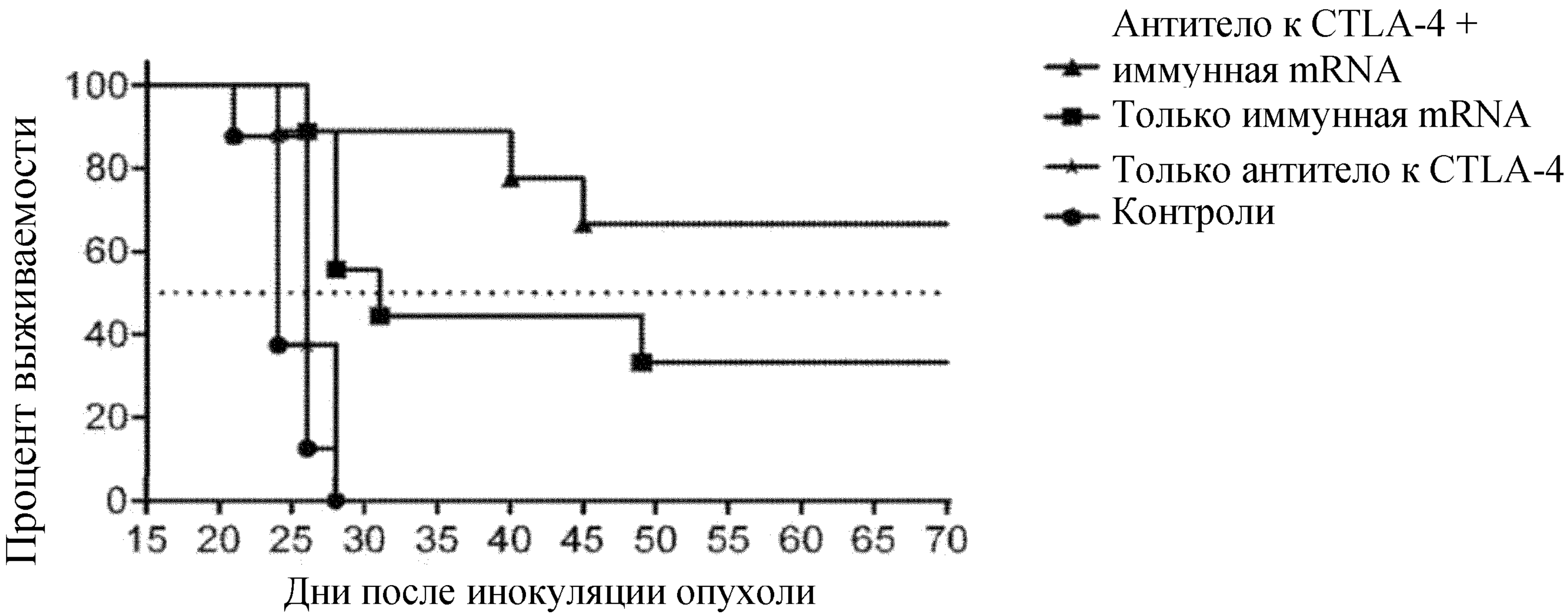
ФИГ. 21F



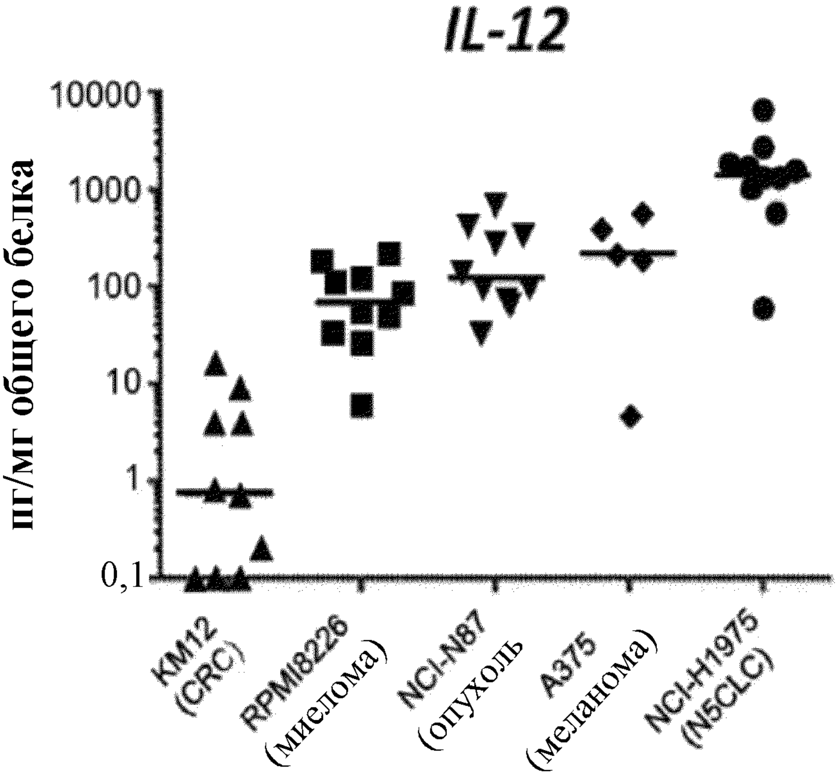
ФИГ. 21G



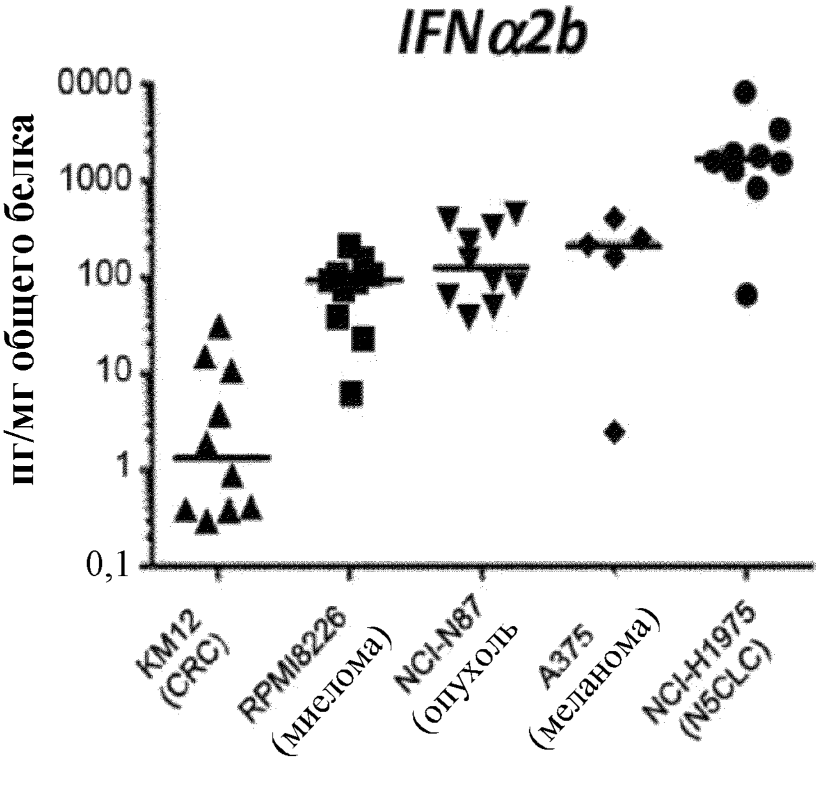
ФИГ. 21H


Антитело к CTLA-4 +
иммунная mRNA
Только иммунная mRNA
Только антитело к CTLA-4
Контроли
Процент выживаемости
100
80
60
40
20
0
15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70
Дни после инокуляции опухоли

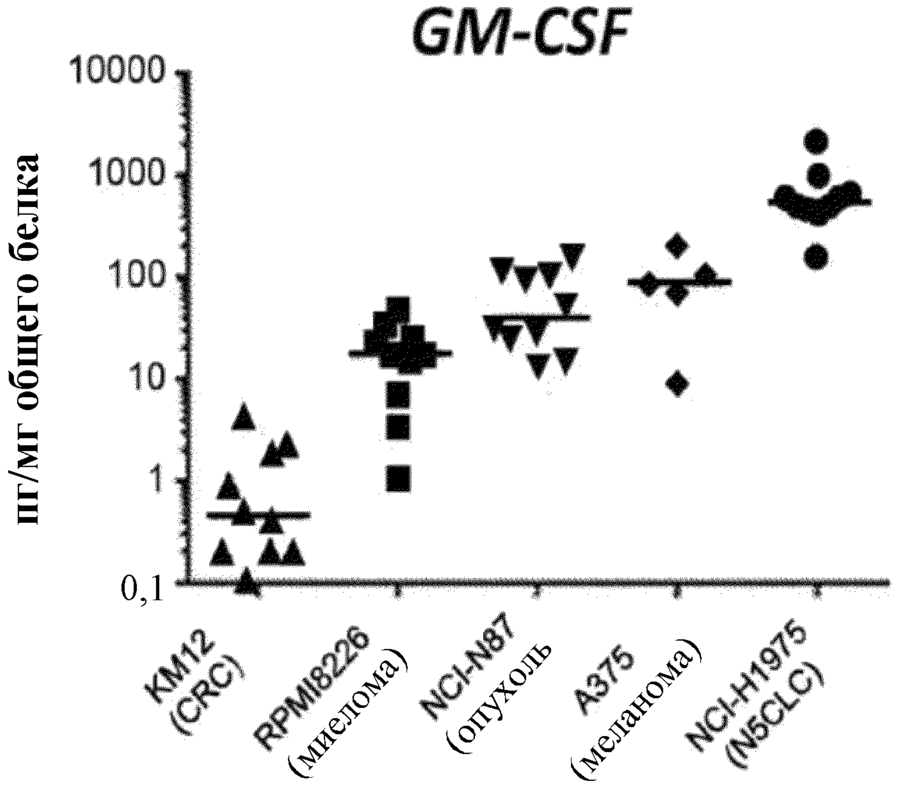
ФИГ. 21I



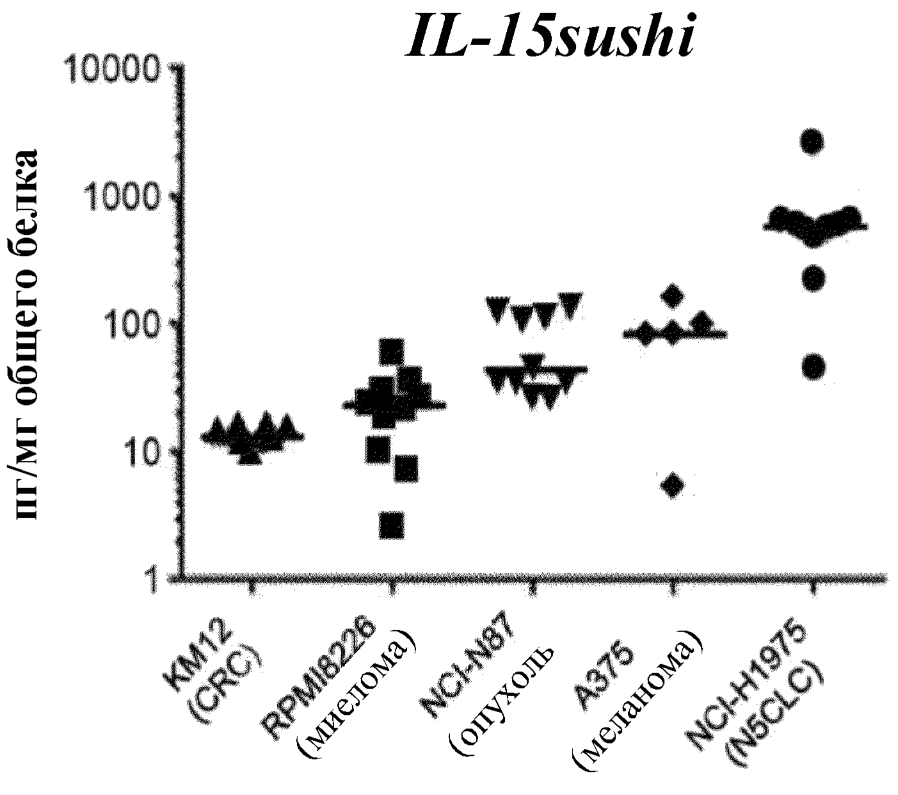
ФИГ. 22А



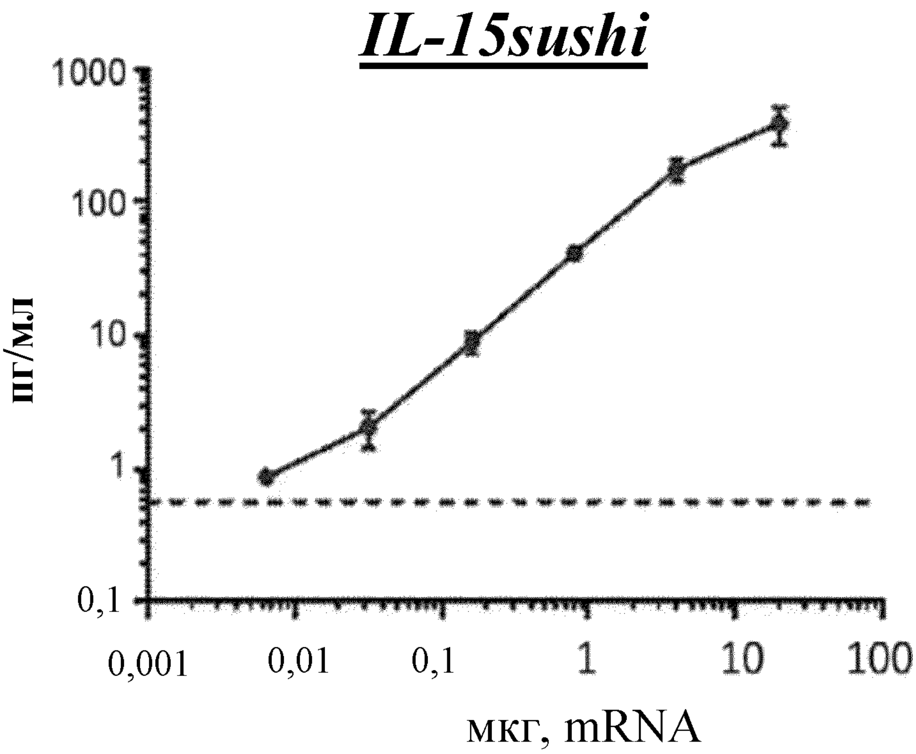
ФИГ. 22В



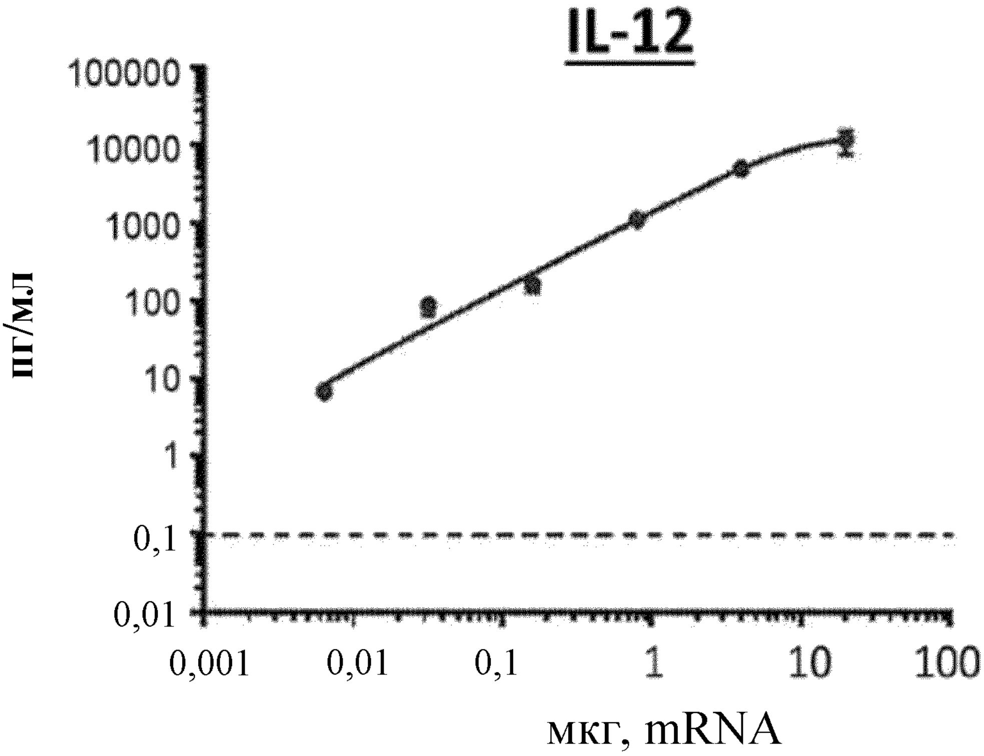
ФИГ. 22C



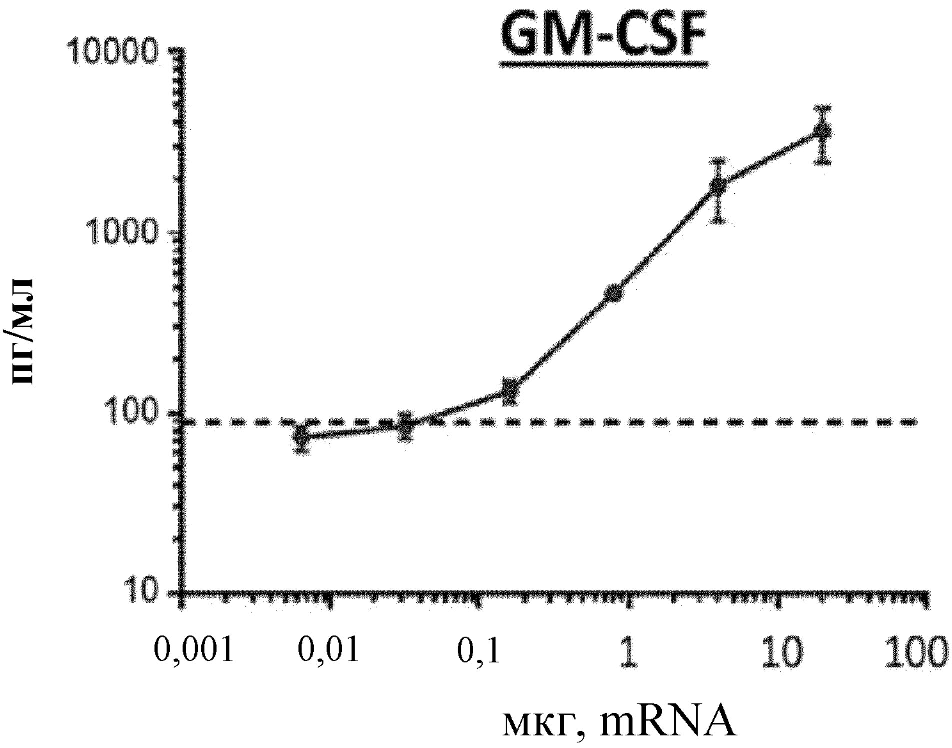
ФИГ. 22D



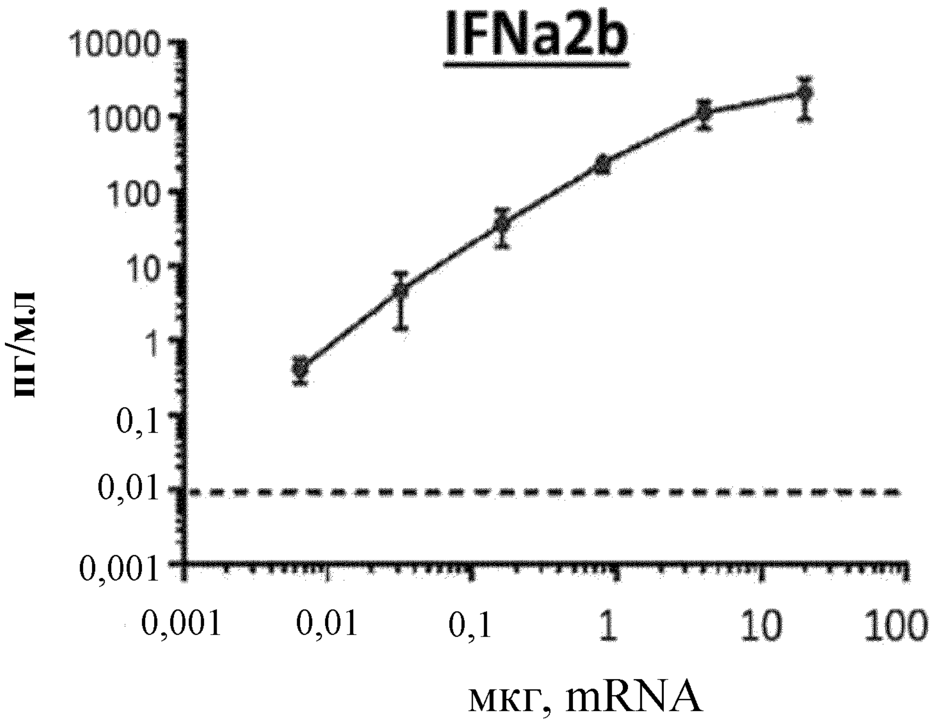
ФИГ. 23A



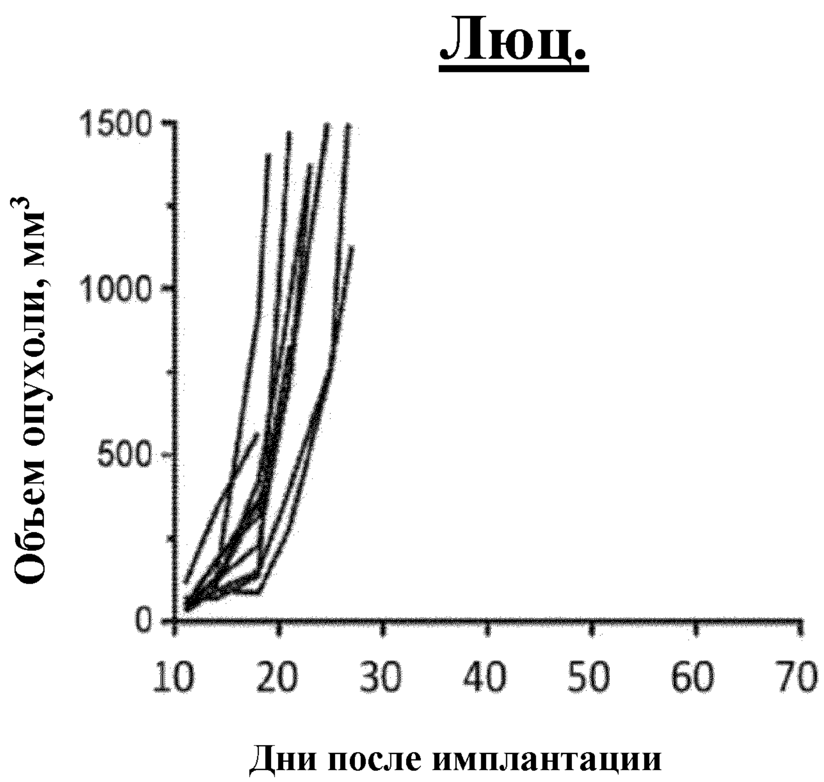
ФИГ. 23B



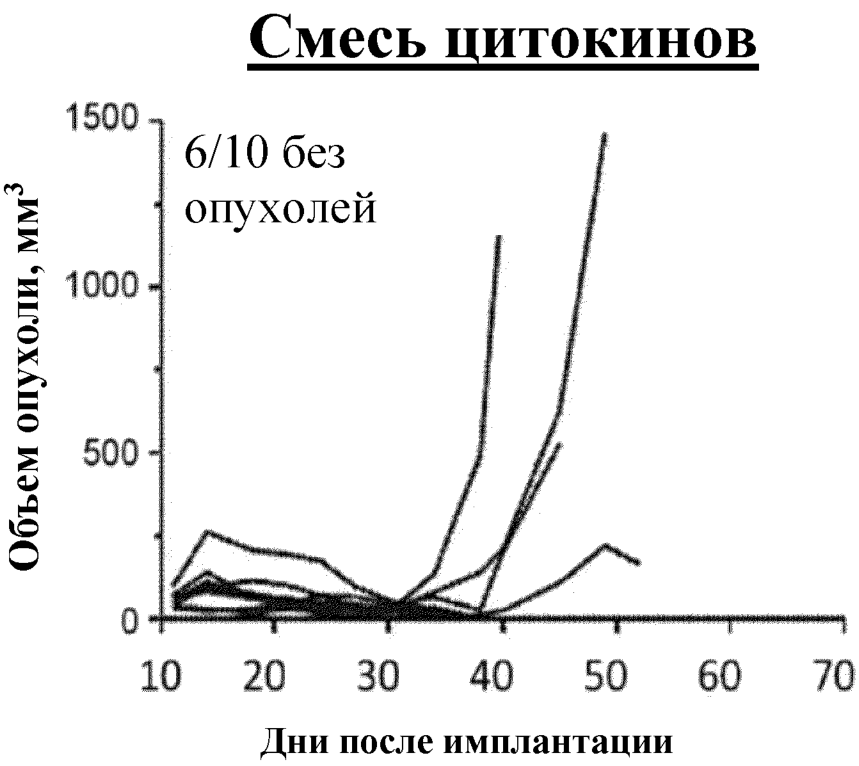
ФИГ. 23C



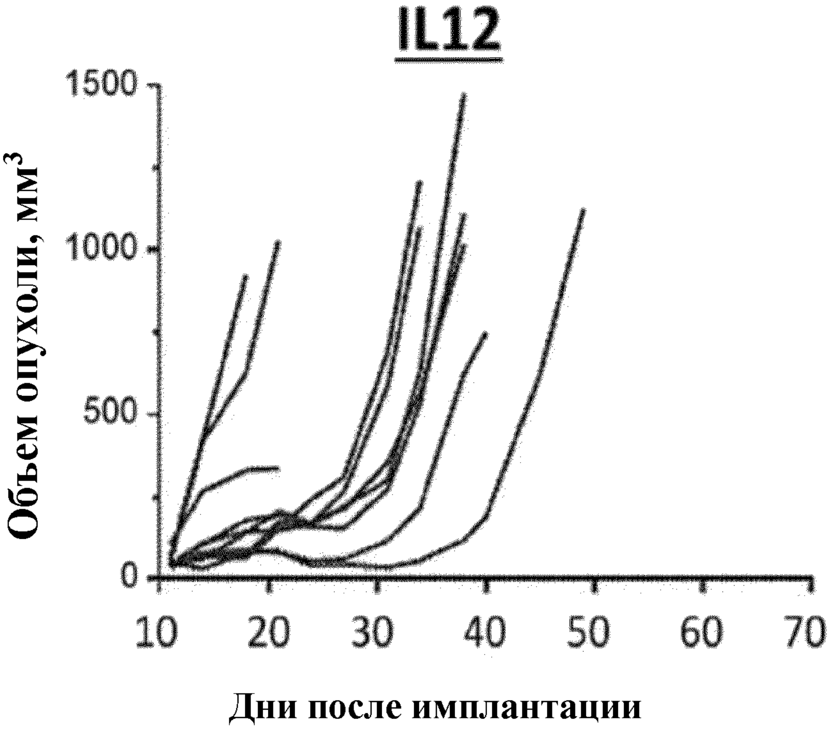
ФИГ. 23D



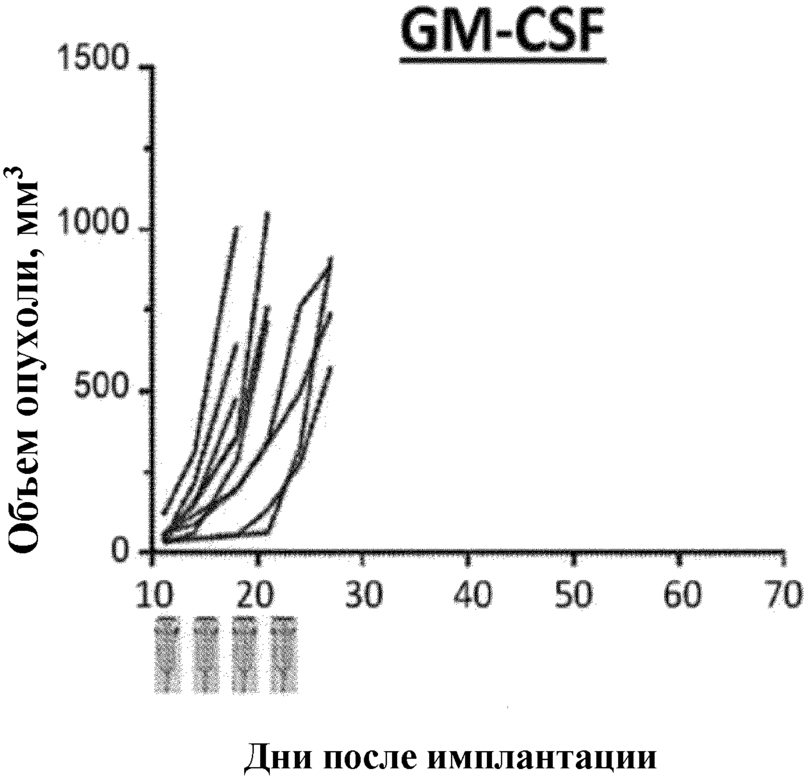
ФИГ. 24А



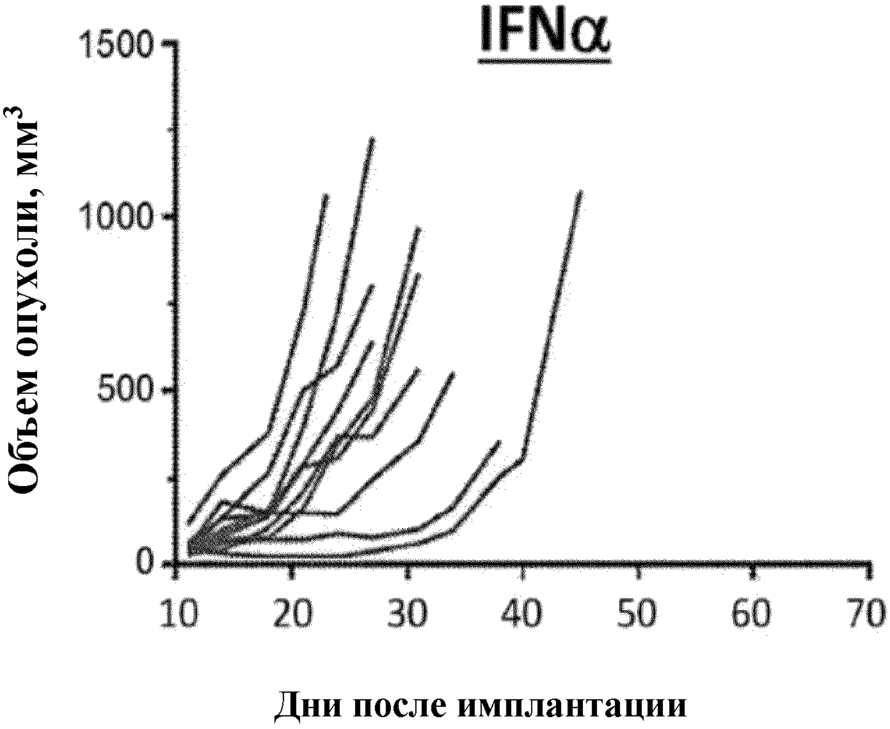
ФИГ. 24В



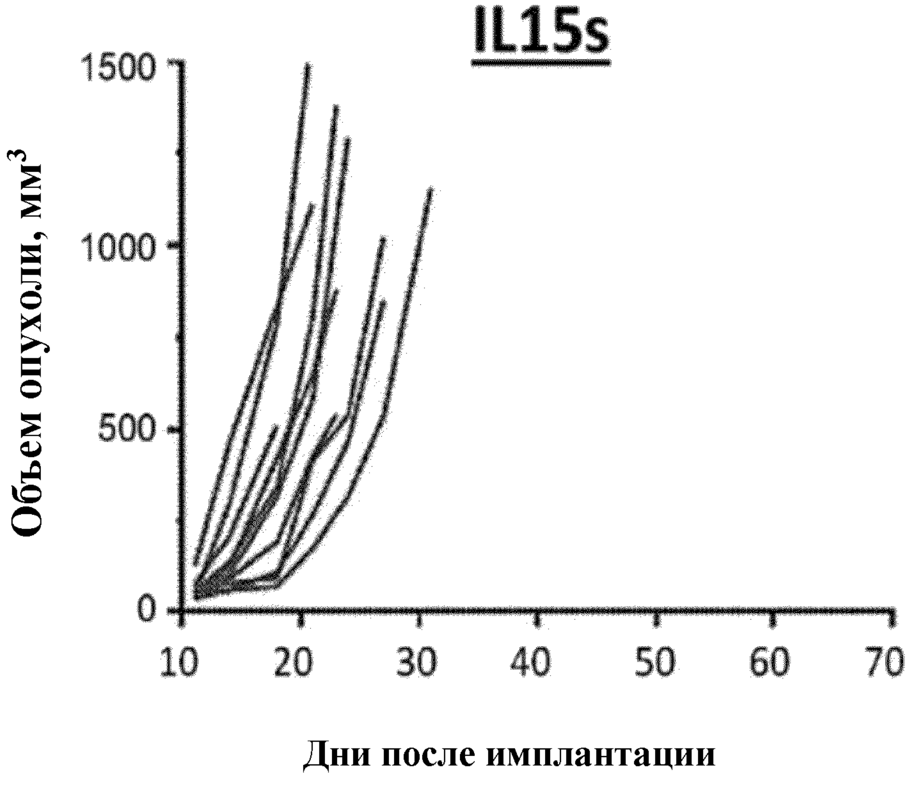
ФИГ. 24C



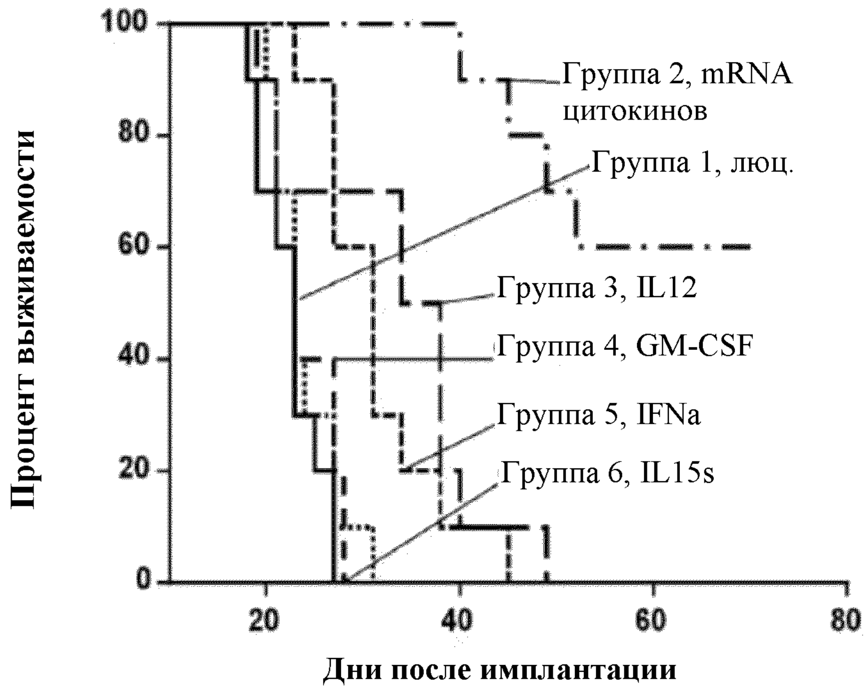
ФИГ. 24D



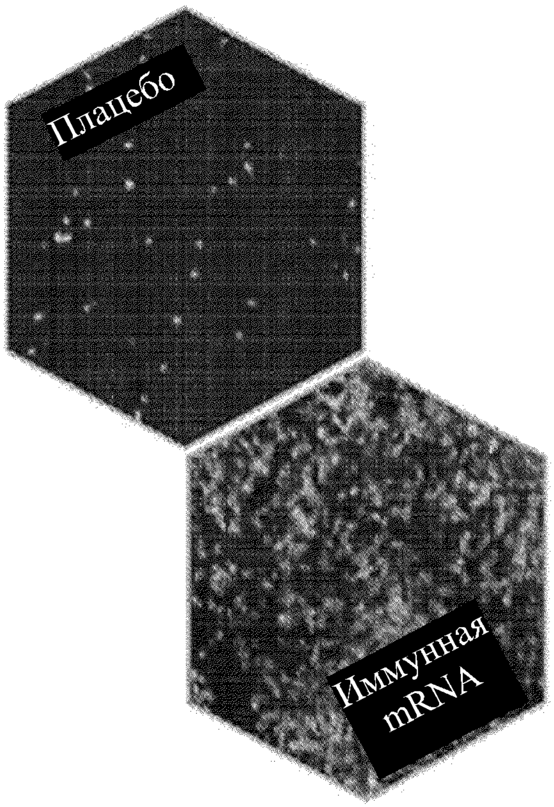
ФИГ. 24E



ФИГ. 24F



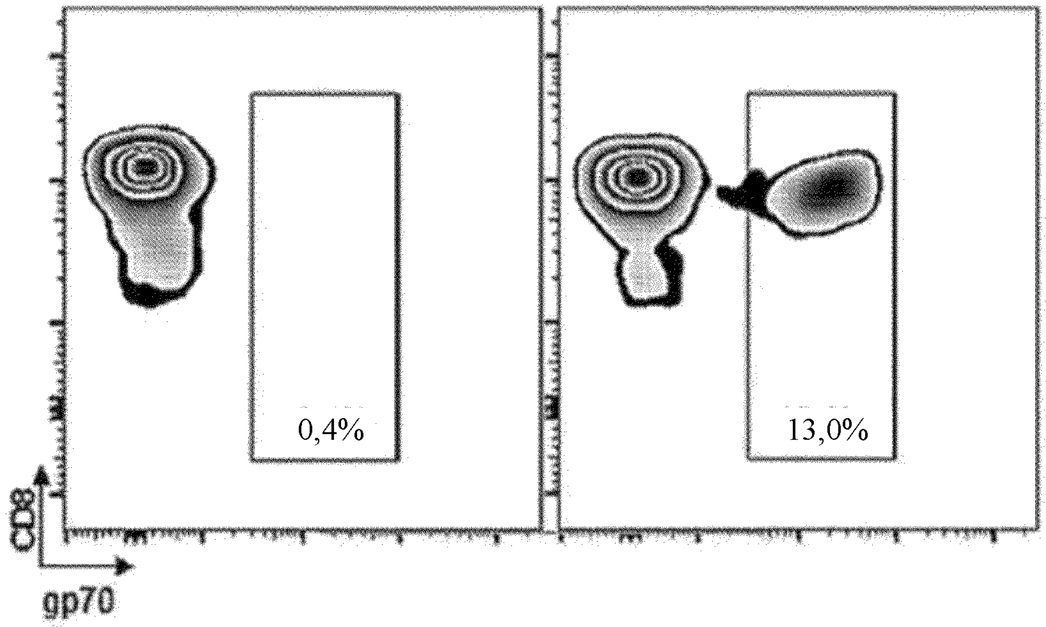
ФИГ. 24G



ФИГ. 25

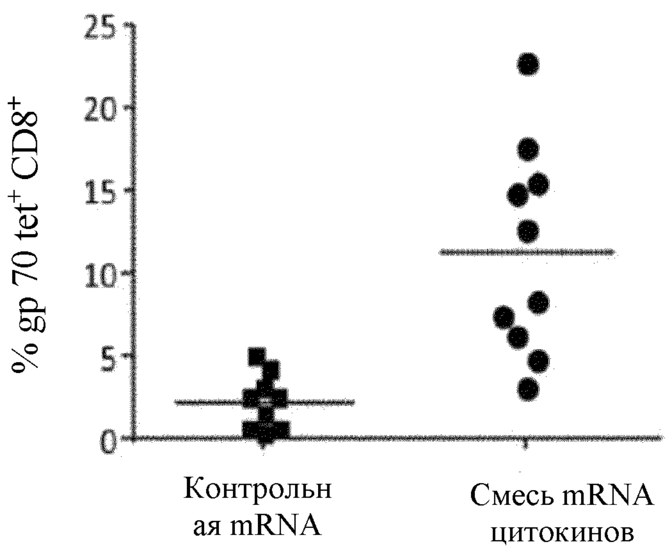
Контроль

mRNA цитокинов
(IL15sushi, GM-CSF, IL-12, IFNα)

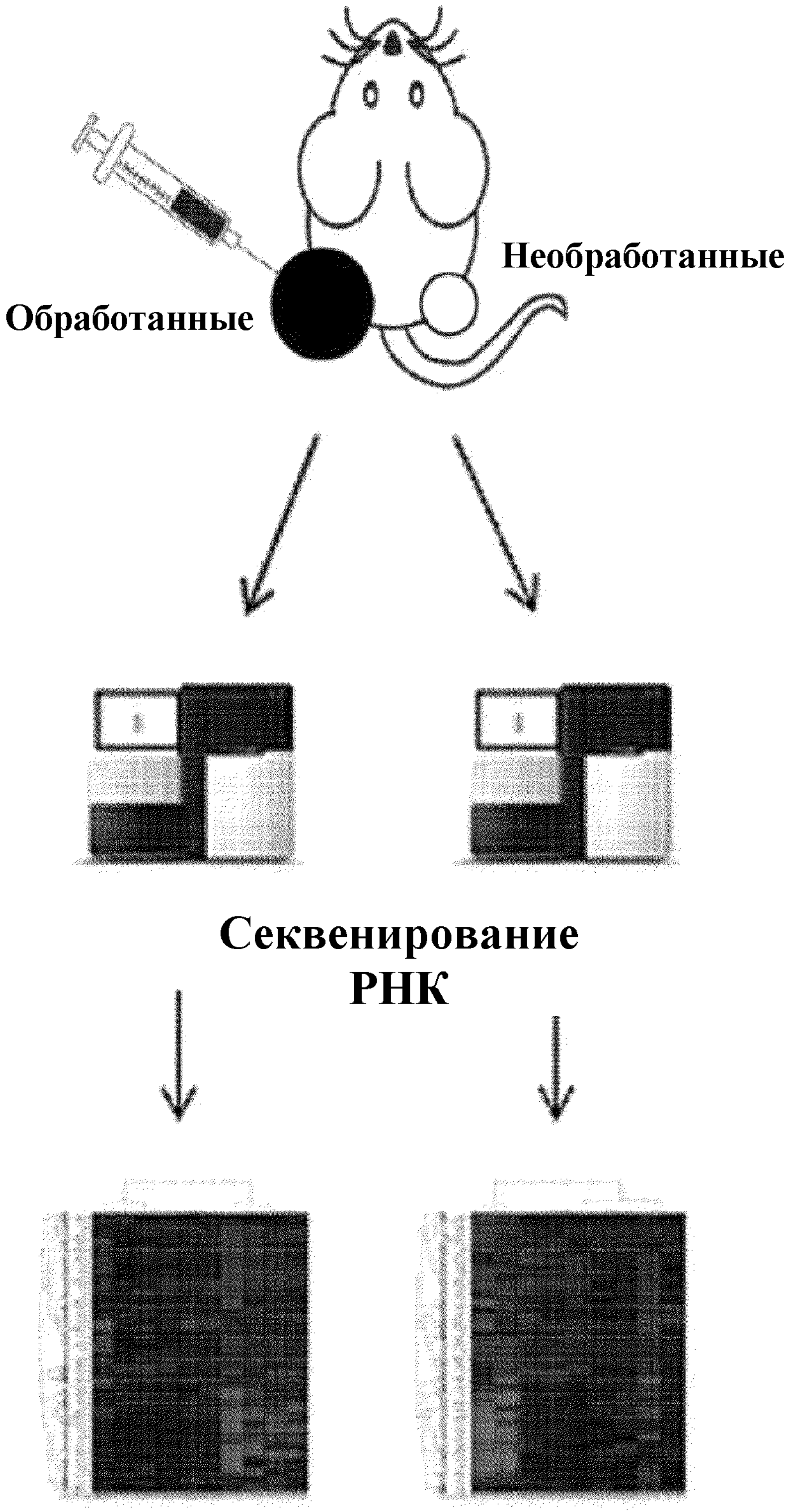


ФИГ. 26A ***ФИГ. 26B***

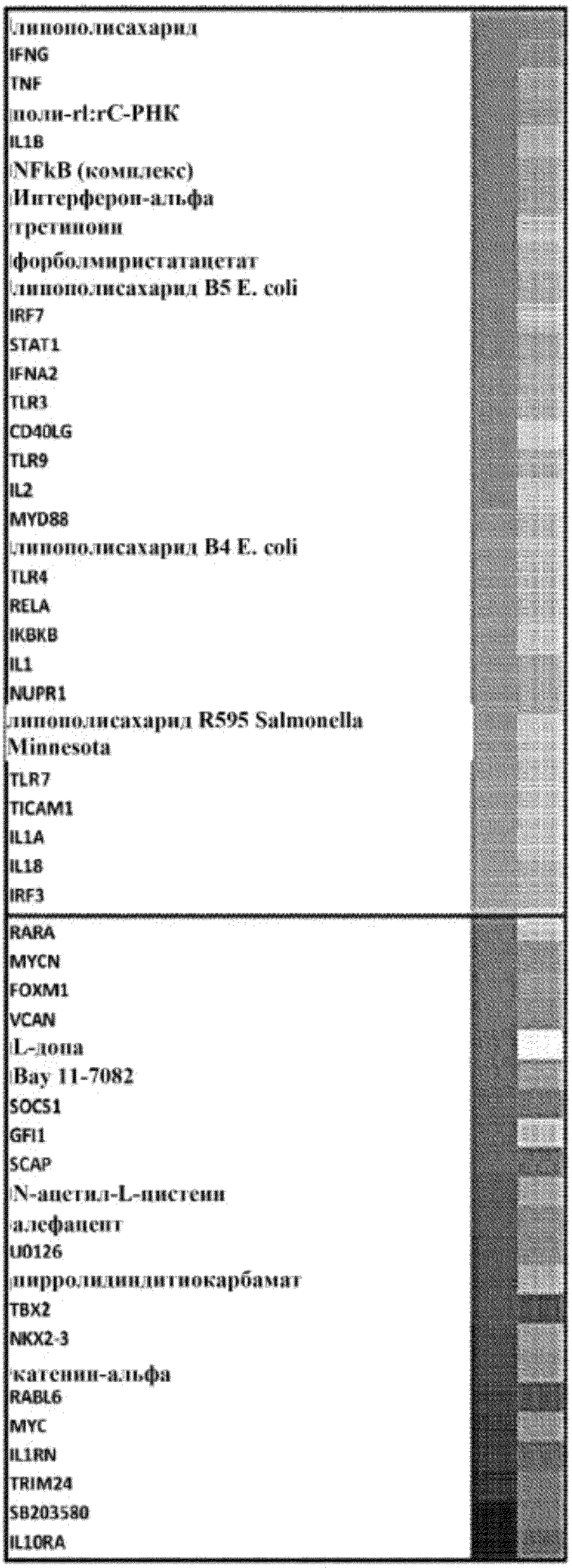
Повышенная антиген-
специфичность Т-клеток в



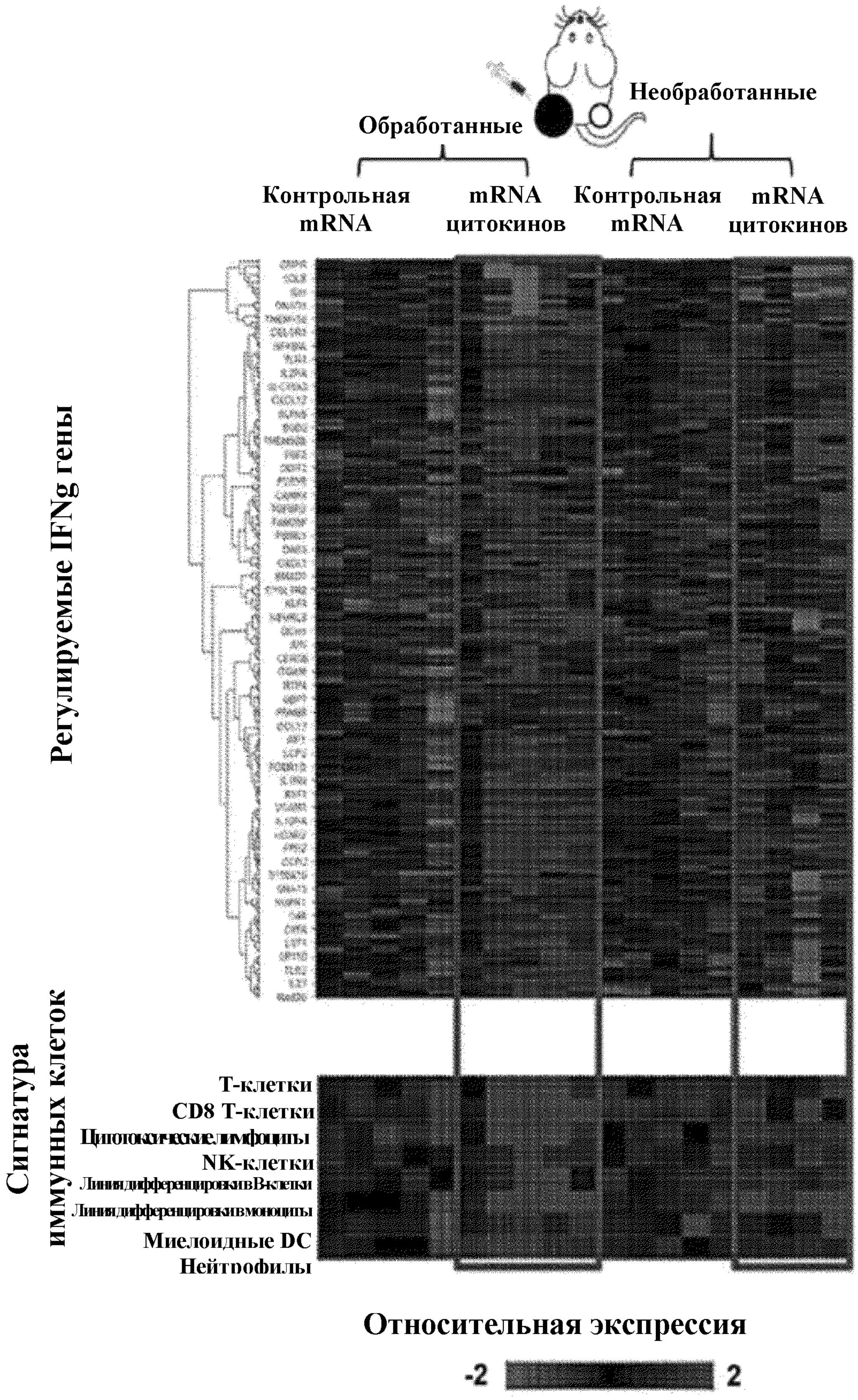
ФИГ. 26C


Необработанные
Обработанные
Секвенирование РНК
Сигнатуры генов

ФИГ. 27А

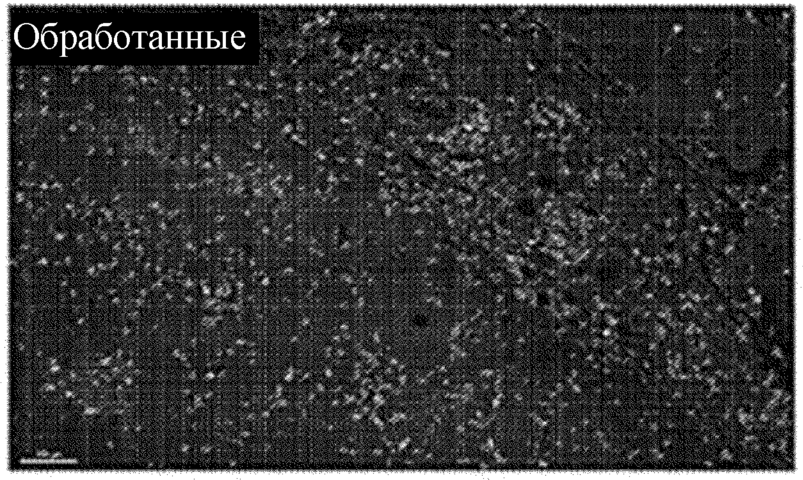

липополисахарид
IFNG
TNF
поли-rI:rC-РНК
IL1B
NFkB (комплекс)
Интерферон-альфа
третиноин
форболмиристатацетат
липополисахарид B5 E. coli
IRF7
STAT1
IFNA2
TLR3
CD40LG
TLR9
IL2
MYD88
липополисахарид B4 E. coli
TLR4
RELA
IKBKB
IL1
NUPR1
липополисахарид R595 Salmonella Minnesota
TLR7
TICAM1
IL1A
IL18
IRF3
RARA
MYCN
FOXM1
VCAN
L-допа
Bay 11-7082
SOCS1
GFI1
SCAP
N-ацетил-L-цистеин
алефацепт
U0126
пирролидиндитиокарбамат
TBX2
NKX2-3
катенин-альфа
RABL6
MYC
IL1RN
TRIM24
SB203580
IL10RA

ФИГ. 27B

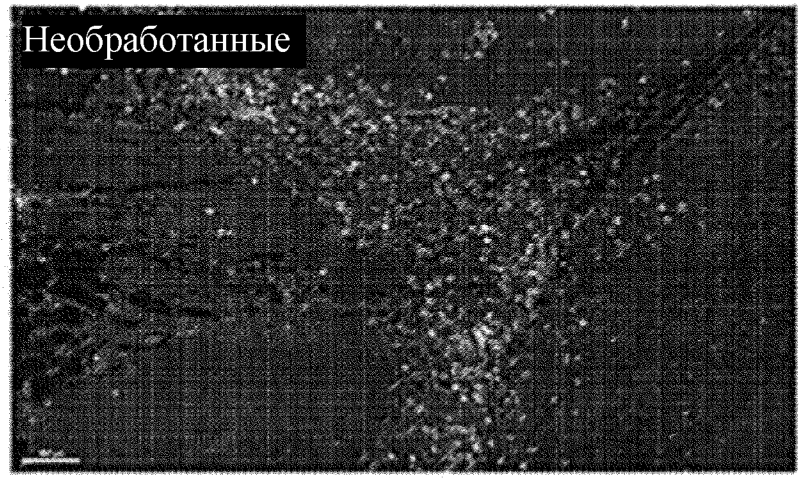

Необработанные
Обработанные
Контрольная mRNA
mRNA цитокинов
Контрольная mRNA
mRNA цитокинов
Регулируемые IFNg гены
Сигнатура иммунных клеток
Т-клетки
CD8 Т-клетки
NK-клетки
Миелоидные DC
Нейтрофилы
Относительная экспрессия
-2
2

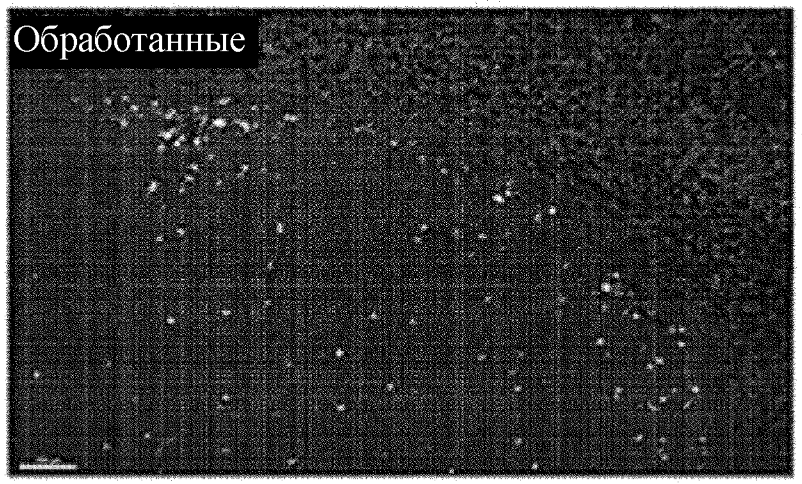
ФИГ. 27C

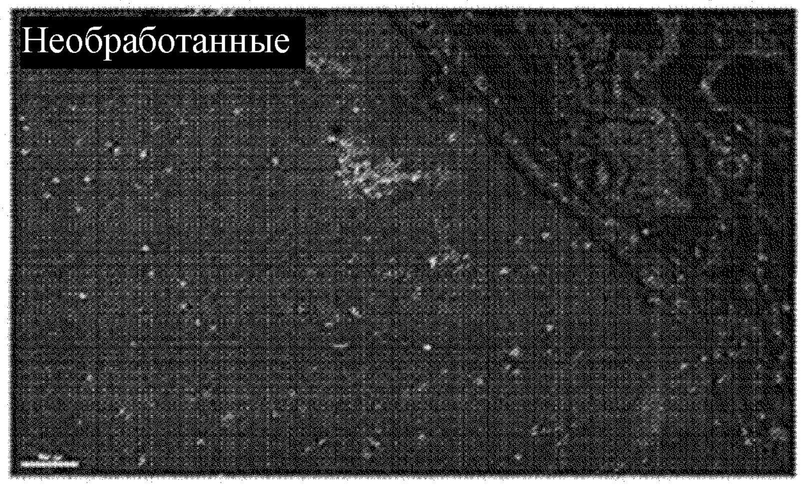
ФИГ. 28A



ФИГ. 28B



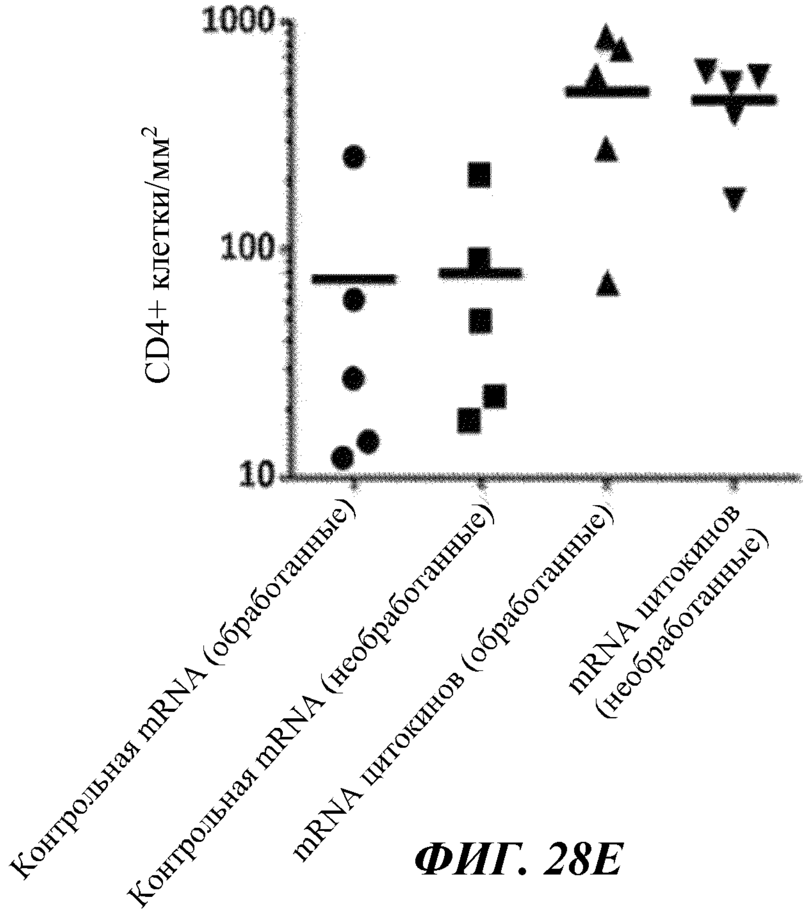




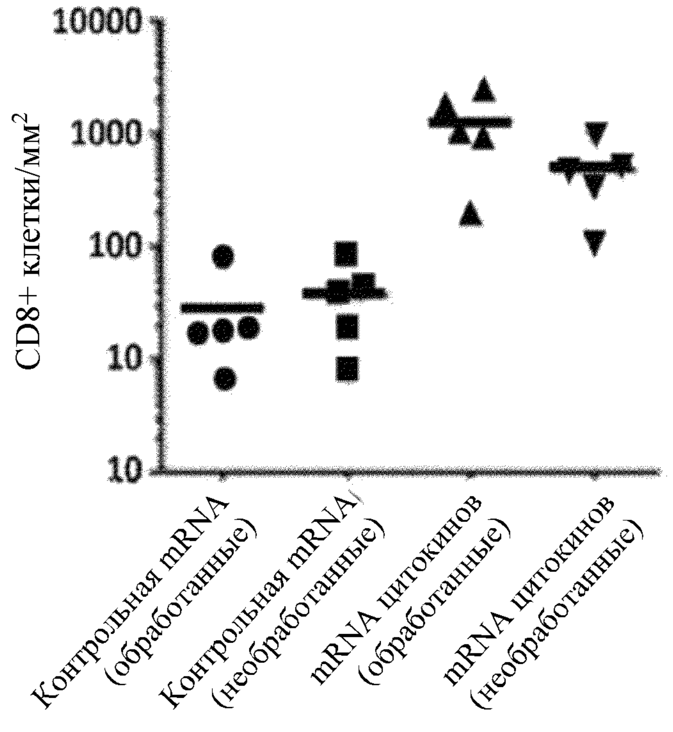
CD4+ CD8+ FOXP3 Ядра

ФИГ. 28C

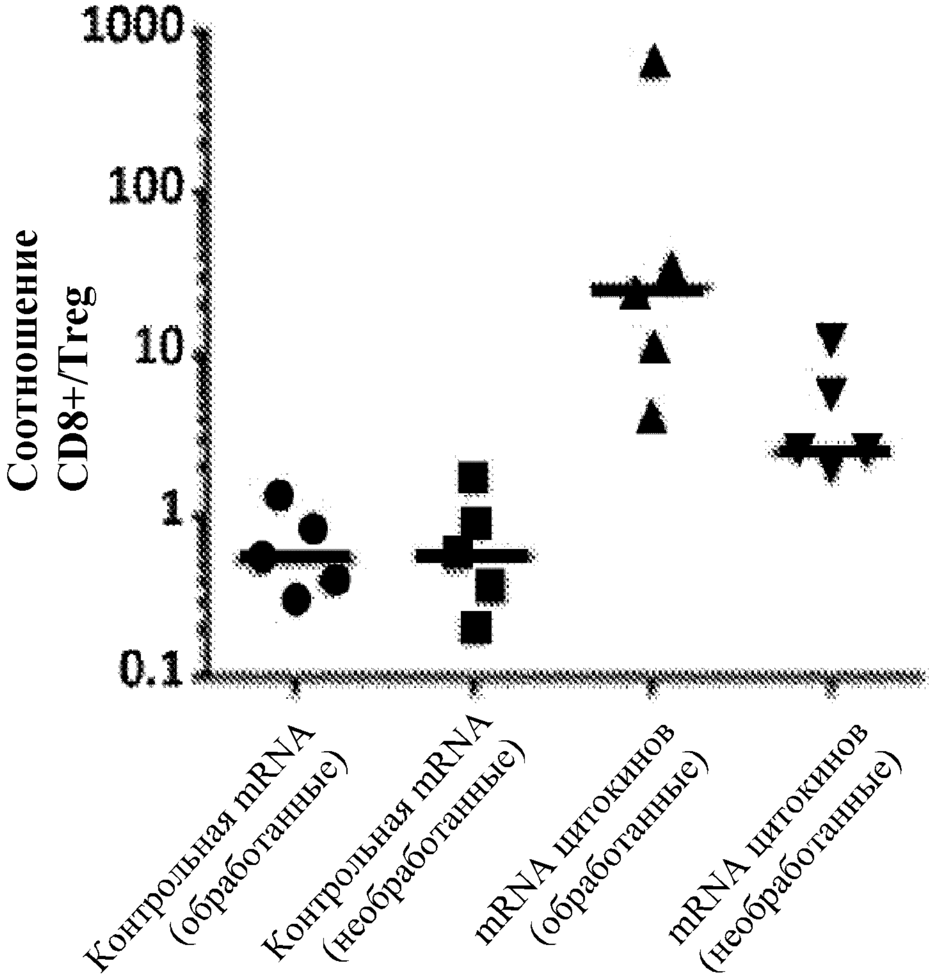
ФИГ. 28D



ФИГ. 28E

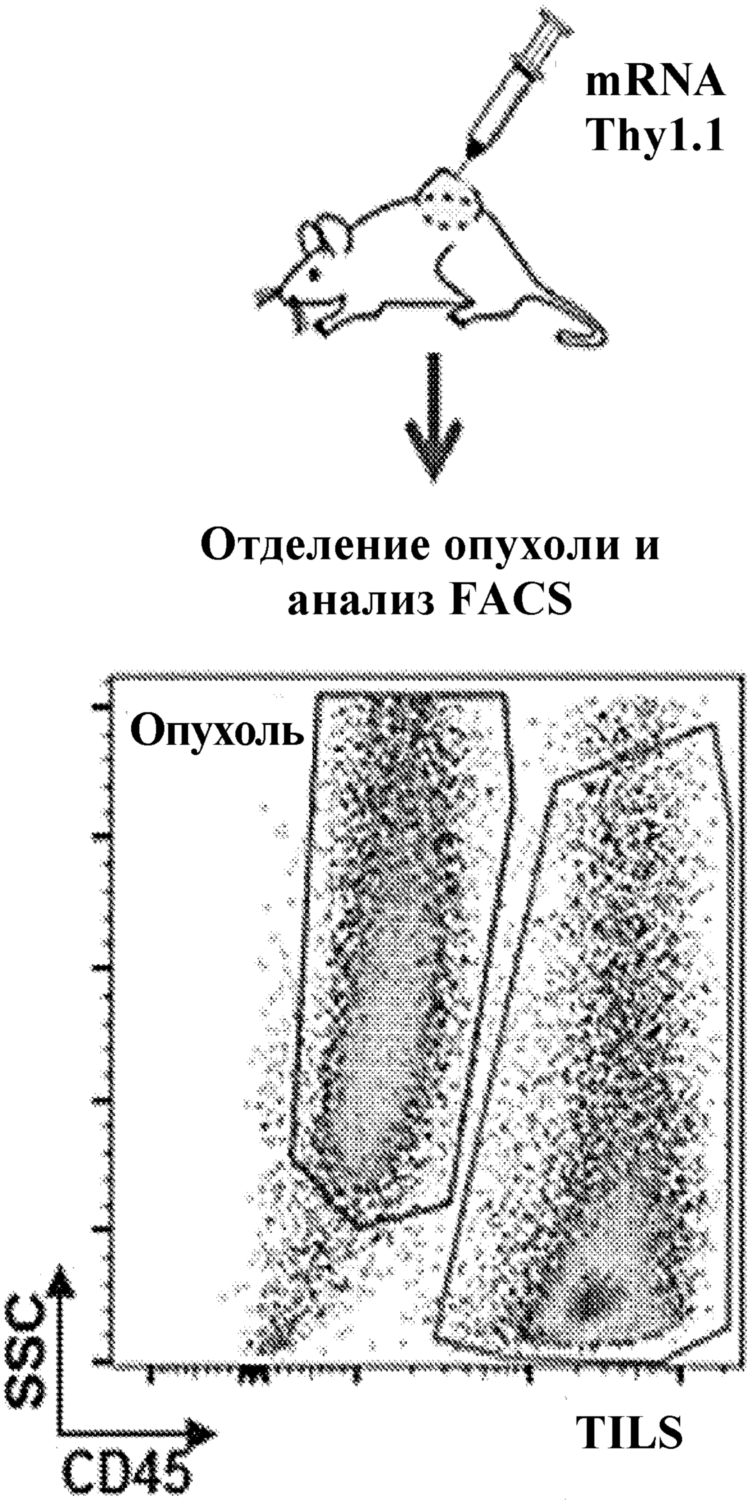


ФИГ. 28F


1000
100
10
1
0.1
Соотношение
CD8+/Treg
Контрольная mRNA
(обработанные)
Контрольная mRNA
(необработанные)
mRNA цитокинов
(обработанные)
mRNA цитокинов
(необработанные)

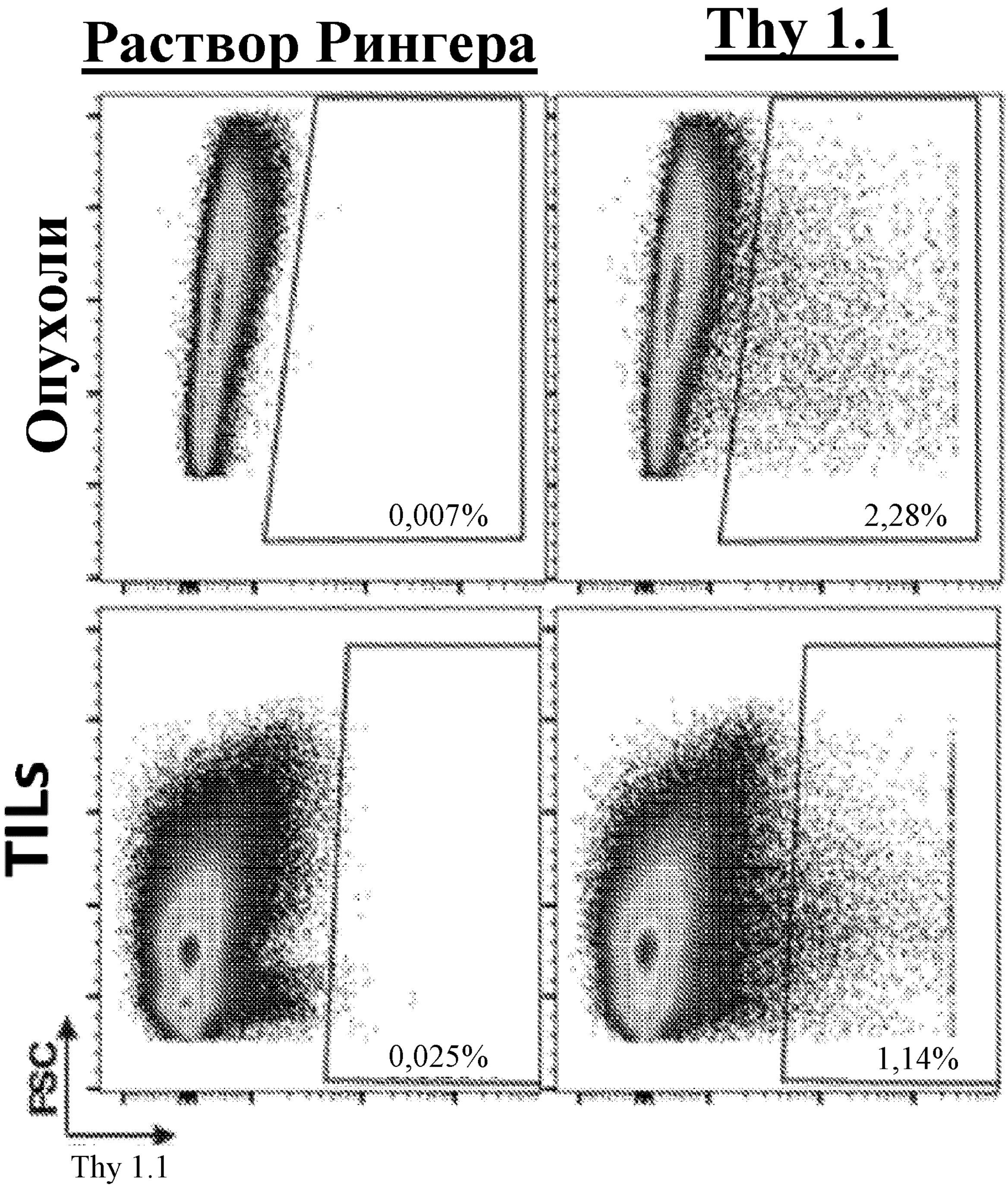
ФИГ. 28G

<u>Схема исследования</u>
(опухоль B16F10)

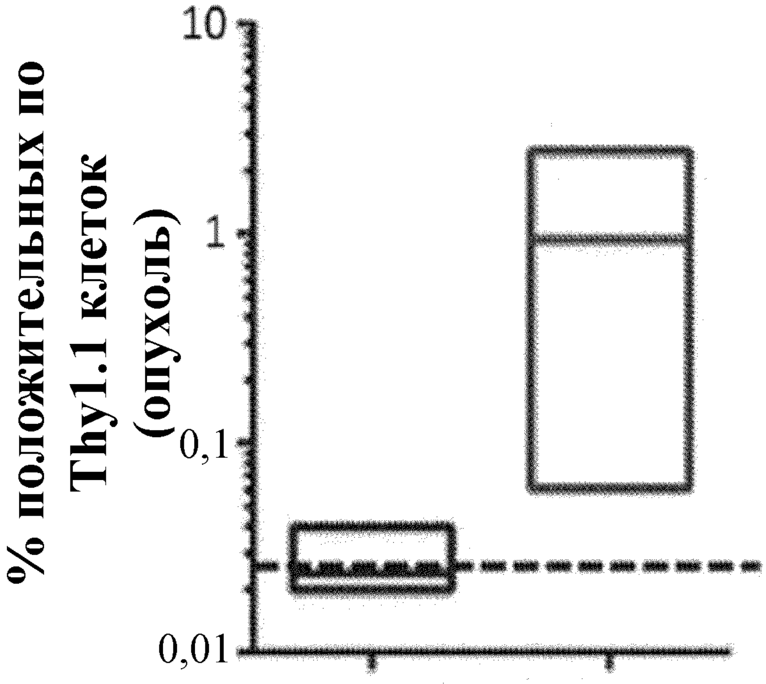


ФИГ. 29А

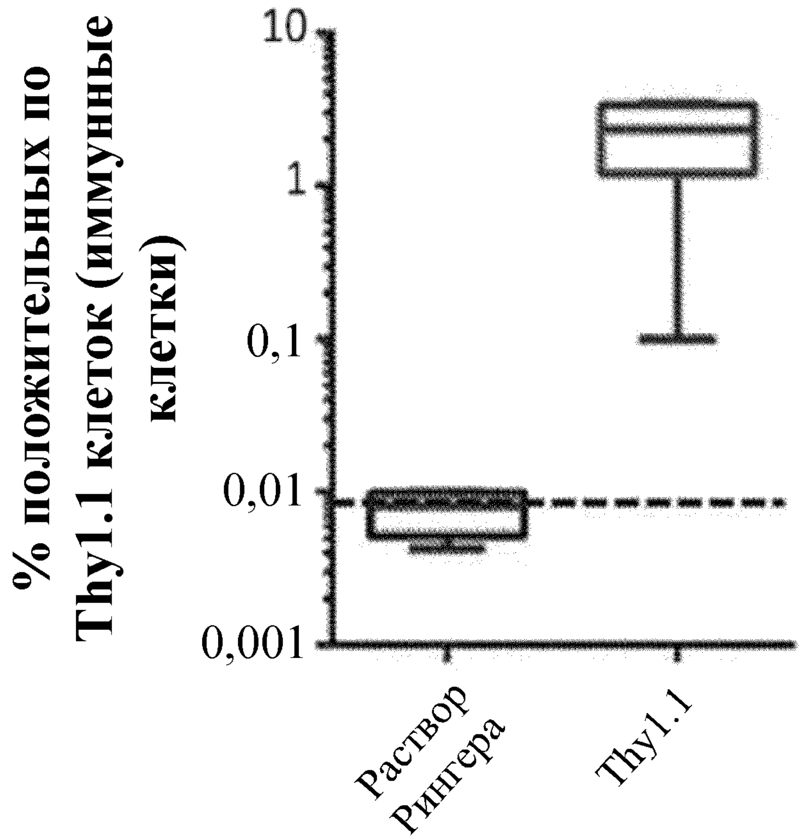
ФИГ. 29B ФИГ. 29C



ФИГ. 29D ФИГ. 29E

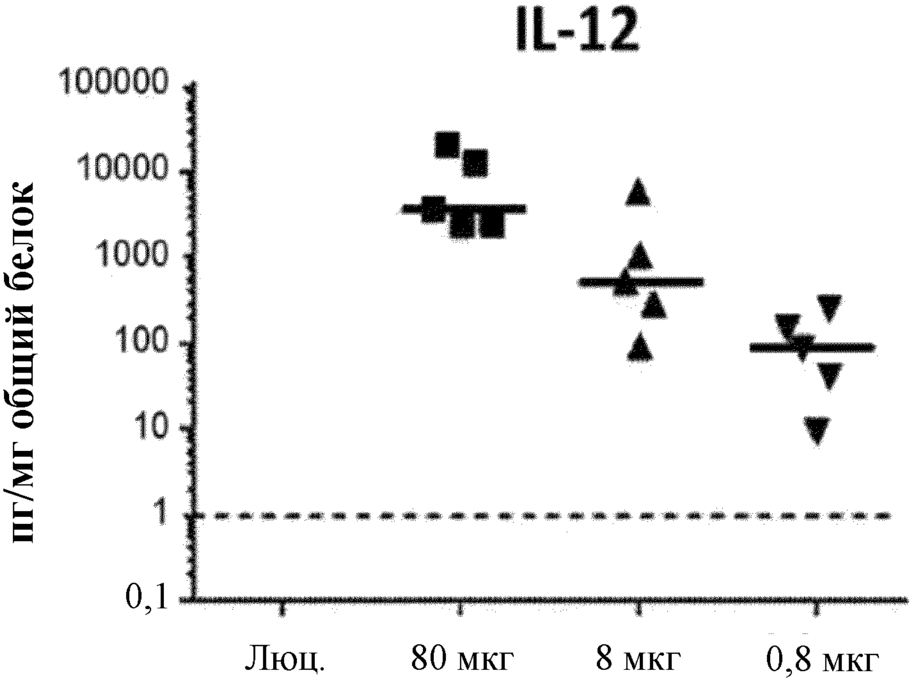


ФИГ. 29F

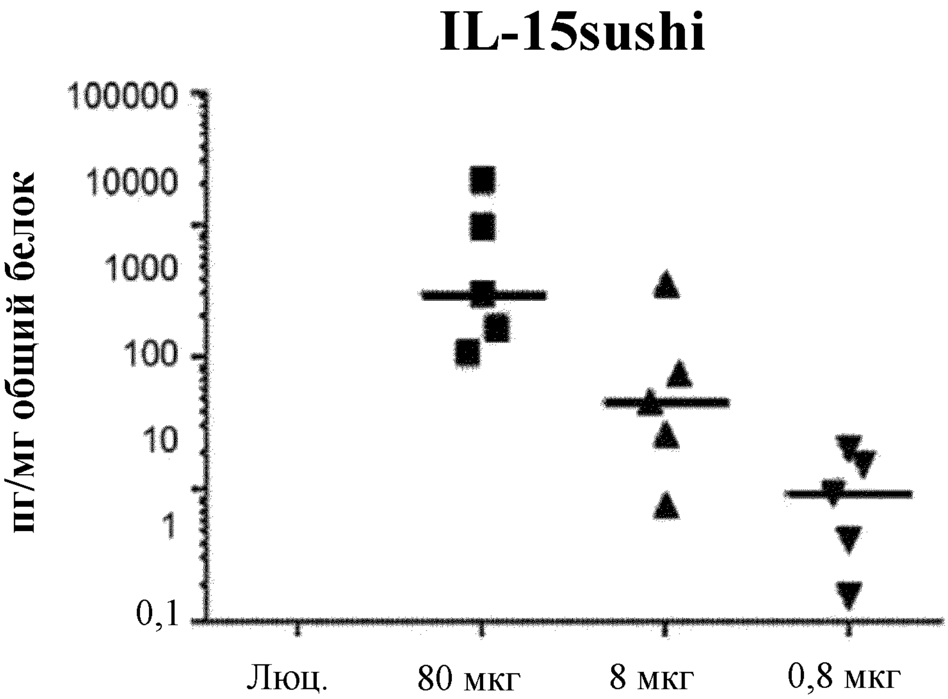


ФИГ. 29G

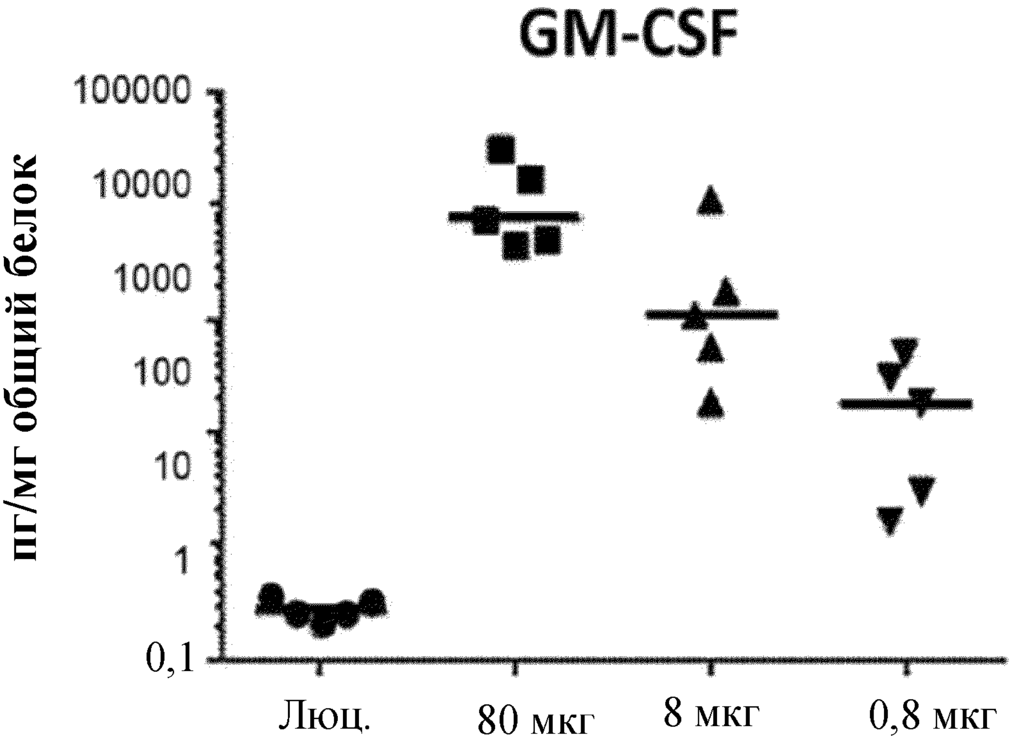
Опухоль, экпрессия



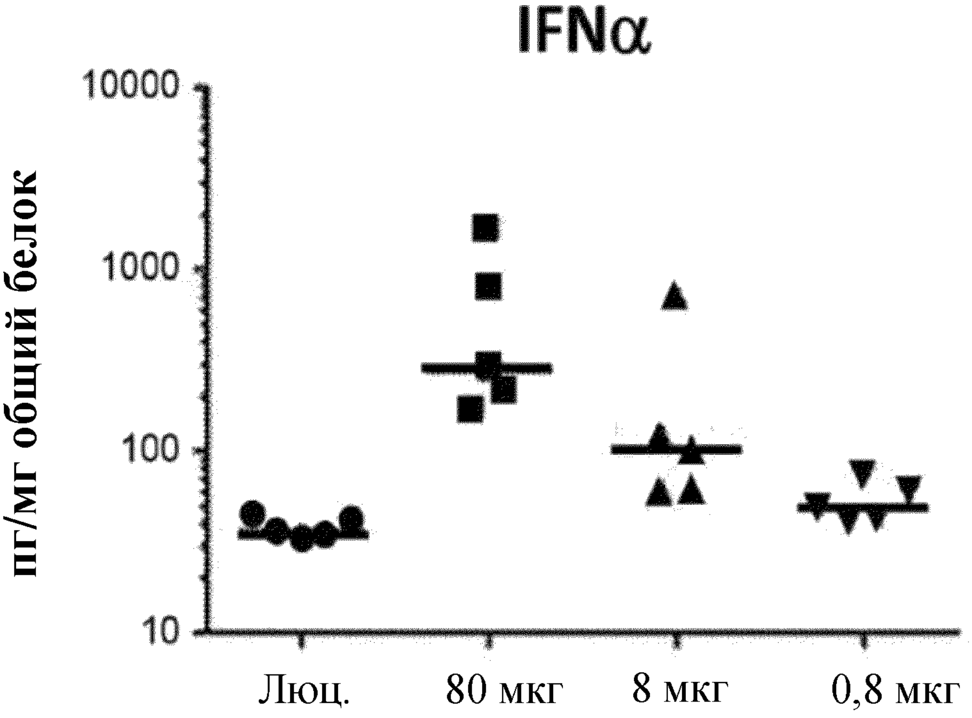
ФИГ. 30A



ФИГ. 30B

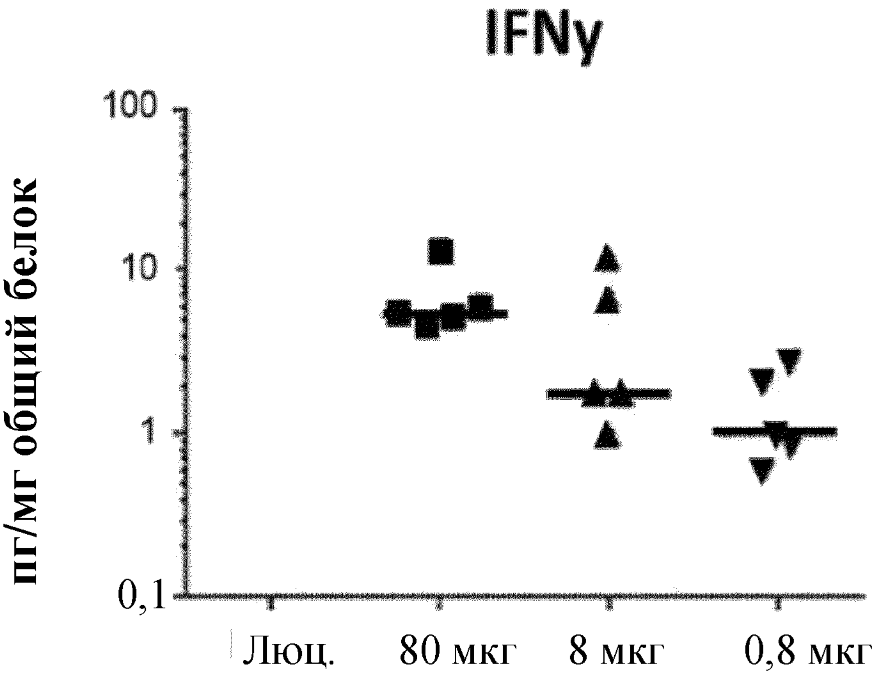


ФИГ. 30C

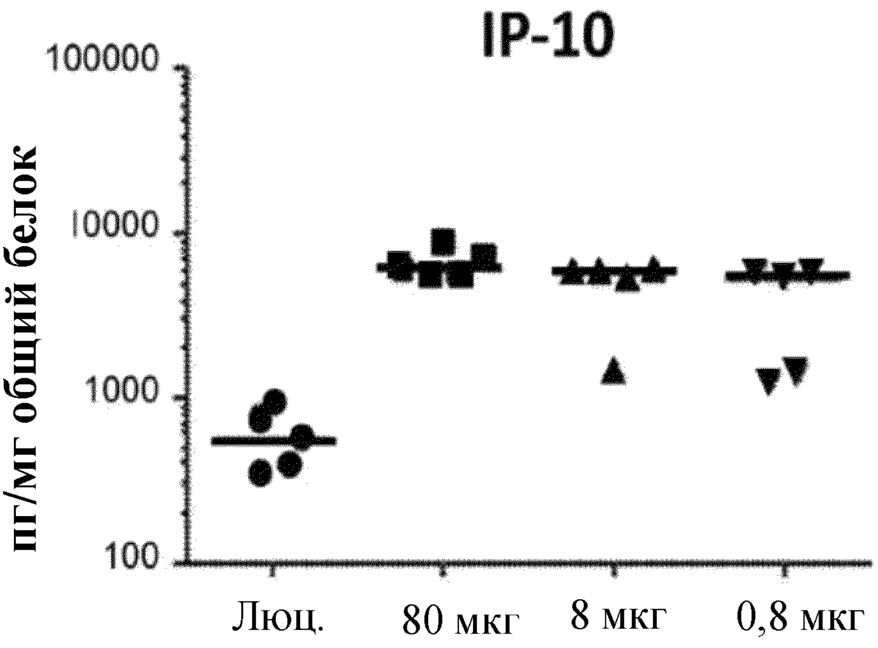


ФИГ. 30D

Опухоль, PD-ответ



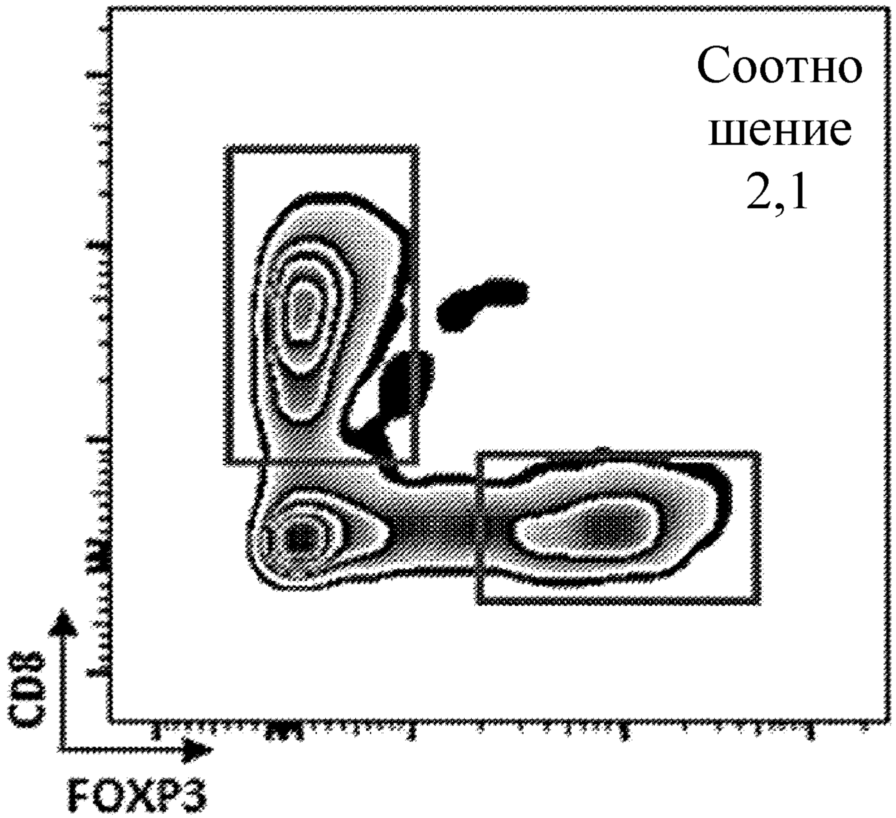
ФИГ. 30E



ФИГ. 30F

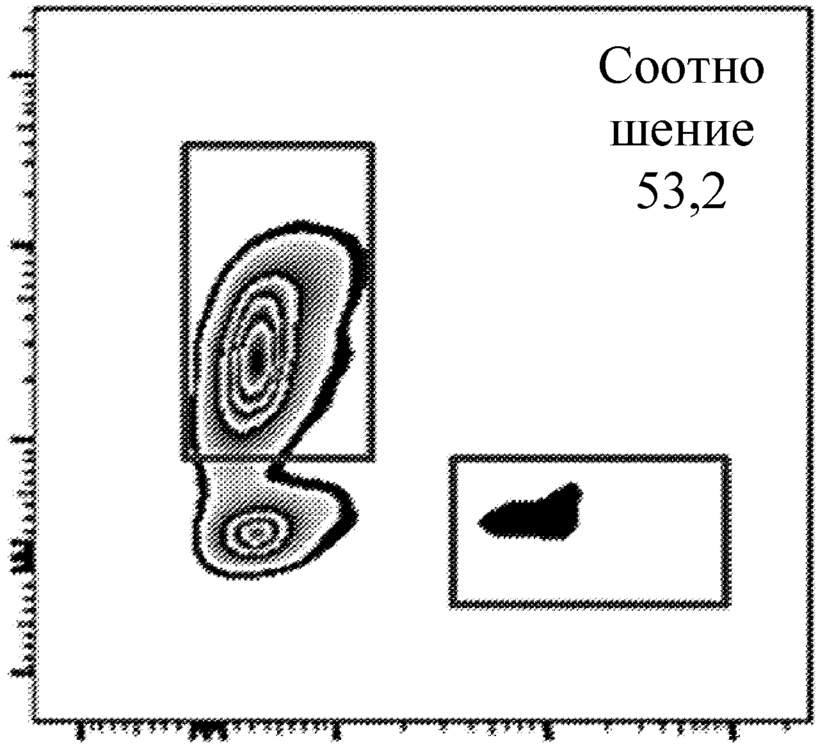
↑Соотношение CD8+/Treg

Контрольная mRNA



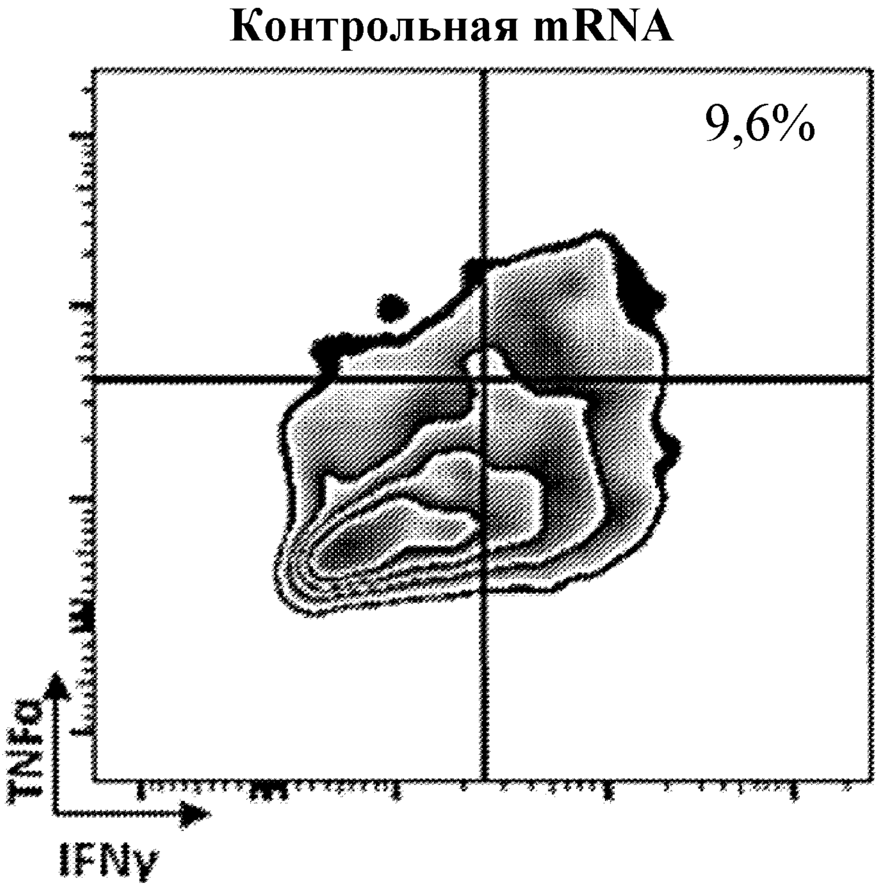
ФИГ. 31A

mRNA цитокинов

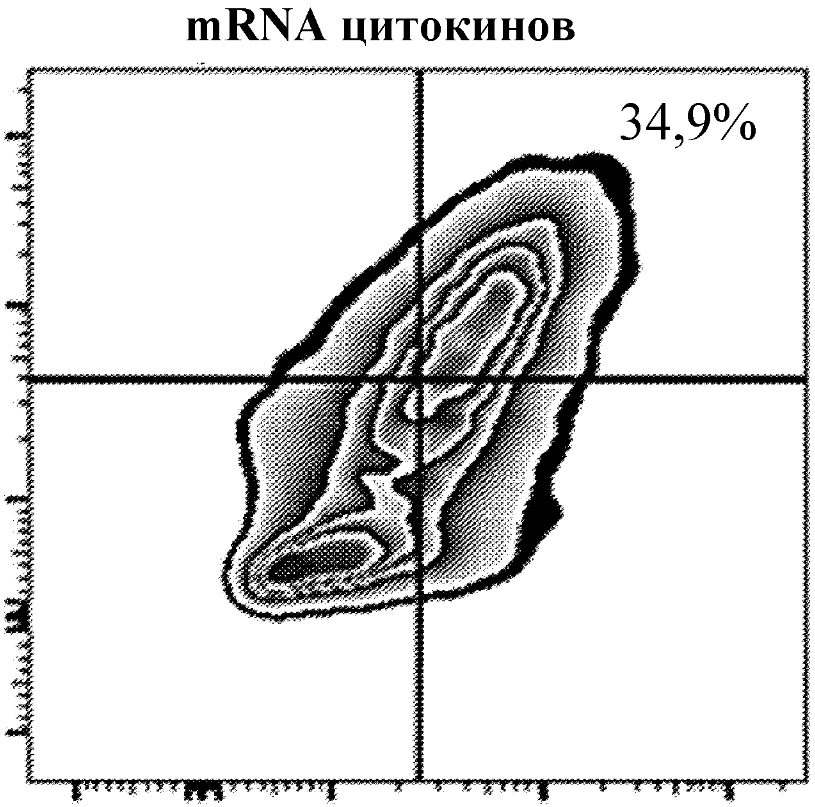


ФИГ. 31B

↑Полифункциональные CD8+ Т-клетки



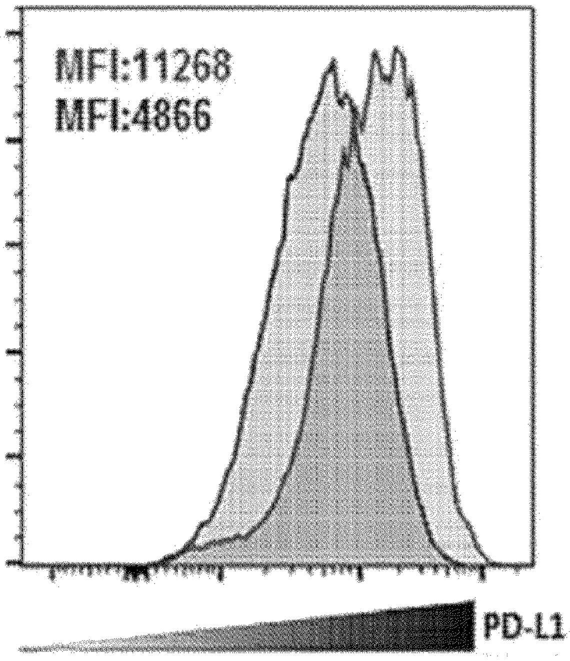
ФИГ. 31C



ФИГ. 31D

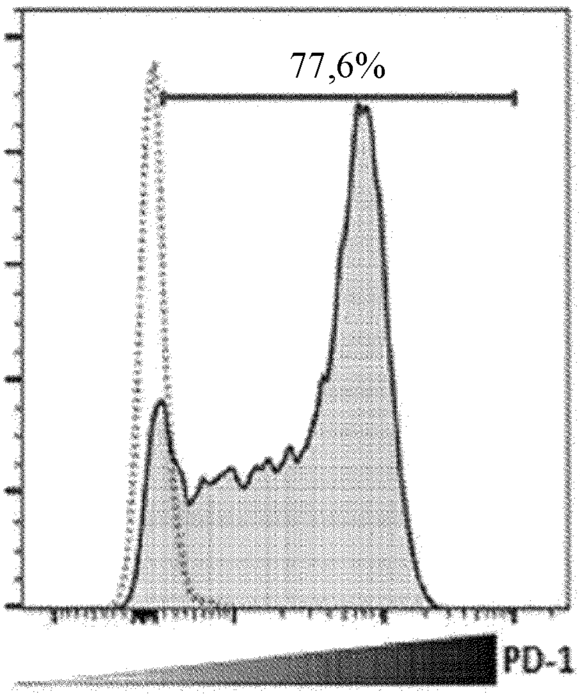
PD-L1 на инфильтрирующих опухоль клетках (CD11B+)

mRNA цитокинов
Контрольная mRNA



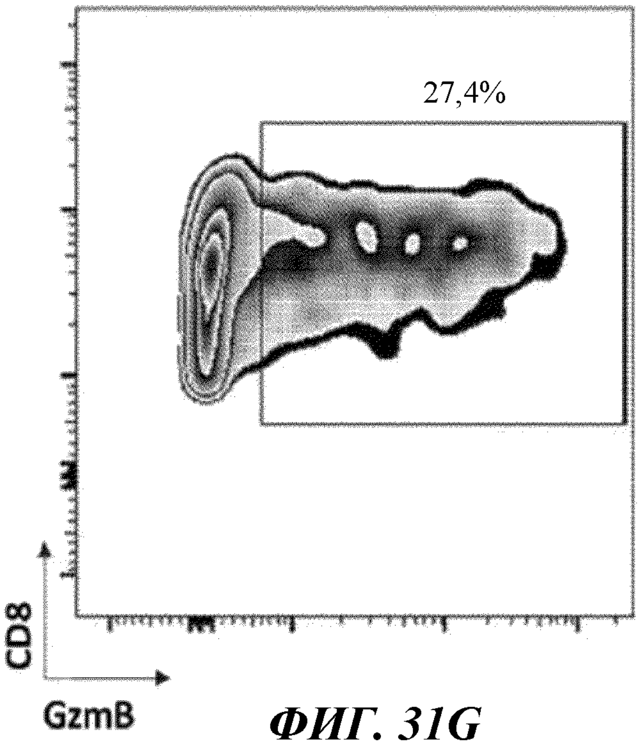
ФИГ. 31E

PD-L1 на инфильтрирующих опухоль CD8+



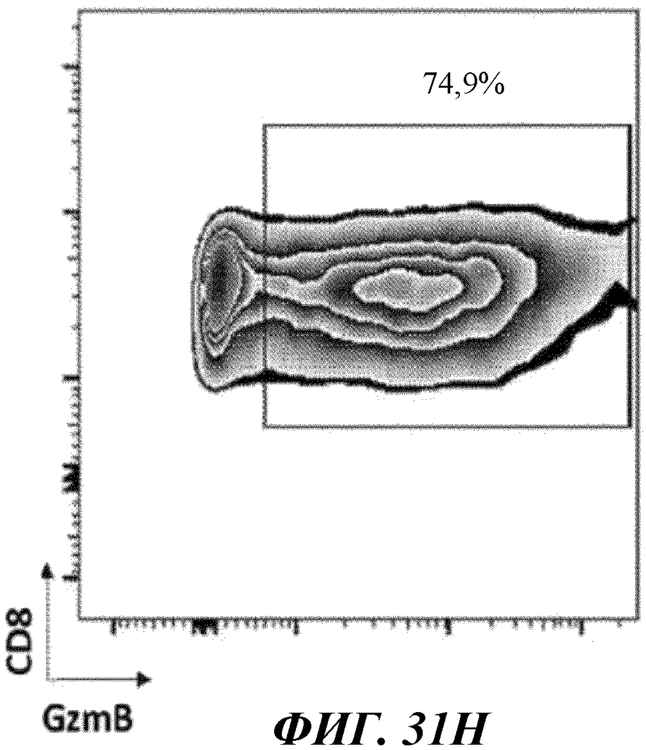
ФИГ. 31F

Контрольная mRNA

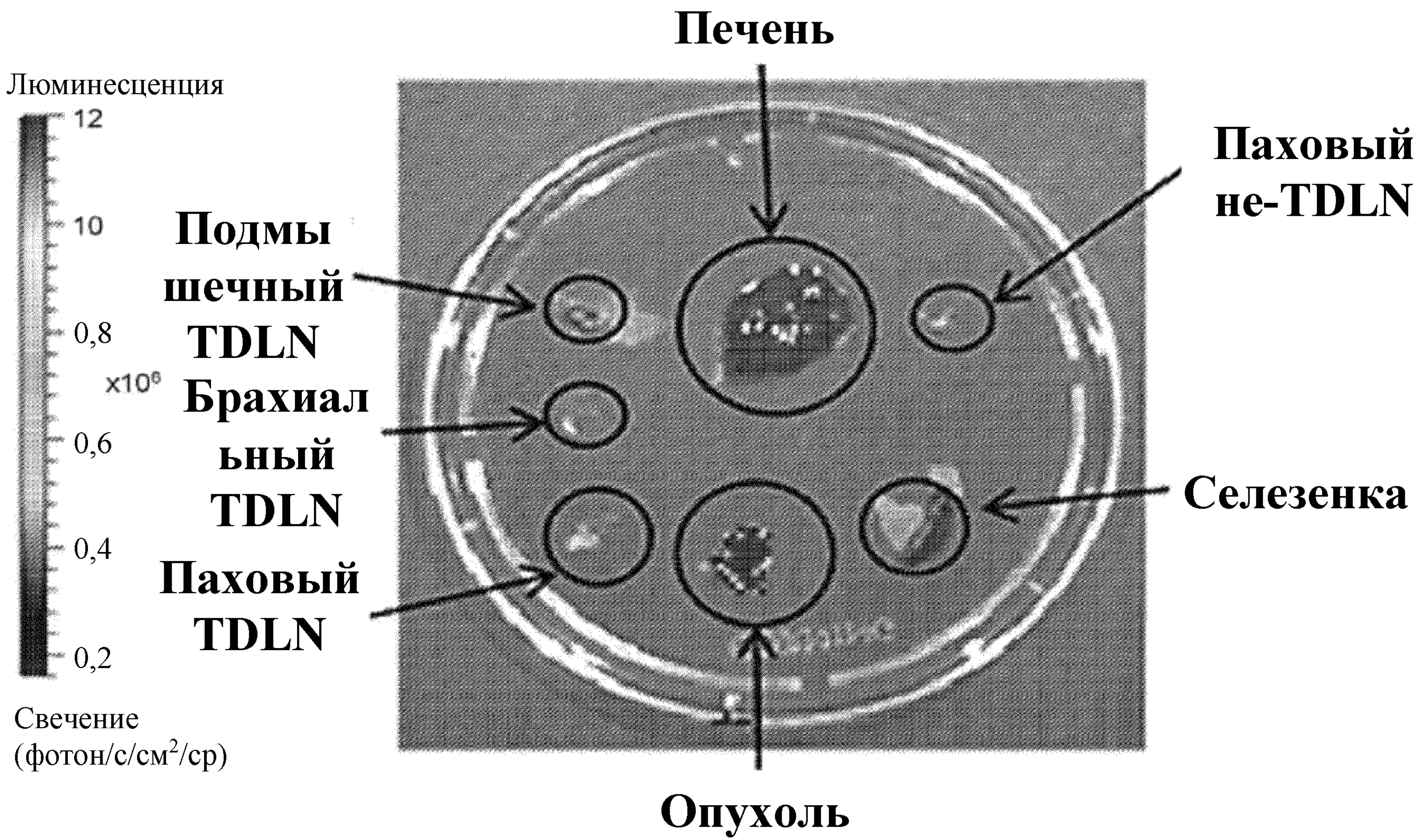


ФИГ. 31G

mRNA цитокинов

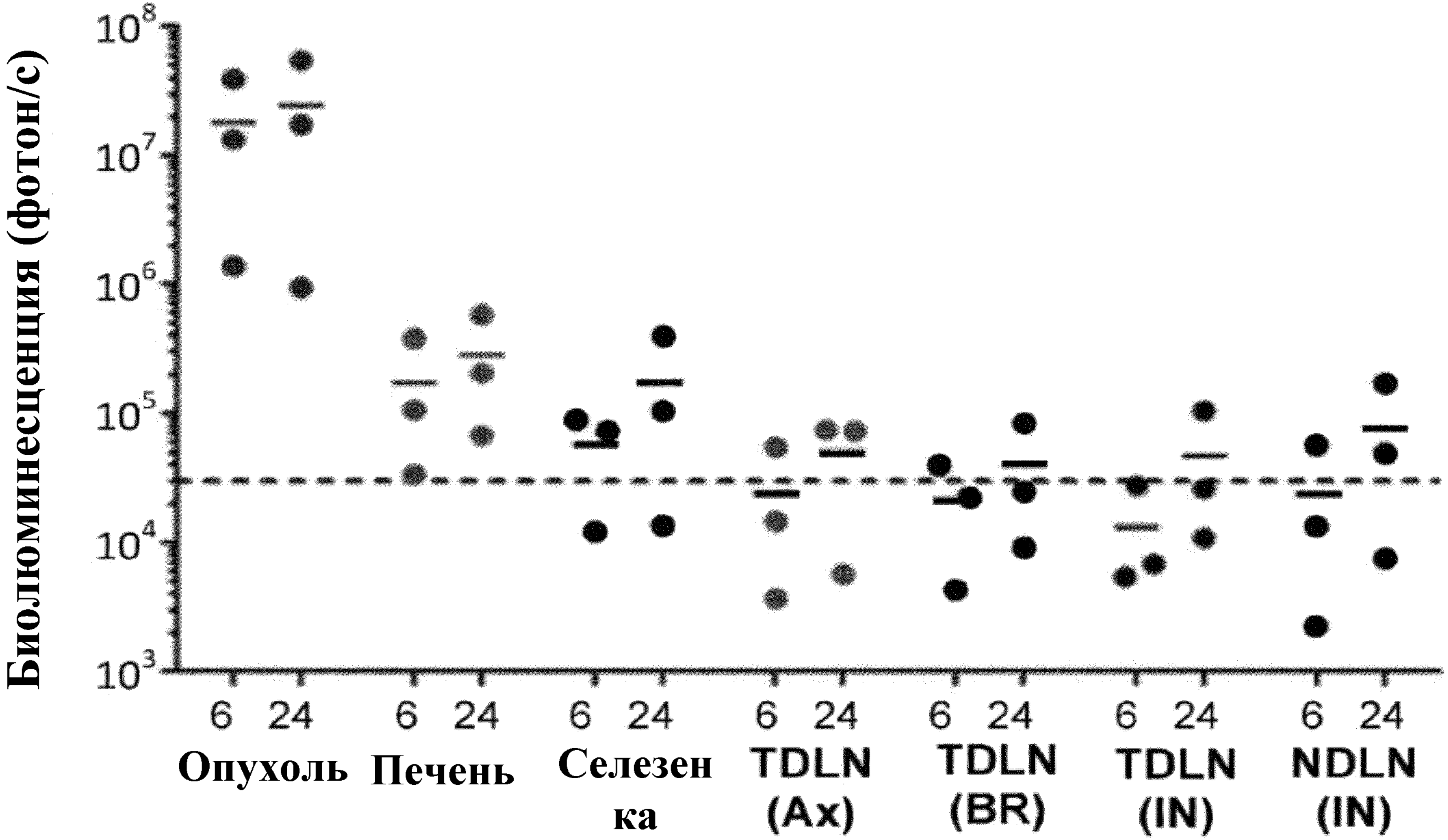


ФИГ. 31H



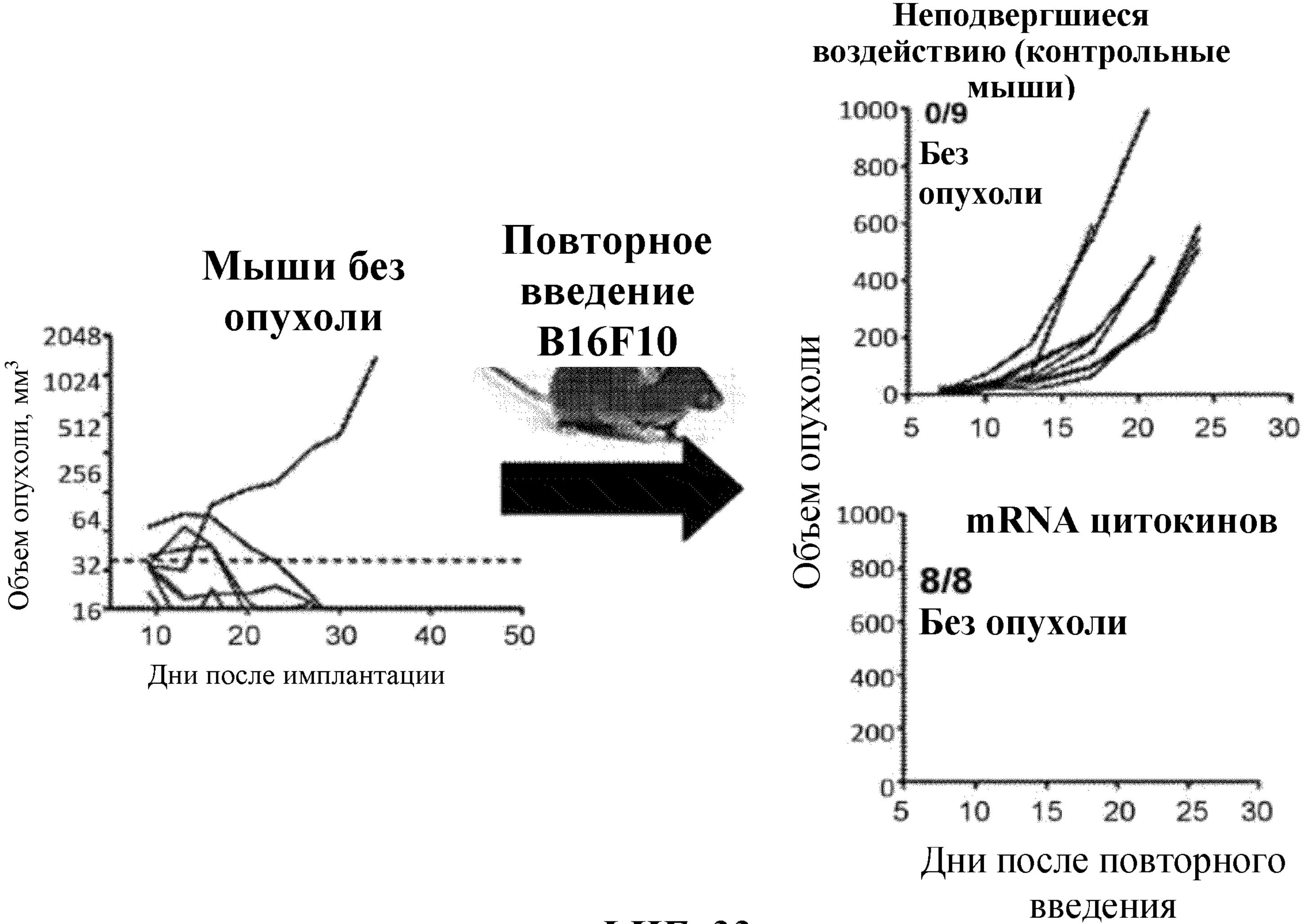
Печень
Люминесценция
12
10
0,8
x10⁶
0,6
0,4
0,2
Свечение
(фотон/с/см²/ср)
Подмы
шечный
TDLN
Брахиал
ьный
TDLN
Паховый
TDLN
Паховый
не-TDLN
Селезенка
Опухоль

ФИГ. 32А

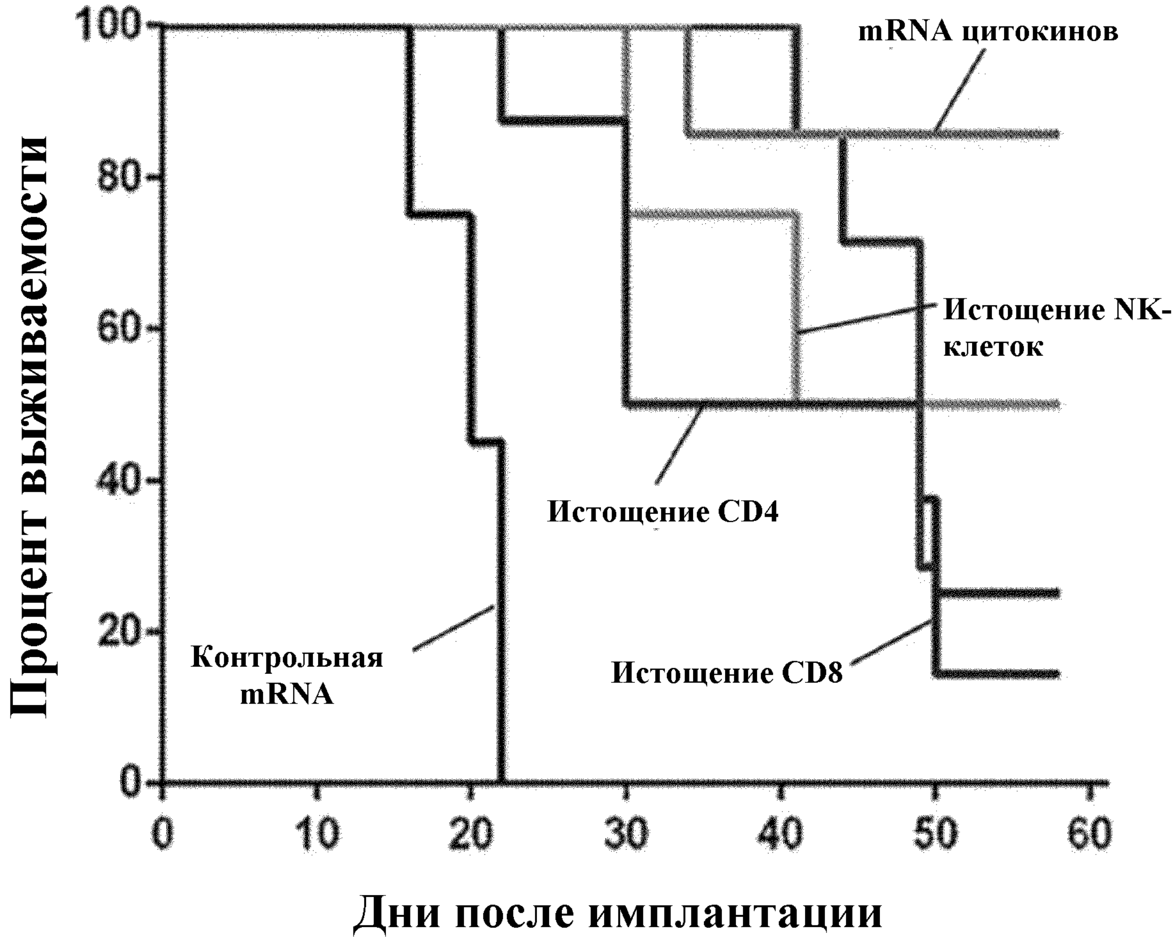

Биолюминесценция (фотон/с)
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
6 24
Опухоль
6 24
Печень
6 24
Селезенка
6 24
TDLN (Ax)
6 24
TDLN (BR)
6 24
TDLN (IN)
6 24
NDLN (IN)

ФИГ. 32B

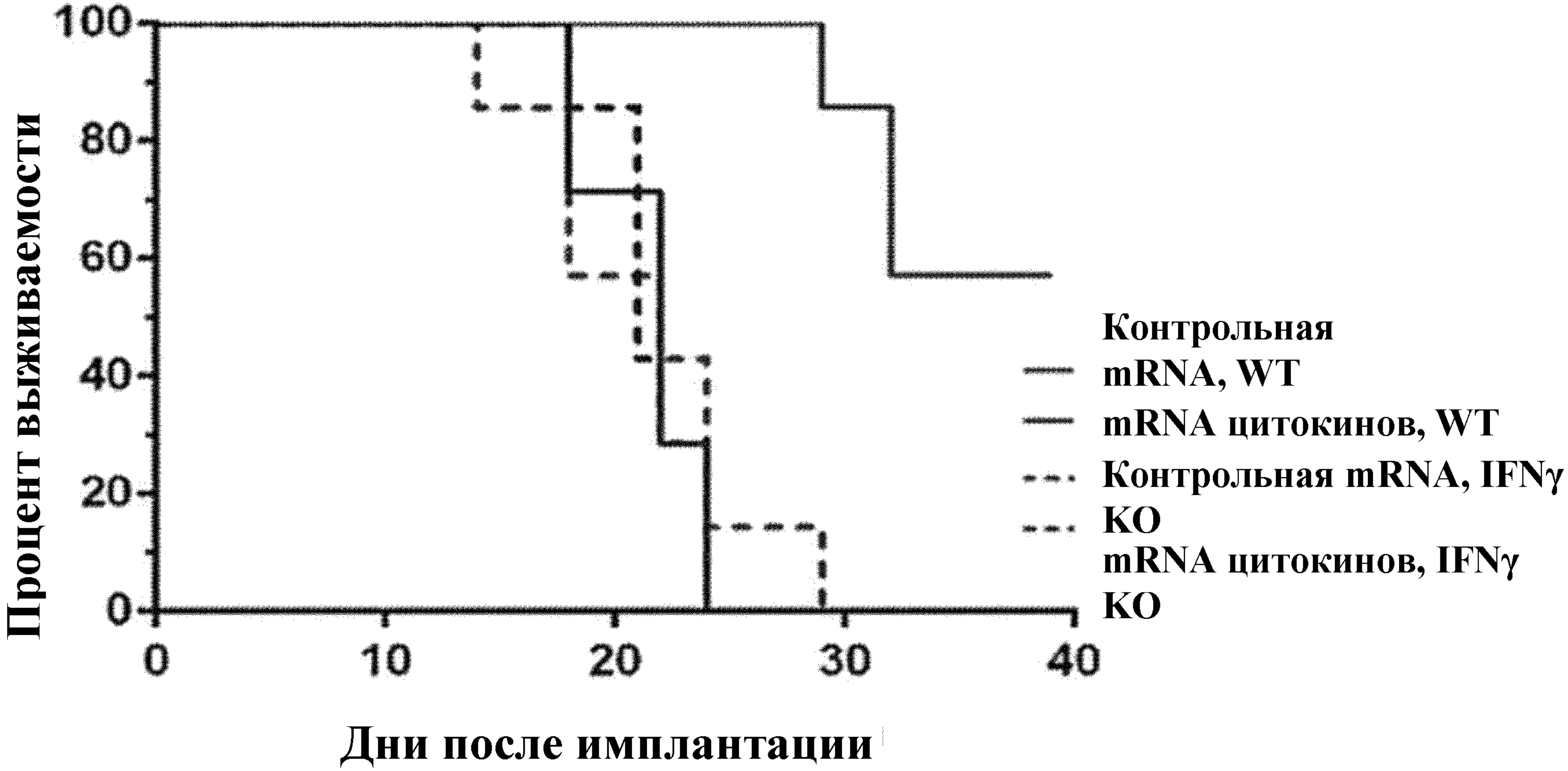
Устойчивость к повторному введению



ФИГ. 33


mRNA цитокинов
Истощение NK-клеток
Истощение CD4
Контрольная mRNA
Истощение CD8
Процент выживаемости
Дни после имплантации
0
20
40
60
80
100
0
10
20
30
40
50
60

ФИГ. 34



Процент выживаемости
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
Дни после имплантации
Контрольная mRNA, WT
mRNA цитокинов, WT
Контрольная mRNA, IFNγ KO
mRNA цитокинов, IFNγ KO

ФИГ. 35