

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202191126** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.29

(22) Дата подачи заявки
2019.11.21

(51) Int. Cl. *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ КИСТОЗНОГО ФИБРОЗА ПУТЕМ ДОСТАВКИ РАСПЫЛЯЕМОЙ mRNA, КОДИРУЮЩЕЙ CFTR

(31) 62/770,596; 62/829,461; 62/846,458;
62/848,401

(32) 2018.11.21; 2019.04.04; 2019.05.10;
2019.05.15

(33) US

(86) PCT/US2019/062592

(87) WO 2020/106946 2020.05.28

(71) Заявитель:
ТРАНСЛЕЙТ БИО, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Карв Шриран, Дероза Франк,
Хартлейн Майкл, Пейтел Зарна (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Изобретение относится, среди прочего, к улучшенному способу лечения кистозного фиброза (CF) у субъекта-человека. Способ предусматривает введение композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок, представляющий собой трансмембранный регулятор проводимости, связанный с кистозным фиброзом (CFTR), при концентрации, составляющей 0,5 мг/мл или больше, субъекту-человеку путем распыления. Композицию превращают в аэрозоль с использованием небулайзера, и номинальную дозу mRNA вводят субъекту-человеку с помощью небулайзера на протяжении периода времени, составляющего, как правило, по меньшей мере 30 мин, при подходящей скорости распыления, составляющей, например, по меньшей мере 0,2 мл/мин.

A1

202191126

202191126

A1

ЛЕЧЕНИЕ КИСТОЗНОГО ФИБРОЗА ПУТЕМ ДОСТАВКИ РАСПЫЛЯЕМОЙ mRNA, КОДИРУЮЩЕЙ CFTR

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает преимущество и приоритет на основании предварительной заявки на патент США с серийным номером 62/770596, поданной 21 ноября 2018 г., предварительной заявки на патент США с серийным номером 62/829461, поданной 4 апреля 2019 г., предварительной заявки на патент США с серийным номером 62/846458, поданной 10 мая 2019 г., и предварительной заявки на патент США с серийным номером 62/848401, поданной 15 мая 2019 г., содержание каждой из которых включено в данный документ в полном своем объеме.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Содержимое текстового файла под названием «MRT-2050WO_ST25.txt», который был создан 15 ноября 2019 г. и имеет размер 166 КБ, тем самым включено посредством ссылки в полном своем объеме.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Кистозный фиброз представляет собой аутосомное наследственное нарушение, возникающее в результате мутации трансмембранного регулятора проводимости, связанного с кистозным фиброзом (ген CFTR), который кодирует канал иона хлорида, который, как считается, участвует в регуляции множества других ионных каналов и транспортных систем в эпителиальных клетках. Потеря функции CFTR приводит к хроническому заболеванию легких, аберрантному продуцированию слизи и резкому снижению продолжительности жизни. См. в целом Rowe *et al.*, New Engl. J. Med. 352, 1992-2001 (2005).

[0004] В настоящее время лечения кистозного фиброза не существует. В литературе задокументированы многочисленные трудности, возникающие при попытке индуцировать экспрессию CFTR в легком. Например, вирусные векторы, содержащие

ДНК CFTR, запускали иммунные ответы, и симптомы CF сохранялись после введения. Conese *et al.*, J. Cyst. Fibros. 10 Suppl 2, S114-28 (2011); Rosenecker *et al.*, Curr. Opin. Mol. Ther. 8, 439-45 (2006). Сообщали также, что невирусная доставка ДНК, включая ДНК CFTR, запускает иммунные ответы. Alton *et al.*, Lancet 353, 947-54 (1999); Rosenecker *et al.*, J Gene Med. 5, 49-60 (2003). Кроме того, невирусные ДНК-векторы сталкиваются с дополнительной проблемой, заключающейся в том, что механизм комплекса ядерных пор обычно не импортирует ДНК в ядро, где могла бы происходить транскрипция. Pearson, Nature 460, 164-69 (2009).

[0005] Эксперименты, проведенные на грызунах, при которых инкапсулированную в липосомы mRNA CFTR доставляли в легкие тестируемых животных, дали многообещающие результаты (см., например, WO2018/089790). Авторы настоящего изобретения объединили данные экспериментов на грызунах и отличных от человека приматах с данными *in vitro*, полученными с помощью коммерчески доступных небулайзеров, для оптимизации легочной доставки инкапсулированной в липосомы mRNA CFTR взрослым людям и детям.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Настоящее изобретение относится к особенно эффективному способу введения инкапсулированной в липосомы mRNA CFTR путем распыления в легкие субъекта-человека для лечения кистозного фиброза. Следовательно, настоящее изобретение относится к улучшенному способу лечения кистозного фиброза (CF) у субъекта-человека. В частности, способ предусматривает введение композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок, представляющий собой трансмембранный регулятор проводимости, связанный с кистозным фиброзом (CFTR), при концентрации, составляющей 0,5 мг/мл или больше, субъекту-человеку путем распыления. Композицию превращают в аэрозоль с использованием небулайзера и номинальную дозу mRNA вводят субъекту-человеку с помощью небулайзера на протяжении периода времени составляющего, как правило, по меньшей мере 30 минут, при подходящей скорости распыления, составляющей, например, по меньшей мере 0,2 мл/минута.

[0007] В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, находится в диапазоне от 0,5 мг/мл до 0,8 мг/мл. В конкретном варианте осуществления концентрация составляет 0,6 мг/мл.

[0008] В ходе лечения по меньшей мере 25% номинальной дозы mRNA, кодирующей белок CFTR, доставляют в легкие субъекта-человека. Чаще всего по меньшей мере 35% или по меньшей мере 40% mRNA, кодирующей белок CFTR, доставляют в легкие субъекта-человека

[0009] Период, на протяжении которого композицию, которую превращают в аэрозоль, вводят субъекту-человеку, может длиться 35 мин. В некоторых вариантах осуществления время лечения составляет 45 мин., 1 час, 2 часа или 3 часа. Обычное время лечения может составлять от 35 мин. до 4,5 часа, *например*, от 1,5 часов до 2 часов или от 2,5 часов до 4 часов.

[0010] Обычно номинальная доза, вводимая субъекту-человеку в ходе одной процедуры лечения, превышает 5 мг. В некоторых вариантах осуществления номинальная доза составляет от 4 мг до 40 мг, *например*, от 6 мг до 30 мг. В конкретных вариантах осуществления номинальная доза, вводимая субъекту-человеку, составляет 8 мг, 16 мг или 24 мг.

[0011] Скорость распыления может находиться в диапазоне от 0,2 мл/минута до 0,5 мл/минута. В некоторых вариантах осуществления объем композиции, которую превращают в аэрозоль в ходе одной процедуры лечения, находится в диапазоне от 13,0 мл до 42,0 мл. В определенных вариантах осуществления объем композиции, которую превращают в аэрозоль, не превышает 20 мл в ходе одной процедуры лечения.

[0012] С помощью подходящего небулайзера для применения в способе по настоящему изобретению получают капли со средним размером от 4 мкм до 6 мкм.

[0013] По меньшей мере некоторая часть mRNA, кодирующей белок CFTR, может быть представлена в виде комплекса с наночастицами или может быть инкапсулирована в наночастицы. Подходящие наночастицы включают липосомы. Как правило, mRNA, кодирующую белок CFTR, инкапсулируют в липосому. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 75% mRNA, кодирующей белок CFTR, инкапсулируют в наночастицу. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 80% mRNA, кодирующей белок CFTR, инкапсулируют в наночастицу. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 85% mRNA, кодирующей белок CFTR, инкапсулируют в наночастицу. В конкретном варианте осуществления по меньшей мере 90% mRNA, кодирующей белок CFTR,

инкапсулируют в наночастицу. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления наночастица может представлять собой липосому.

[0014] Липосома, подходящая для применения по настоящему изобретению, может характеризоваться размером, составляющим менее чем приблизительно 100 нм. Например, липосома может характеризоваться размером, находящимся в диапазоне от 40 нм до 60 нм.

[0015] В некоторых вариантах осуществления липосома по настоящему изобретению содержит один или несколько катионных липидов, один или несколько липидов, отличных от катионных, и один или несколько PEG-модифицированных липидов. В некоторых вариантах осуществления липосома содержит не более трех отдельных липидных компонентов. В определенных вариантах осуществления один отдельный липидный компонент представляет собой катионный липид на основе стерина. В других вариантах осуществления не более трех отдельных липидных компонентов представляют собой катионный липид, липид, отличный от катионного, и PEG-модифицированный липид. В конкретном варианте осуществления катионный липид представляет собой сложный эфир холестерина, содержащий имидазол (ICE), липид, отличный от катионного, представляет собой 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE), а PEG-модифицированный липид представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицерол, метоксиполиэтиленгликоль (DMG-PEG-2K). В некоторых вариантах осуществления ICE и DOPE представлены в молярном соотношении $>1:1$. В некоторых вариантах осуществления ICE и DMG-PEG-2K представлены в молярном соотношении $>10:1$. В некоторых вариантах осуществления DOPE и DMG-PEG-2K представлены в молярном соотношении $>5:1$.

[0016] В определенных вариантах осуществления mRNA имеет поли-A-хвост со средней длиной, составляющей по меньшей мере 100 оснований. В определенных вариантах осуществления mRNA имеет поли-A-хвост со средней длиной, составляющей по меньшей мере 200 оснований. В определенных вариантах осуществления mRNA имеет поли-A-хвост со средней длиной, составляющей по меньшей мере 500 оснований. Например, подходящая длина поли-A-хвоста составляет от 400 до 700 оснований. В некоторых вариантах осуществления mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 95% или на по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO: 1. В конкретном варианте осуществления mRNA,

кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая идентична SEQ ID NO: 1. mRNA, кодирующая белок CFTR, может дополнительно содержать последовательность 5'-нетранслируемой области (UTR) под SEQ ID NO: 3 и/или последовательность 3'-нетранслируемой области (UTR) под SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, или на по меньшей мере 91%, или на по меньшей мере 92%, или на по меньшей мере 93%, или на по меньшей мере 94%, или на по меньшей мере 95%, или на по меньшей мере 96%, или на по меньшей мере 97%, или на по меньшей мере 98%, или на по меньшей мере 99%, или на 100% идентична любой последовательности под SEQ ID NO: 6 - SEQ ID NO: 27. В конкретном варианте осуществления mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая идентична SEQ ID NO: 6.

[0017] В некоторых вариантах осуществления композицию для применения по настоящему изобретению предоставляют в лиофилизированной форме и восстанавливают в водном растворе перед распылением.

[0018] В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая mRNA, кодирующую белок CFTR, содержит трегалозу. Подходящая концентрация трегалозы составляет 10% (вес/об.).

[0019] В некоторых вариантах осуществления субъекту-человеку вводят композицию по меньшей мере один раз в неделю на протяжении периода, составляющего по меньшей мере шесть месяцев.

[0020] В некоторых вариантах осуществления субъект-человек получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR.

[0021] В некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR выбрано из ивакафтора, ивакафтора/лумакафтора или тезакафтора/лумакафтора. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR включает ивакафтор. В некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR включает ивакафтор/лумакафтор. В некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR включает тезакафтор/лумакафтор.

[0022] В некоторых вариантах осуществления субъект-человек имеет мутацию F508del.

[0023] В некоторых вариантах осуществления субъекта-человека отбирают для лечения на основании присутствия мутации F508del.

[0024] В некоторых вариантах осуществления субъект-человек имеет гетерозиготную или гомозиготную мутацию F508del. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления субъект-человек имеет гетерозиготную мутацию F508del. В некоторых вариантах осуществления субъект-человек имеет гомозиготную мутацию F508del.

[0025] В некоторых вариантах осуществления субъект не имеет мутацию F508del.

[0026] В некоторых вариантах осуществления субъект отбирают для лечения на основании отсутствия мутации F508del.

[0027] В некоторых вариантах осуществления у субъекта-человека объем форсированного выдоха за одну секунду (FEV1) составляет от приблизительно 50% до 90% прогнозируемой нормы. Например, у субъекта-человека FEV1 составляет приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, приблизительно 80%, приблизительно 85% или приблизительно 90% прогнозируемой нормы.

[0028] В некоторых вариантах осуществления у субъекта-человека FEV1 составляет от приблизительно 60% до 70% предсказанной прогнозируемой нормы. Например, у субъекта-человека FEV1 составляет приблизительно 60%, приблизительно 61%, приблизительно 62%, приблизительно 63%, приблизительно 64%, приблизительно 65%, приблизительно 66%, приблизительно 67%, приблизительно 68%, приблизительно 69% или приблизительно 70% прогнозируемой нормы.

[0029] Следует учитывать, что все варианты осуществления, описанные выше, применимы для всех аспектов настоящего изобретения. Другие признаки, цели и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из подробного описания, графических материалов и формулы изобретения. Однако следует учитывать, что подробное описание, графические материалы и формула изобретения, хотя и указывают на варианты осуществления настоящего изобретения, приведены исключительно в качестве иллюстрации, а не ограничения. Различные изменения и

модификации в пределах объема настоящего изобретения станут очевидными для специалистов в данной области.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0030] Графические материалы приведены исключительно с целью иллюстрации, а не ограничения.

[0031] На **фигуре 1** изображены общая структура композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок CFTR, и упрощенный способ составления.

[0032] На **фигуре 2** изображен иллюстративный график числа копий mRNA/геном в ткани легкого крысы после обработки крыс загруженными mRNA hCFTR липосомами.

[0033] На **фигуре 3** изображен иллюстративный график числа копий mRNA в ткани легкого отличного от человека примата (NHP) после обработки NHP загруженными mRNA hCFTR липосомами.

[0034] На **фигуре 4** изображен иллюстративный график, показывающий повышенную активность канала-переносчика для ионов хлора, продемонстрированную после трансфекции загруженными mRNA hCFTR липосомами.

[0035] На **фигуре 5** показана экспрессия белка hCFTR в эпителиальных клетках дыхательных путей мыши в легких мышей с нокаутом по CFTR (KO) через два часа после введения загруженных mRNA hCFTR липосом.

[0036] На **фигуре 6** показана экспрессия белка hCFTR в эпителиальных клетках дыхательных путей мыши в легких мышей с нокаутом по CFTR (KO) через двадцать четыре часа после введения загруженных mRNA hCFTR липосом.

[0037] На **фигуре 7** показана экспрессия белка hCFTR в ткани легкого отличного от человека примата (NHP) после однократной дозы загруженных mRNA hCFTR липосом, выявляемая с помощью иммуногистохимии.

[0038] На **фигуре 8** изображен иллюстративный график увеличения кратности копий mRNA CO-hCFTR по сравнению с эндогенными уровнями mRNA CFTR в ткани легкого отличного от человека примата после однократной дозы композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок CFTR.

[0039] На **фигуре 9** изображен иллюстративный график процента mRNA CO-hCFTR, доставленной в ткань легкого отличного от человека примата по сравнению с тканью дыхательных путей после однократной дозы композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок CFTR.

[0040] На **фигуре 10** показаны экспрессия белка, полученного из mRNA CFTR, в эпителиальных клетках верхних бронхиальных путей отличных от человека приматов и совместная локализация с эндогенным белком ZO1. На **фигуре 10А** представлены микроскопические изображения иммуноокрашивания эпителиальных клеток верхних бронхиальных путей, полученных от контрольного животного, получавшего обработку 10% трегалозой; окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 10В** представлены микроскопические изображения иммуноокрашивания эпителиальных клеток верхних бронхиальных путей, полученных от животного, получавшего обработку низкой дозой mRNA CFTR (500 мкг/кг); окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 10С** показаны иллюстративные микроскопические изображения иммуноокрашивания эпителиальных клеток верхних бронхиальных путей, полученных от животного, получавшего обработку высокой дозой mRNA CFTR (1000 мкг/кг); окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). Стрелки указывают на положительное окрашивание как в отношении CFTR, так и в отношении ZO1.

[0041] На **фигуре 11** показаны экспрессия белка, полученного из mRNA CFTR, в эпителиальных клетках нижних дыхательных путей отличных от человека приматов и совместная локализация с эндогенным белком ZO1. На **фигуре 11А** представлены микроскопические изображения иммуноокрашивания эпителиальных клеток нижних дыхательных путей, полученных от контрольного животного, получавшего обработку 10% трегалозой; окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 11В** представлены микроскопические изображения иммуноокрашивания эпителиальных клеток нижних дыхательных путей, полученных от животного, получавшего обработку низкой дозой mRNA CFTR (500 мкг/кг); окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 11С** показаны иллюстративные микроскопические изображения иммуноокрашивания

эпителиальных клеток нижних дыхательных путей, полученных от животного, получавшего обработку высокой дозой mRNA CFTR (1000 мкг/кг); окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). Стрелки указывают на положительное окрашивание как в отношении CFTR, так и в отношении ZO1.

[0042] На **фигуре 12** показаны экспрессия белка, полученного из mRNA CFTR, в альвеолярной области легкого отличного от человека примата и совместная локализация с ZO1 в альвеолярной мембране. На **фигуре 12А** представлены микроскопические изображения иммуноокрашивания, полученные от контрольного животного, получавшего обработку 10% трегалозой; окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 12В** представлены микроскопические изображения иммуноокрашивания, полученные от животного, получавшего обработку низкой дозой mRNA CFTR (500 мкг/кг); окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 12С** показаны иллюстративные микроскопические изображения иммуноокрашивания, полученные от животного, получавшего обработку высокой дозой mRNA CFTR (1000 мкг/кг); окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). Стрелки указывают на положительное окрашивание как в отношении CFTR, так и в отношении ZO1.

[0043] На **фигуре 13** показано изменение в процентах среднего размера LNP (Z_{ave}) до и после лиофилизации.

[0044] На **фигуре 14** показано изменение в процентах дисперсности по размерам mRNA-LNP (PDI) до и после лиофилизации.

[0045] На **фигуре 15** показано изменение в процентах инкапсулирования mRNA до и после лиофилизации.

[0046] На **фигуре 16А** показана активность mRNA до и после лиофилизации для состава LNP, содержащего mRNA, которая кодирует белок ASS1. На **фигуре 16В** показана активность mRNA до и после лиофилизации для состава LNP, содержащего mRNA, которая кодирует CFTR.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0047] Для облегчения понимания настоящего изобретения сначала ниже определены некоторые термины. Дополнительные определения следующих терминов и других терминов приводятся по всему описанию. Публикации и другие справочные материалы, включены в данный документ посредством ссылки для описания предшествующего уровня техники настоящего изобретения и для предоставления дополнительных подробностей, касающихся его осуществления, тем самым включены посредством ссылки.

[0048] *Примерно или приблизительно.* Используемый в данном документе термин «примерно» или «приблизительно», применяемый к одному или нескольким представляющим интерес значениям, относится к значению, которое подобно указанному эталонному значению. В определенных вариантах осуществления термин «примерно» или «приблизительно» относится к диапазону значений, которые находятся в пределах 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или меньше в любом направлении (больше или меньше) от указанного эталонного значения, если иное не указано или иное не очевидно из контекста (кроме случаев, когда такое число превышает 100% возможного значения).

[0049] *Доставка.* Используемый в данном документе термин «доставка» охватывает и локальную и системную доставку. Например, доставка mRNA охватывает ситуации, при которых mRNA доставляют в целевую ткань, и кодируемый белок экспрессируется и удерживается в целевой ткани (что также называется «локальным распределением» или «локальной доставкой»), и ситуации, при которых mRNA доставляют в целевую ткань, и кодируемый белок экспрессируется и секретируется в систему кровообращения пациента (*например*, в сыворотку), системно распространяется и поглощается другими тканями (что также называется «системным распределением» или «системной доставкой»). В некоторых вариантах осуществления доставка представляет собой легочную доставку, *например*, включающую распыление.

[0050] *Инкапсулирование.* Используемый в данном документе термин «инкапсулирование» или его грамматические эквиваленты относятся к способу заключения молекулы mRNA в наночастицу.

[0051] *Экспрессия.* Используемый в данном документе термин «экспрессия» последовательности нуклеиновой кислоты относится к трансляции mRNA в полипептид, сборке нескольких полипептидов (*например*, тяжелой цепи или легкой цепи антитела) в интактный белок (*например*, антитело) и/или посттрансляционной модификации полипептида или полностью собранный белок (*например*, антитело). В настоящей заявке термины «экспрессия» и «продуцирование», и их грамматические эквиваленты используют взаимозаменяемо.

[0052] *Функциональная.* Используемый в данном документе термин «функциональная» биологическая молекула представляет собой биологическую молекулу в форме, в которой она проявляет свойство и/или активность, которыми она характеризуется.

[0053] *Период полувыведения.* Используемый в данном документе термин «период полувыведения» представляет собой время, необходимое для того, чтобы определенная величина, такая как концентрация или активность нуклеиновой кислоты или белка, снизилась до половины своего значения, измеренного в начале периода времени.

[0054] *Улучшать, увеличивать или уменьшать.* Используемые в данном документе термины «улучшать», «увеличивать» или «уменьшать», или грамматические эквиваленты указывают на значения, относящиеся к исходному измерению, например, к измерению у одного того же индивидуума до начала лечения, описанного в данном документе, или измерению у контрольного субъекта (или нескольких контрольных субъектов) в отсутствие лечения, описанного в данном документе. Термин «контрольный субъект» представляет собой субъекта, страдающего той же формой заболевания, что и субъект, который подвергают лечению, который приблизительно того же возраста, что и субъект, которого подвергают лечению.

[0055] *In vitro.* Используемый в данном документе термин «*in vitro*» относится к событиям, которые происходят в искусственной среде, *например*, в тестовой пробирке или реакционном сосуде, в культуре клеток и *т. д.*, а не в многоклеточном организме.

[0056] *In vivo.* Используемый в данном документе термин «*in vivo*» относится к событиям, которые происходят в многоклеточном организме, например, у человека и отличного от человека животного. В контексте систем на основе клеток термин может

быть использован в отношении событий, которые происходят в живой клетке (в противоположность, например, системам *in vitro*).

[0057] *Выделенные.* Используемый в данном документе термин «выделенные» относится к веществу и/или структуре, которые были (1) отделены по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми они ассоциируются при изначальном продуцировании (в природе и/или в экспериментальных условиях), и/или (2) получены, приготовлены и/или изготовлены руками человека. Выделенные вещества и/или структуры могут быть отделены от приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70%, приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или более чем приблизительно 99% других компонентов, с которыми они изначально были ассоциированы. В некоторых вариантах осуществления выделенные средства являются на приблизительно 80%, приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или более чем приблизительно 99% чистыми. Как используется в данном документе, вещество является «чистым», если оно практически не содержит других компонентов. Как используется в данном документе, расчет чистоты в процентах выделенных веществ и/или структур не должен включать вспомогательные вещества (*например*, буфер, растворитель, воду и *т. д.*).

[0058] *Матричная РНК (mRNA).* Используемый в данном документе термин «матричная РНК (mRNA)» относится к полинуклеотиду, который кодирует по меньшей мере один полипептид. mRNA, используемая в данном документе, охватывает как модифицированную, так и немодифицированную РНК. mRNA может включать одну или несколько кодирующих и не кодирующих областей. mRNA может быть получена посредством очистки из природных источников, получена с использованием рекомбинантных систем экспрессии и необязательно очищена, химически синтезирована и *т. д.* При необходимости, *например*, в случае химически синтезированных молекул, mRNA может включать аналоги нуклеозидов, такие как аналоги, имеющие химически модифицированные основания или сахара, модификации

остова и *т. д.* Последовательность mRNA представлена в 5'-3'-направлении, если не указано иное.

[0059] *Номинальная доза.* Используемый в данном документе термин «номинальная доза» относится к дозе mRNA, вводимой субъекту путем распыления. Номинальная доза может не быть идентичной дозе, фактически доставляемой субъекту. Например, если субъект-человек получает номинальную дозу, составляющую 8 мкг, композиции mRNA CFTR, раскрытой в данном документе, то фактическая доза, которую доставляют в легкие субъекта, может варьировать, *например*, в зависимости от параметров распыления, используемых для введения композиции. Фактическая доза не может превышать номинальную дозу, но обычно фактическая доза mRNA, доставляемая путем распыления в легкие субъекта-человека, ниже номинальной дозы, которую вводят с помощью небулайзера.

[0060] *Нуклеиновая кислота.* Используемый в данном документе термин «нуклеиновая кислота» в его самом широком смысле относится к любому соединению и/или веществу, которое включено или может быть включено в полинуклеотидную цепь. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой соединение и/или вещество, которое включено или может быть включено в полинуклеотидную цепь посредством фосфодиэфирной связи. В некоторых вариантах осуществления «нуклеиновая кислота» относится к отдельным остаткам нуклеиновой кислоты (*например*, нуклеотидам и/или нуклеозидам). В некоторых вариантах осуществления «нуклеиновая кислота» относится к полинуклеотидной цепи, содержащей отдельные остатки нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления «нуклеиновая кислота» охватывает РНК, а также одно- и/или двухнитевую ДНК и/или cDNA. Кроме того, термины «нуклеиновая кислота», «ДНК», «РНК» и/или подобные термины включают аналоги нуклеиновой кислоты, *т. е.*, аналоги, имеющие остов, отличный от фосфодиэфирного. Например, так называемые «пептидные нуклеиновые кислоты», которые известны в уровне техники и характеризуются пептидными связями вместо фосфодиэфирных связей в остове, попадают в объем настоящего изобретения. Термин «нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность» включает все нуклеотидные последовательности, которые являются вырожденными версиями друг друга и/или кодируют одну и ту же аминокислотную последовательность. Нуклеотидные последовательности, которые кодируют белки и/или РНК, могут

включать интроны. Нуклеиновые кислоты могут быть получены посредством очистки из природных источников, получены с использованием рекомбинантных систем экспрессии и необязательно очищены, химически синтезированы и *т. д.* При необходимости, *например*, в случае химически синтезированных молекул, нуклеиновые кислоты могут включать аналоги нуклеозидов, такие как аналоги, имеющие химически модифицированные основания или сахара, модификации остова и *т. д.* Последовательность нуклеиновой кислоты представлена в 5'-3'-направлении, если не указано иное. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой или включает природные нуклеозиды (*например*, аденозин, тимидин, гуанозин, цитидин, уридин, дезоксиаденозин, дезокситимидин, дезоксигуанозин и дезоксицитидин), нуклеозидные аналоги (*например*, 2-аминоаденозин, 2-тиотимидин, инозин, пирролопиримидин, 3-метиладенозин, 5-метилцитидин, C-5-пропинилцитидин, C-5-пропинилуридин, 2-аминоаденозин, C5-бромурин, C5-фторуридин, C5-йодуридин, C5-пропинилуридин, C5-пропинилцитидин, C5-метилцитидин, 2-аминоаденозин, 7-дезааденозин, 7-дезагуанозин, 8-оксааденозин, 8-оксогуанозин, O(6)-метилгуанин и 2-тиоцитидин), химически модифицированные основания; биологически модифицированные основания (*например*, метилированные основания), интеркалированные основания; модифицированные сахара (*например*, 2'-фторрибоза, рибоза, 2'-дезоксирибоза, арабиноза и гексоза) и/или модифицированные фосфатные группы (*например*, фосфоротиоаты и 5'-N-фосфоамидитные связи). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение, в частности, относится к «немодифицированным нуклеиновым кислотам», что означают нуклеиновые кислоты (*например*, полинуклеотиды и остатки, включая нуклеотиды и/или нуклеозиды), которые не были химически модифицированы для облегчения или достижения доставки. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды Т и У используют взаимозаменяемо в описаниях последовательностей.

[0061] *Пациент.* Используемый в данном документе термин «пациент» или «субъект» относится к любому организму, которому может быть введена представленная композиция, *например*, для экспериментальных, диагностических, профилактических, косметических и/или терапевтических целей. Обычные пациенты включают животных (*например*, млекопитающих, таких как мыши, крысы, кролики,

отличные от человека приматы и/или люди). В конкретных вариантах осуществления пациентом является человек. Человек включает пред- и постнатальные формы.

[0062] *Фармацевтически приемлемый.* Термин «фармацевтически приемлемый», как используется в данном документе, относится к веществам, которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблемы или осложнения с соизмеримым с разумным соотношением пользы к риску.

[0063] *Субъект.* Используемый в данном документе термин «субъект» относится к человеку или любому отличному от человека животному (*например*, к мышам, крысе, кролику, собаке, кошке, верблюду, свинье, овце, лошади или примату). Человек включает пред- и постнатальные формы. Во многих вариантах осуществления субъектом является человек. Субъект может быть пациентом, что относится к человеку, обращающемуся к поставщику медицинских услуг для диагностики или лечения заболевания. Термин «субъект» используют в данном документе взаимозаменяемо с «индивидуумом» или «пациентом». Субъект может быть поражен заболеванием или нарушением, или предрасположен к заболеванию или нарушению, но у него могут проявляться или не проявляться симптомы заболевания или нарушения.

[0064] *По сути.* Используемый в данном документе термин «по сути» относится к качественному состоянию проявления полной или почти полной меры или степени представляющих интерес характеристики или свойства. Рядовому специалисту в области биологии будет понятно, что биологические и химические явления редко, если вообще когда-либо, доходят до завершения и/или подходят к завершению или достигают абсолютного результата, или устраняют его. Таким образом, термин «по сути» используют в данном документе для обозначения потенциальной неполноты, присущей многим биологическим и химическим явлениям.

[0065] *Лечение.* Используемые в данном документе термины «лечить», «лечение» или «подвергать лечению» относятся к любому способу, используемому для частичного или полного ослабления, облегчения, смягчения, подавления, предупреждения, отсрочки начала, уменьшения тяжести и/или снижения частоты возникновения одного или нескольких симптомов или признаков конкретного заболевания, нарушения и/или состояния. Лечение может быть предоставлено

субъекту, у которого не проявляются признаки заболевания и/или проявляются только ранние признаки заболевания, с целью снижения риска развития патологии, связанной с заболеванием.

ПОРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0066] Настоящее изобретение относится, среди прочего, к улучшенному способу лечения кистозного фиброза (CF) у субъекта-человека. В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает введение композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок, представляющий собой трансмембранный регулятор проводимости, связанный с кистозным фиброзом (CFTR), при концентрации, составляющей 0,5 мг/мл или больше, субъекту-человеку путем распыления. Композицию превращают в аэрозоль с использованием небулайзера и номинальную дозу mRNA вводят субъекту-человеку с помощью небулайзера на протяжении периода времени составляющего, как правило, по меньшей мере 30 минут, при подходящей скорости распыления, составляющей, *например*, по меньшей мере 0,2 мл/минута.

[0067] В следующих разделах подробно описаны различные аспекты настоящего изобретения. Применение разделов не предназначено для ограничения настоящего изобретения. Каждый раздел может применяться в отношении любого аспекта настоящего изобретения. В настоящей заявке применение термина «или» означает «и/или», если не указано иное.

Кистозный фиброз

[0068] Кистозный фиброз, также известный как муковисцидоз, представляет собой аутосомно-рецессивное генетическое нарушение, наиболее серьезно поражающее легкие, а также поджелудочную железу, печень и кишечник (Gibson *et al.*, *Am J Respir Crit Care Med.* (2003) 168(8):918-951; Ratjen *et al.*, *Lancet Lond Engl.* (2003) 361(9358):681-689; O'Sullivan *et al.*, *Lancet Lond Engl.* (2009) 373(9678):1891-1904). Кистозный фиброз вызывается мутациями в гене, кодирующем белок, представляющий собой трансмембранный регулятор проводимости, связанный с кистозным фиброзом (CFTR). Этот белок функционирует как канал, который переносит ионы хлорида через мембрану клеток и необходим для регулирования компонентов слизи, пота, слюны, слез и пищеварительных ферментов. Вызывающие заболевание мутации в белке CFTR

вызывают дисфункцию активности его каналов, что приводит к аномальному транспорту ионов хлорида и натрия через эпителий, что приводит к характерным для заболевания CF густым вязким секретами в легком, поджелудочной железе и других органах (O'Sullivan *et al.*, *Lancet Lond Engl.* (2009) 373(9678):1891-1904; Rowe *et al.*, *N Engl J Med.* (2005) 352(19):1992-2001). У большинства пациентов с CF развивается тяжелое хроническое заболевание легких, связанное с обструкцией дыхательных путей, отчасти из-за повышенного уровня сульфатированных муцинов, воспаления и рецидивных инфекций, которые в конечном итоге приводят к летальному исходу; средний прогнозируемый возраст выживания в США составляет 40,7 года. Кистозный фиброз представляет собой наиболее частое смертельное генетическое заболевание среди белого населения.

[0069] Симптомы часто появляются в младенчестве и детстве, наиболее частыми из которых являются респираторные симптомы, за которыми следует задержка развития, стеаторея и мекониевая непроходимость кишечника (Gibson *et al.*, *Am J Respir Crit Care Med.* (2003) 168(8):918-951). Наиболее частые осложнения CF связаны с легкими и включают закупорку узких проходов пораженных органов сгущенными секретами. Такие закупорки приводят к ремоделированию и инфицированию легкого, вызывают повреждение поджелудочной железы из-за накопленных пищеварительных ферментов и закупорки кишечника. Диабет является наиболее частым нелегочным осложнением и представляет собой отдельную форму, известную как диабет, связанный с CF.

[0070] Легкие индивидуумов с CF колонизируются и инфицируются бактериями с раннего возраста. Это приводит к хроническим инфекции и воспалению дыхательных путей, которые прогрессируют до бронхоэктаза, захвата газов, гипоксемии и гиперкапнии. Легочная недостаточность является причиной 68,1% связанных с CF смертей в США. На начальной стадии обычные бактерии, такие как *Staphylococcus aureus* и *Hemophilus influenzae*, колонизируют и инфицируют легкие. В конце концов, доминирует *Pseudomonas aeruginosa* (а иногда *Burkholderia cepacia*). К 18 годам 80% пациентов с классическим CF являются носителями *P. aeruginosa*, а 3,5% являются носителями *B. cepacia*. Попадая в легкие, эти бактерии адаптируются к окружающей среде и развивают устойчивость к обычно используемым антибиотикам.

[0071] Основным дефектом, вызывающим CF, является аномальный эпителиальный транспорт анионов из-за отсутствия экспрессии или дисфункции белка

CFTR. Белок CFTR в первую очередь функционирует как хлоридный канал в мембранах эпителиальных клеток, однако он также участвует в ряде других функций клеточных мембран, таких как ингибирование транспорта натрия через эпителиальный натриевый канал, регуляция канала, выпрямляющего наружу поток ионов хлорида, и регуляция аденозинтрифосфатных (АТФ) каналов (O'Sullivan *et al.*, *Lancet Lond Engl.* (2009) 373(9678):1891-1904). CF вызывается мутациями в кодирующем белок CFTR гене, в котором было идентифицировано более 1500 вызывающих заболевание мутаций (O'Sullivan *et al.*, *Lancet Lond Engl.* (2009) 373(9678):1891-1904). Более распространенные генные мутации приводят к отсутствию синтеза белка CFTR (класс I), дефектному процессингу и созреванию белка CFTR (класс II) или экспрессии белка CFTR, дефектного в отношении регуляции, *например*, к снижению связывания АТФ и гидролиза (класс III) (Rowe *et al.*, *N Engl J Med.* (2005) 352(19):1992-2001). Делеция фенилаланина в положении 508 (F508del) является наиболее распространенной мутацией CFTR во всем мире и представляет собой дефект класса II, при котором неправильно свернутый белок быстро разрушается клеткой вскоре после синтеза (Rowe *et al.*, *N Engl J Med.* (2005) 352(19):1992-2001). Отсутствие функционального белка CFTR вызывает обструкцию слизистой оболочки экзокринных желез у пациентов с CF, вторичную по отношению к аномальному транспорту хлорида и натрия через эпителий. В легком это приводит к образованию густых вязких секретов, которые закупоривают дыхательные пути и подслизистые железы, что, в свою очередь, приводит к хронической бактериальной инфекции и воспалению, как описано выше.

[0072] Респираторные симптомы кистозного фиброза включают постоянный кашель с образованием густой слизи (мокроты), хрипы, одышку, непереносимость физических упражнений, повторяющиеся инфекции легких и воспаление носовых ходов или заложенность носа. К пищеварительным симптомам кистозного фиброза относятся неприятный запах, жирный стул, плохой набор веса и рост, кишечная непроходимость, особенно у новорожденных (мекониевая непроходимость кишечника), и тяжелый запор.

[0073] Существует несколько различных способов оценивания симптомов кистозного фиброза. В одном варианте осуществления один или несколько симптомов кистозного фиброза оценивают по объему форсированного выдоха (FEV), который измеряет, сколько воздуха человек может выдохнуть во время форсированного дыхания. В одном варианте осуществления измеряют количество воздуха,

выдыхаемого за первую секунду форсированного дыхания (FEV_1). В одном варианте осуществления измеряют количество воздуха, выдыхаемого за секунду форсированного дыхания (FEV_2). В одном варианте осуществления измеряют количество воздуха, выдыхаемого за третью секунду форсированного дыхания (FEV_3). В одном варианте осуществления измеряют форсированную жизненную емкость (FVC), которая представляет собой общее количество выдыхаемого воздуха при тесте FEV. В одном варианте осуществления один или несколько симптомов кистозного фиброза оценивают по оценке респираторного домена, пересмотренной в опроснике по кистозному фиброзу (CFQ-R). Оценка респираторного домена CFQ-R является мерой респираторных симптомов, актуальных для пациентов с CF, таких как кашель, выделение мокроты и затрудненное дыхание. В одном варианте осуществления один или несколько симптомов кистозного фиброза оценивают по относительному риску легочного обострения. В одном варианте осуществления один или несколько симптомов кистозного фиброза оценивают по изменению массы тела. В одном варианте осуществления один или несколько симптомов кистозного фиброза оценивают по изменению хлорида в поте (ммоль/л).

Отбор пациентов

[0074] Настоящее изобретение подходит для лечения пациентов с различными дефектами CFTR, в том числе без ограничения пациентов с различными симптомами, мутациями или классами CFTR, описанными в данном документе.

[0075] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение можно использовать для лечения пациентов, несущих одну или несколько, две или более, три или более, четыре или более, или пять или более мутаций из класса I (дефектный синтез белка), показанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение можно использовать для лечения пациентов, несущих одну или несколько, две или более, три или более, четыре или более, или пять или более мутаций из класса II (аномальные процессинг и миграция), показанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение можно использовать для лечения пациентов, несущих одну или несколько, две или более, три или более, четыре или более, или пять или более мутаций из класса III (дефектные регуляция канала/гейтирование), показанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления

настоящее изобретение можно использовать для лечения пациентов, несущих одну или несколько, две или более, три или более, четыре или более, или пять или более мутаций из класса IV (пониженная проводимость канала), показанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение можно использовать для лечения пациентов, несущих одну или несколько, две или более, три или более, четыре или более, или пять или более мутаций из класса V (пониженные синтез и/или миграция), показанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение можно использовать для лечения пациентов, несущих любую комбинацию специфических мутаций, выбранных из таблицы 1 (*например*, одну или несколько, две или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, или десять или более мутаций из разных классов, показанных в таблице 1).

Таблица 1. Классификация мутаций гена CFTR

Категория	Мутация	Специфические мутации
Класс I	Дефектный синтез белка (нонсенс, сдвиг рамки, абберрантный сплайсинг)	1078delT, 1154 insTC, 1525-2A > G, 1717-1G > A, 1898+1G > A, 2184delA, 2184 insA, 3007delG, 3120+1G > A, 3659delC, 3876delA, 3905insT, 394delTT, 4010del4, 4016insT, 4326delTC, 4374+1G > T, 441delA, 556delA, 621+1G > T, 621-1G > T, 711+1G > T, 875+1G > C, E1104X, E585X, E60X, E822X, G542X, G551D/R553X, Q493X, Q552X, Q814X, R1066C, R1162X, R553X, V520F, W1282X, Y1092X
Класс II	Аномальные процессинг и миграция	A559T, D979A, ΔF508, ΔI507, G480C, G85E, N1303K, S549I, S549N, S549R
Класс III	Дефективные регуляция канала/гейтирование	G1244E, G1349D, G551D, G551S, G85E, H199R, I1072T, I48T, L1077P, R560T, S1255P, S549N (R75Q)
Класс IV	Пониженная проводимость канала	A800G, D1152H, D1154G, D614G, delM1140, E822K, G314E, G576A, G622D, G85E, H620Q, I1139V, I1234V, L1335P, M1137V, P67L, R117C, R117P, R117H, R334W, R347H, R347P, R347P/R347H, R792G, S1251N, V232D
Класс V	Пониженные синтез и/или миграция	2789+5G > A, 3120G > A, 3272-26A > G, 3849+10kbC > T, 5T variant, 621+3A > G, 711+3A > G, A445E, A455E, IVS8 поли T, P574H, 875+1G > C

[0076] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, представляет собой мужчину или женщину возрастом 2 года или старше, или 3 года или старше, или 6 лет или старше, или 7 лет или старше, или 12 лет или старше, или 13 лет или старше, или 18 лет или старше, или 19 лет или старше, или 25 лет или старше, или 25 лет или старше, или 30 лет или старше, или 35 лет или старше, или 40 лет или старше, или 45 лет или старше, или 50 лет или старше. В некоторых вариантах осуществления возраст пациента, нуждающегося в лечении, составляет менее 50 лет, или менее 45 лет, или менее 40 лет, или менее 35 лет, или менее 30 лет, или менее 25 лет, или менее 20 лет, или менее 19 лет, или менее 18 лет, или менее 13 лет, или менее 12 лет, или менее 7 лет, или менее 6 лет, или менее 3 лет, или менее 2 лет. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, представляет собой мужчину или женщину возрастом от 2 до 18 лет, или от 2 до 12 лет, или от 2 до 6 лет, или от 6 до 12 лет, или от 6 до 18 лет, или от 12 до 16 лет, или от 2 до 50 лет, или от 6 до 50 лет, или от 12 до 50 лет, или от 18 до 50 лет. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, представляет собой женщину, которая беременна или которая может забеременеть.

[0077] В некоторых вариантах осуществления для лечения выбирают пациента, который имеет мутацию F508del. В некоторых вариантах осуществления для лечения выбирают пациента, который имеет гомозиготную мутацию F508del. В некоторых вариантах осуществления для лечения выбирают пациента, который имеет гетерозиготную мутацию F508del. В некоторых вариантах осуществления для лечения выбирают пациента, который не имеет мутацию F508del.

[0078] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, характеризуется значением хлорида в поте, составляющим ≥ 60 ммоль/л, ≥ 65 ммоль/л, ≥ 70 ммоль/л, ≥ 75 ммоль/л, ≥ 80 ммоль/л, ≥ 85 ммоль/л, ≥ 90 ммоль/л, ≥ 95 ммоль/л, ≥ 100 ммоль/л, ≥ 110 ммоль/л, ≥ 120 ммоль/л, ≥ 130 ммоль/л, ≥ 140 ммоль/л или ≥ 150 ммоль/л по количественному ионтофорезу пилокарпина (зафиксированным в медицинской карте пациента). В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, имеет хроническое синусно-пульмональное заболевание и/или желудочно-кишечные/пищевые аномалии, указывающие на заболевание CF. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, имеет

хроническое синусно-пульмональное заболевание и/или желудочно-кишечные/пищевые аномалии, указывающие на заболевание CF.

[0079] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, характеризуется $FEV_1 \geq 50\%$ и $\leq 90\%$ (*например*, $\leq 85\%$, $\leq 80\%$, $\leq 75\%$, $\leq 70\%$, $\leq 65\%$, $\leq 60\%$ или $\leq 55\%$) прогнозируемой нормы (*т. е.*, среднее FEV пациентов без CF) на основании возраста, пола и роста пациента. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, характеризуется сатурацией кислородом в состоянии покоя $\geq 92\%$ в воздухе помещения (пульсоксиметрия). В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, характеризуется индексом массы тела $\geq 17,5$ кг/м² и массой ≥ 40 кг.

[0080] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, получал или одновременно получает другие лекарственные препараты от CF. Например, пациент, нуждающийся в лечении, может получать комбинированное лекарственное средство лумакафтор/ивакафтор (ORKAMBI®) или, возможно, получал это лечение в течение по меньшей мере 28 суток до начала лечения по настоящему изобретению. Другие лекарственные препараты от CF могут включать без ограничения обычные ингаляционные терапевтические средства, направленные на очищение дыхательных путей и контроль респираторных инфекций, такие как бронходилататоры, rhDNase (PULMOZYME®), гипертонический солевой раствор, антибиотики и стероиды, и другие стандартные терапевтические средства от CF, такие как системные антибиотики, ферменты поджелудочной железы, поливитамины, а также лекарственные препараты от диабета и для печени.

[0081] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, не курил в течение как минимум 2 лет. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, не получает лечение ингаляционной rhDNase (PULMOZYME®) в течение 24 часов до и/или после введения композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок CFTR по настоящему изобретению.

[0082] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, получал лечение или в настоящее время получает лечение заместительной гормональной терапией, заместительной терапией гормонами щитовидной железы, нестероидными противовоспалительными лекарственными средствами и назначенным дронабинолом (MARINOL®) в ходе лечения.

[0083] В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении, прекратил применение одного или нескольких других способов лечения кистозного фиброза, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления пациент прекратил применение одного или нескольких других способов лечения кистозного фиброза за по меньшей мере 12 часов, по меньшей мере 24 часа, по меньшей мере 36 часов, по меньшей мере 48 часов, по меньшей мере 72 часа, по меньшей мере 1 неделю, по меньшей мере 2 недели, по меньшей мере 3 недели, по меньшей мере 4 недели, по меньшей мере 5 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 7 недель или по меньшей мере 8 недель до введения mRNA CFTR по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления пациент прекратил применение одного или нескольких других способов лечения кистозного фиброза за менее чем 12 часов, менее чем 24 часа, менее чем 36 часов, менее чем 48 часов, менее чем 72 часа, менее чем 1 неделю, менее чем 2 недели, менее чем 3 недели, менее чем 4 недели, менее чем 5 недель, менее чем 6 недель, менее чем 7 недель, менее чем 8 недель, менее чем 9 недель или менее чем 10 недель до введения mRNA CFTR по настоящему изобретению.

Состав и введение

[0084] Согласно настоящему изобретению подходящий состав для лечения содержит mRNA, кодирующую любой полноразмерный белок CFTR, фрагмент или часть белка CFTR, которые могут заменять активность встречающегося в природе белка CFTR и/или уменьшать интенсивность, тяжесть и/или частоту одного или нескольких симптомов, связанных с кистозным фиброзом.

В некоторых вариантах осуществления подходящая последовательность mRNA представляет собой последовательность mRNA, кодирующую человеческий белок CFTR (hCFTR). В некоторых вариантах осуществления подходящая последовательность mRNA является кодон-оптимизированной для эффективной экспрессии в человеческих клетках. Иллюстративная кодон-оптимизированная кодирующая mRNA CFTR последовательность и соответствующая аминокислотная последовательность показаны в таблице 2.

Таблица 2. Иллюстративные последовательности mRNA CFTR и белка

Кодон- оптимизир ованная последоват ельность, кодирующа я mRNA CFTR человека	AUGCAACGCUCUCCUCUUGAAAAGGCCUCGGUGGUGUCCAAGCUCUU CUUCUCGUGGACUAGACCCAUCCUGAGAAAGGGGUACAGACAGCGCU UGGAGCUGUCCGAUAUCUAUCAAUCCCUUCCGUGGACUCCGCGGAC AACCUGUCCGAGAAGCUCGAGAGAGAAUGGGACAGAGAACUCGCCUC AAAGAAGAACCCGAAGCUGAUUAAUGCGCUUAGGCGGUGCUUUUUC UGGCGGUUCAUGUUCUACGGCAUCUCCUCUACCUGGGAGAGGUCAC CAAGGCCGUGCAGCCCCUGUUGCUGGGACGGAUUAUUGCCUCCUACG ACCCCGACAACAAGGAAGAAAGAAGCAUCGCUAUCUACUUGGGCAUC GGUCUGUGCCUGCUUUUCAUCGUCCGGACCCUCUUGUUGCAUCCUGC UAUUUUCGGCCUGCAUCACAUUGGCAUGCAGAUGAGAAUUGCCAUG UUUUCCCUGAUCUACAAGAAAACUCUGAAGCUCUCGAGCCGCGUGCU UGACAAGAUUUCCAUCGGCCAGCUCGUGUCCCUGCUCUCCAACAAUC UGAACAAGUUCGACGAGGGCCUCGCCUGGGCCACUUCGUGUGGAUC GCCCCUCUGCAAGUGGCGCUUCUGAUGGGCCUGAUCUGGGAGCUGCU GCAAGCCUCGGCAUUCUGUGGGCUUGGAUUCUGAUCGUGCUGGCAC UGUUC CAGGCCGGACUGGGGCGGAUGAUGAUGAAGUACAGGGACCA GAGAGCCGGAAAGAUUCCGAACGGCUGGUGAUCACUUCGGAAAUG AUCGAAAACAUC CAGUCAGUGAAGGCCUACUGCUGGGAAGAGGCCAU GGAAAAGAU GAUUGAAAACCUC CGCAAACCGAGCUGAAGCUGACCC GCAAGGCCGCUUACGUGCGCUAUUUC AACUCGUCCGCUUUCUUCUUC UCCGGGUUCUUCGUGGUGUUUCUCUCCGUGCUCUUUUACGCCUGAU UAAGGGAAUCAUCCUCAGGAAGAUCUUCACCACCAU UUCUUCUGUA UCGUGCUCCGCAUGGCCGUGACCCGGCAGU UCCCAUGGGCCGUGCAG ACUUGGUACGACUCCCUUGGGAGCCA UUAACAAGAUCCAGGACUCCU UCAAAAGCAGGAGUACAAGACCCUCGAGUACAACCUGACUACUACCG AGGUCGUGAUGGAAAACGUCACCGCCUUUUGGGAGGAGGGAUUUGG CGAACUGUUCGAGAAGGCCAAGCAGAACAAACAACCGCAAGACCU CGAACGGUGACGACUCCCUUCUUCUUUUAACUUCAGCCUGCUCGGG ACGCCCGUGCUGAAGGACA UUAACUUCAAGAUCGAAAGAGGACAGCU CCUGGCCGUGGCCGGAUCGACCGGAGCCGGAAGACU UCCCUGCUGA UGGUGAUCAUGGGAGAGCUUGAACCUAGCGAGGGAAAGAUCAAGCA CUCCGGCCGCAUCAGCUUCUGUAGCCAGU UUCUGGAUCAUGCCCG GAACCAUUAAGGAAAACAUCAUCUUCGGCGUGUCCUACGAUGAAUAC CGCUACCGGUCCGUGAUCAAAGCCUGCCAGCUGGAAGAGGAUAUUUC AAAGUUCGCGGAGAAAGAUACAUCGUGCUGGGCGAAGGGGGUAUU ACCUUGUCGGGGGGCCAGCGGGCUAGAAUCUCGCUGGCCAGAGCCGU GUUAUAGGACGCCGACCUGUAUCUCCUGGACUCCCCCUUCGGAUACC UGGACGUCCUGACCGAAAAGGAGAU CUUCGAAUCGUGCGUGUGCAA GCUGAUGGCUAACAAGACUCGCAUCCUCGUGACCUC CAAAAUGGAGC ACCUGAAGAAGGCAGACAAGAUUCUGAUUCUGCAUGAGGGGUCCUCC UACUUUUACGGCACCUUCUCGGAGUUGCAGAACUUGCAGCCCGACUU CUCAUCGAAGCUGAUGGGUUGCGACAGCUUCGACCAGUUCUCCGCCG
--	--

AAAGAAGGAACUCGAUCCUGACGGAAACCUUGCACCGCUUCUCUUUG
 GAAGGCGACGCCCCUGUGUCAUGGACCGAGACUAAGAAGCAGAGCUU
 CAAGCAGACCGGGGAAUUCGGCGAAAAGAGGAAGAACAGCAUCUUG
 AACCCCAUUAACUCCAUCCGCAAGUUCUCAAUCGUGCAAAAAGACGCC
 ACUGCAGAUGAACGGCAUUGAGGAGGACUCCGACGAACCCCUUGAGA
 GGCGCCUGUCCCUGGUGCCGGACAGCGAGCAGGGAGAAGCCAUCCUG
 CCUCGGAUUUCCGUGAUCUCCACUGGUCCGACGCUCCAAGCCCGGGCG
 GCGGCAGUCCGUGCUGAACCUGAUGACCCACAGCGUGAACCAAGGGCC
 AAAACAUUCACCGCAAGACUACCGCAUCCACCCGGAAAGUGUCCCUG
 GCACCUCAAGCGAAUCUUACCGAGCUCGACAUCUACUCCCGGAGACU
 GUCGCAGGAAACCGGGCUCGAAAUUUCCGAAGAAAUCAACGAGGAG
 GAUCUGAAAGAGUGCUUCUUCGACGAUAUGGAGUCGAUACCCGCCGU
 GACGACUUGGAACACUUAUCUGCGGUACAUCACUGUGCACAAGUCAU
 UGAUCUUCGUGCUGAUUUGGUGCCUGGUGAUUUUCCUGGCCGAGGU
 CGCGGCCUCACUGGUGGUGCUCUGGCUGUUGGGAAACACGCCUCUGC
 AAGACAAGGGAAACUCCACGCACUCGAGAAACAACAGCUAUGCCGUG
 AUUAUCACUUCACCUCUCUUAUUAACGUGUUCUACAUCUACGUCGG
 AGUGGCGGAUACCCUGCUCGCGAUGGGUUUCUUCAGAGGACUGCCGC
 UGGUCCACACCUUGAUCACCGUCAGCAAGAUUCUUCACCACAAGAUG
 UUGCAUAGCGUGCUGCAGGCCCCCAUGUCCACCUC AACACUCUGAA
 GGCCGGAGGCAUUCUGAACAGAUUCUCCAAGGACAUCGCUAUCCUGG
 ACGAUCUCCUGCCGCUUACCAUCUUGACUUCAUCCAGCUGCUGCUG
 AUCGUGAUUGGAGCAAUCGCAGUGGUGGGCGGUGCUGCAGCCUUA
 UUUUCGUGGCCACUGUGCCGGUCAUUGUGGCGUUCAUCAUGCUGCGG
 GCUACUUCUCCAAACCAGCCAGCAGCUGAAGCAACUGGAAUCCGA
 GGGACGAUCCCCCAUCUUCACUCACCUUGUGACGUCGUUGAAGGGAC
 UGUGGACCCUCCGGGCUUUCGGACGGCAGCCCUACUUCGAAACCCUC
 UUCCACAAGGCCCUGAACCUCCACACCGCCAAUUGGUUCCUGUACCU
 GUCCACCCUGCGGUGGUUCCAGAUGCGCAUCGAGAUGAUUUUCGUCA
 UCUUCUUCAUCGCGGUCACAUUAUCAGCAUCCUGACUACCGGAGAG
 GGAGAGGGACGGGUCGGAAUAAUCCUGACCCUCGCCAUGAACAUUAU
 GAGCACCCUGCAGUGGGCAGUGAACAGCUCGAUCGACGUGGACAGCC
 UGAUGCGAAGCGUCAGCCGCGUGUUAAGUUC AUUCGACAUGCCUACU
 GAGGGAAAACCCACUAAGUCCACUAAGCCCUACAAAAAUGGCCAGCU
 GAGCAAGGUCAUGAUAUCGAAAACUCCACGUGAAGAAGGACGAU
 AUUUGGCCCUCCGGAGGUCAAUGACCGUGAAGGACCUGACCGCAAA
 GUACACCGAGGGAGGAAACGCCAUUCUCGAAAACAUCAGCUUCUCCA
 UUUCGCCGGGACAGCGGGUCGGCCUUCUCGGGGCGGACCGGUUCCGGG
 AAGUCAACUCUGCUGUCGGCUUUCUCCGGCUGCUGAAUACCGAGGG
 GGAAAUCCAAAUUGACGGCGUGUCUUGGGAUUCCAUAUCUCUGCAGC
 AGUGGCGGAAGGCCUUCGGCGUGAUCCCCAGAAGGUGUUAUCUUC
 UCGGGUACCUUCCGGAAGAACCUGGAUCCUUAACGAGCAGUGGAGCGA
 CCAAGAAAUCUGGAAGGUCGCCGACGAGGUCGGCCUGCGCUCCGUGA
 UUGAACAAUUCUCCUGGAAAGCUGGACUUCGUGCUCGUCGACGGGGG

	AUGUGUCCUGUCGCACGGACAUAAAGCAGCUCAUGUGCCUCGCACGGU CCGUGCUCUCCAAGGCCAAGAUUCUGCUGCUGGACGAACCUUCGGCC CACCUGGAUCCGGUCACCUACCAGAUCAUCAGGAGGACCCUGAAGCA GGCCUUUGCCGAUUGCACCGUGAUUCUCUGCGAGCACCGCAUCGAGG CCAUGCUGGAGUGCCAGCAGUUCUGGUCaucGAGGAGAACAAGGUC CGCCAAUACGACUCCAUUCAAAGCUCUCCUCAAACGAGCGGUCGCUGUU CAGACAAGCUAUUUCACCGUCCGAUAGAGUGAAGCUCUCCCCGCAUC GGAACAGCUCAAAGUGCAAUUCGAAGCCGCAGAUcGCAGCCUUGAAG GAAGAGACUGAGGAAGAGGUGCAGGACACCCGGCUUUA (SEQ ID NO: 1)
Последовательность белка CFTR человека	MQRSPLEKASVVSKLFFSWTRPILRKGYRQRLELSDIYQIPSVDSADNLSEK LEREWDRELASKKNPKLINALRRCFFWRFMFYGIFLYLGEVTKAVQPLLL GRIIASYDPDNKEERSIAIYLGIGLCLLFIVRTLHHPAIFGLHHIGMQMRIA MFSLIYKKTLLSSRVLDKISIGQLVSLNLSNNLNKFDEGLALAHFVWIAPLQ VALLMGLIWELLQASAFcGLGFLIVLALFQAGLGRMMMkYRDQRAGKIS ERLVITSEMIENIQSVKAYCWEEAMEKMIENLRQTELKLTRKAAYVRYFN SSAFFFSGFFVVFLSVLPYALIKGIILRKIFTTISFCIVLRMAVTRQFPWAVQT WYDSLGAINKIQDFLQKQEYKTLEYNLTTEVVMENVTAfwEEGFGEFELFE KAKQNNNNRKTsNGDDSLFFSNFSLLGTPVLKDINFKIERGQLLAVAGSTG AGKTSLLMVIMGELEPSEGKIKHSGRISFCsQFSWIMPGTIKENIIFGVSYDE YRYRSVIKACQLEEDISKFAEKDNIVLGEGGITLSGGQRARISLARAVYKD ADLYLLDSPFGYLDVLTEKEIFESCvCKLMANKTRILVTSKMEHLKKADKI LILHEGSSYFYGTfSELQNLQPDFSSKLMGCDSFDQfSAERRNSILTETLHR FSLEGDAPVSWTETKKQSFkQTGEFGEKRKNSILNPINSIRKfSIVQKTPLQ MNGIEEDSDEPLERRLSLVPDSEQGEAILPRISVISTGPTLQARRRQSVLNL MTHSVNQGNiHRKTTASTRKVSLAPQANLTEDIYSRRLSQTGLEISEEI NEEDLKECFDDMESIPAVTTWNTYLRyITVHKSLIFVLIWCLVIFLAEVAA SLVVLWLLGNTPLQDKGNSTHSRNNSYAVIITSTSSyYVFYIYVGvADTLL AMGFFRGLPLVHTLITVSKILHHKMLHSVLQAPMSTLNTLKAGGILNRFSK DAILDDLLPLTIFDFIQLLLIVIGAIAVVAVLQPYIFVATVPVIVAFIMLRAY FLQTSQQLKQLESEGRSPiFTHLVTSLKGLWTLRAfGRQPYFETLFHKALN LHTANWFLYLSTLRWFQMRIEMiFViFFIAVTFISILTTGEGEGRVGIILTLa MNIMSTLQWAVNssIDVDSLmRSVSRVFKFIDMPTEGKPTKSTKPYKNGQ LSKVMIIENSHVKKDDIWPSGGQMTVKDLTAkYTEGGNAILENISfSISPGQ RVGLLGRTGSGKSTLLSAFLRLLNTEGEiQIDGVSWDSITLQQWRKAfGVIP QKVFiFSGTFRKNLDPYEQWSDQEIWKVADEVGLRSVIEQfPGKLDFVLVD GGCVLSHGhkQLMCLARSVLSKAKILLDEPSAHLDPVtyQIIRRTLKQAF ADCTVILCEHRIEAMLEcQQFLVIEENKVRQYDSIQKLLNERSLFRQAISPS DRVKLFPHRNssKCKSKPQIAALKEETEEEvQDTRL (SEQ ID NO: 2).

[0085] В одном варианте осуществления кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR включает SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах

осуществления кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR, подходящая для настоящего изобретения, на по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO:1 и кодирует белок CFTR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2.

[0086] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, подходящая для настоящего изобретения, также включает 5'- и 3'-последовательности UTR. Иллюстративные 5'- и 3'-последовательности UTR показаны ниже.

Иллюстративная 5'-последовательность UTR

GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUAGAAGACA
CCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAACGCGGAUUC
CCCGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACG

(SEQ ID NO: 3)

Иллюстративная 3'-последовательность UTR

CGGGUGGCAUCCCUGUGACCCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCCUGGAAGUUGC
CACUCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU

(SEQ ID NO: 4)

или

GGGUGGCAUCCCUGUGACCCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCCUGGAAGUUGCC
ACUCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU

(SEQ ID NO: 5)

[0087] Таким образом, в одном варианте осуществления иллюстративная полноразмерная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR, подходящая для настоящего изобретения, представляет собой

GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUAGAAGACA
CCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAACGCGGAUUC
CCCGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACGAUGCAACGCUCUCCUCUUG
AAAAGGCCUCGGUGGUGUCCAAGCUCUUCUUCUCGUGGACUAGACCCAUCCUG
AGAAAGGGGUACAGACAGCGCUUGGAGCUGUCCGAUAUCUAUCAAUCCCUUC
CGUGGACUCCGCGGACAACCUGUCCGAGAAGCUCGAGAGAGAAUGGGACAGAG
AACUCGCCUCAAGAAGAACCCGAAGCUGAUUAAUGCGCUUAGGCGGUGCUUU

UUCUGGCGGUUCAUGUUCUACGGCAUCUUCCUCUACCUGGGAGAGGGUCACCAA
GGCCGUGCAGCCCCUGUUGCUGGGACGGAUUAUUGCCUCCUACGACCCCGACA
ACAAGGAAGAAAGAAGCAUCGCUAUCUACUUGGGCAUCGGUCUGUGCCUGCUU
UUCAUCGUCCGGACCCUCUUGUUGCAUCCUGCUAUUUUCGGCCUGCAUCACAU
UGGCAUGCAGAUGAGAAUUGCCAUGUUUUCUCCUGAUCUACAAGAAAACUCUGA
AGCUCUCGAGCCGCGUGCUUGACAAGAUUCCAUCGGCCAGCUCGUGUCCUG
CUCUCCAACAAUCUGAACAAGUUCGACGAGGGCCUCGCCCUGGCCCACUUCGU
GUGGAUCGCCCCUCUGCAAGUGGCGCUUCUGAUGGGCCUGAUCUGGGAGCUGC
UGCAAGCCUCGGCAUUCUGUGGGCUUGGAUUCUGAUCGUGCUGGCACUGUUC
CAGGCCGGACUGGGGCGGAUGAUGAUGAAGUACAGGGACCAGAGAGCCGGAAA
GAUUUCCGAACGGCUGGUGAUCACUUCGGAAAUGAUCGAAAACAUCAGUCAG
UGAAGGCCUACUGCUGGGAAGAGGCCAUGGAAAAGAUGAUUGAAAACCUCCGG
CAAACCGAGCUGAAGCUGACCCGCAAGGCCGCUUACGUGCGCUAUUUCAACUC
GUCCGCUUUUCUUCUUCUCCGGGUUCUUCGUGGUGUUUCUCUCCGUGCUCCCCU
ACGCCUGAUUAAGGGAAUCAUCCUCAGGAAGAUCUUCACCACCAUUUCCUUC
UGUAUCGUGCUCCGCAUGGCCGUGACCCGGCAGUUCCCAUGGGCCGUGCAGAC
UUGGUACGACUCCUGGGAGCCAUAACAAGAUCCAGGACUCCUUCAAAAGC
AGGAGUACAAGACCCUCGAGUACAACCUGACUACUACCGAGGUCGUGAUGGAA
AACGUCACCGCCUUUUGGGAGGAGGGAAUUGGCGAACUGUUCGAGAAGGCCAA
GCAGAACACAACAACCGCAAGACCUCGAACGGUGACGACUCCUCUUCUUUU
CAAACUUCAGCCUGCUCGGGACGCCCUGCUGAAGGACAUAACUUCAAGAUC
GAAAGAGGACAGCUCCUGGCGGUGGCCGGAUCGACCGGAGCCGGAAAGACUUC
CCUGCUGAUGGUGAUCAUGGGAGAGCUUGAACCUAGCGAGGGGAAAGAUCAAGC
ACUCCGGCCGCAUCAGCUUCUGUAGCCAGUUUUCUGGAUCAUGCCCGGAACC
AUUAAGGAAAACAUCAUCUUCGGCGUGUCCUACGAUGAAUACCGCUACCGGUC
CGUGAUCAAAGCCUGCCAGCUGGAAGAGGAUAUUUCAAGUUCGCGGAGAAAG
AUAACAUCGUGCUGGGCGAAGGGGGUAUUACCUUGUCGGGGGGCCAGCGGGCU
AGAAUCUCGCUGGCCAGAGCCGUGUAUAAGGACGCCGACCUGUAUCUCCUGGA
CUCCCCCUUCGGAUACCUGGACGUCCUGACCGAAAAGGAGAUCUUCGAAUCGU
GCGUGUGCAAGCUGAUGGCUAACAAGACUCGCAUCCUCGUGACCUCCAAAUG
GAGCACCUGAAGAAGGCAGACAAGAUUCUGAUUCUGCAUGAGGGGUCCUCCUA
CUUUUACGGCACCUUCUCGGAGUUGCAGAACUUGCAGCCCGACUUCUCAUCGA
AGCUGAUGGGUUGCGACAGCUUCGACCAGUUCUCCGCCGAAAGAAGGAACUCG
AUCCUGACGGAAACCUUGCACCGCUUCUCUUUGGAAGGCGACGCCCCUGUGUC

AUGGACCGAGACUAAGAAGCAGAGCUUCAAGCAGACCGGGGAAUUCGGCGAAA
 AGAGGAAGAACAGCAUCUUGAACCCCAUUAACUCCAUCCGCAAGUUCUCAAUC
 GUGCAAAGACGCCACUGCAGAUGAACGGCAUUGAGGAGGACUCCGACGAACC
 CCUUGAGAGGGCGCCUGUCCCUGGUGCCGGACAGCGAGCAGGGAGAAGCCAUCC
 UGCCUCGGAUUUCCGUGAUCUCCACUGGUCCGACGCUCCAAGCCCGGGCGGCGG
 CAGUCCGUGCUGAACCUGAUGACCCACAGCGUGAACCAGGGCCAAAACAUUCA
 CCGCAAGACUACCGCAUCCACCCGGAAAGUGUCCCUGGCACCUCAAGCGAAUC
 UUACCGAGCUCGACAUCUACUCCCGGAGACUGUCGCAGGAAACCGGGCUCGAA
 AUUUCGGAAGAAAUCAACGAGGAGGAUCUGAAAGAGUGCUUCUUCGACGAUUA
 GGAGUCGAUACCCGCCGUGACGACUUGGAACACUUAUCUGCGGUACAUCACUG
 UGCACAAGUCAUUGAUCUUCGUGCUGAUUUGGUGCCUGGUGAUUUUCCUGGCC
 GAGGUCGCGGCCUCACUGGUGGUGCUCUGGCUGUUGGGAAACACGCCUCUGCA
 AGACAAGGGAAACUCCACGCACUCGAGAAACAACAGCUAUGCCGUGAUUAUCA
 CUUCCACCUCUCUUAUACGUGUUCUACAUCUACGUCGGAGUGGCGGAUACC
 CUGCUCGCGAUGGGUUUCUUCAGAGGACUGCCGCUGGUCCACACCUUGAUCAC
 CGUCAGCAAGAUUCUUCACCACAAGAUGUUGCAUAGCGUGCUGCAGGCCCCCA
 UGUCCACCCUCAACACUCUGAAGGCCGGAGGCAUUCUGAACAGAUUCUCCAAG
 GACAUCGCUAUCCUGGACGAUCUCCUGCCGCUUACCAUCUUUGACUUCAUCCA
 GCUGCUGCUGAUCGUGAUUGGAGCAAUCGCAGUGGUGGGCGGUGCUGCAGCCU
 ACAUUUUCGUGGCCACUGUGCCGGUCAUUGUGGGCGUUCAUCAUGCUGCGGGCC
 UACUUCCUCCAAACCAGCCAGCAGCUGAAGCAACUGGAAUCCGAGGGACGAUC
 CCCCAUCUUCACUCACCUUGUGACGUCGUUGAAGGGACUGUGGACCCUCCGGG
 CUUUCGGACGGCAGCCCUACUUCGAAACCCUCUUCACAAAGGCCCUGAACCUC
 ACACCGCCAAUUGGUUCCUGUACCUGUCCACCCUGCGGUGGUUCCAGAUGCGC
 AUCGAGAUGAUUUUCGUCAUCUUCUUCAUCGCGGUCACAUUCAUCAGCAUCCU
 GACUACCGGAGAGGGAGAGGGACGGGUCGGAUAUAUCCUGACCCUCGCCAUGA
 ACAUUAUGAGCACCCUGCAGUGGGCAGUGAACAGCUCGAUCGACGUGGACAGC
 CUGAUGCGAAGCGUCAGCCGCGUGUUAAGUUAUCGACAUGCCUACUGAGGG
 AAAACCCACUAAGUCCACUAAGCCCUACAAAAAUGGCCAGCUGAGCAAGGUCA
 UGAUCAUCGAAAACUCCACGUGAAGAAGGACGAUAUUUGGCCCUCCGGAGGU
 CAAAUGACCGUGAAGGACCUGACCGCAAAGUACACCGAGGGAGGAAACGCCAU
 UCUCGAAAACAUCAGCUUCUCCAUUUCGCCGGGACAGCGGGUCGGCCUUCUCG
 GGCGGACCGGUUCCGGGAAGUCAACUCUGCUGUCGGCUUUCUCCGGCUGCUG
 AAUACCGAGGGGGAAAUCCAAAUUGACGGCGUGUCUUGGGAUUCCAUAUCUCU

GCAGCAGUGGCGGAAGGCCUUCGGCGUGAUCCCCCAGAAGGUGUUCAUCUUCU
 CGGGUACCUUCCGGAAGAACCUGGAUCCUUACGAGCAGUGGAGCGACCAAGAA
 AUCUGGAAGGUCGCCGACGAGGUCGGCCUGCGCUCCGUGAUUGAACAAUUUCC
 UGGAAAGCUGGACUUCGUGCUCGUCGACGGGGGAUGUGUCCUGUCGCACGGAC
 AUAAGCAGCUCAUGUGCCUCGCACGGUCCGUGCUCUCCAAGGCCAAGAUUCUG
 CUGCUGGACGAACCUUCGGCCCCACCUGGAUCCGGUCACCUACCAGAUAUCAG
 GAGGACCCUGAAGCAGGCCUUUGCCGAUUGCACCGUGAUUCUCUGCGAGCACC
 GCAUCGAGGCCAUGCUGGAGUGCCAGCAGUUCCUGGUCAUCGAGGAGAACAAG
 GUCCGCCAAUACGACUCCAUUCAAAAAGCUCCUCAACGAGCGGUUCGUGUUCAG
 ACAAGCUAUUUCACCGUCCGAUAGAGUGAAGCUCUUCCCGCAUCGGAACAGCU
 CAAAGUGCAAAUCGAAGCCGCAGAUCCGAGCCUUGAAGGAAGAGACUGAGGAA
 GAGGUGCAGGACACCCGGCUUUAACGGGUGGCAUCCCUGUGACCCCUCCCCAG
 UGCCUCUCCUGGCCCUGGAAGUUGCCACUCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAA
 UAAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU (SEQ ID NO: 6).

[0088] В других вариантах осуществления иллюстративная полноразмерная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUAGAAGACA
 CCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAACGCGGAUUC
 CCCGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACGAUGCAACGCUCUCCUCUUG
 AAAAGGCCUCGGUGGUGUCCAAGCUCUUCUUCUCUGUGGACUAGACCCAUCCUG
 AGAAAGGGGUACAGACAGCGCUUGGAGCUGUCCGAUAUCUAUCAAUCCCUUC
 CGUGGACUCCGCGGACAACCUGUCCGAGAAGCUCGAGAGAGAAUGGGACAGAG
 AACUCGCCUCAAGAAGAACCCGAAGCUGAUUAAUGCGCUUAGGCGGUGCUUU
 UUCUGGCGGUUCAUGUUCUACGGCAUCUUCUCCUCUACCUGGGAGAGGUCACCAA
 GGCCGUGCAGCCCCUGUUGCUGGGACGGAUUAUUGCCUCCUACGACCCCGACA
 ACAAGGAAGAAAGAAGCAUCGCUAUCUACUUGGGCAUCGGUCUGUGCCUGCUU
 UUCAUCGUCCGGACCCUCUUGUUGCAUCCUGCUAUUUUCGGCCUGCAUCACAU
 UGGCAUGCAGAUGAGAAUUGCCAUGUUUUCUCCUGAUCAACAAGAAAACUCUGA
 AGCUCUCGAGCCGCGUGCUUGACAAGAUUCCAUCGGCCAGCUCGUGUCCCUUG
 CUCUCCAACAAUCUGAACAAGUUCGACGAGGGCCUCGCCCUGGCCCACUUCGU
 GUGGAUCGCCCCUCUGCAAGUGGCGCUUCUGAUGGGCCUGAUCUGGGAGCUGC
 UGCAAGCCUCGGCAUUCUGUGGGCUUGGAUUCUCCUGAUCGUGCUGGCACUGUUC
 CAGGCCGGACUGGGGCGGAUGAUGAUGAAGUACAGGGACCAGAGAGCCGGAAA

GAUUUCCGAACGGCUGGUGAUCACUUCGGAAAUGAUCGAAAACAUCCAGUCAG
UGAAGGCCUACUGCUGGGAAGAGGCCAUGGAAAAGAUGAUUGAAAACCUCCGG
CAAACCGAGCUGAAGCUGACCCGCAAGGCCGCUUACGUGGCGCUAUUUCAACUC
GUCCGCUUUUCUUCUUCUCCGGGUUCUUCGUGGUGUUUCUCUCCGUGCUCCCCU
ACGCCCUGAUUAAGGGAAUCAUCCUCAGGAAGAUCUUCACCACCAUUUCCUUC
UGUAUCGUGCUCCGCAUGGCCGUGACCCGGCAGUUCCCAUGGGCCGUGCAGAC
UUGGUACGACUCCCUGGGAGCCAUAACAAGAUCAGGACUCCUUCAAAAGC
AGGAGUACAAGACCCUCGAGUACAACCUGACUACUACCGAGGUCGUGAUGGAA
AACGUCACCGCCUUUUGGGAGGAGGGAUUUGGCGAACUGUUCGAGAAGGCCAA
GCAGAACAACAACAACCGCAAGACCUCGAACGGUGACGACUCCUCUUCUUUU
CAAACUUCAGCCUGCUCGGGACGCCCCGUGCUGAAGGACAUAACUUCAAGAUC
GAAAGAGGACAGCUCCUGGCGGUGGCCGGAUCGACCGGAGCCGGAAAGACUUC
CCUGCUGAUGGUGAUCAUGGGAGAGCUUGAACCUAGCGAGGGAAAGAUCAAGC
ACUCCGGCCGCAUCAGCUUCUGUAGCCAGUUUUCUGGAUCAUGCCCGGAACC
AUUAAGGAAAACAUCAUCUUCGGCGUGUCCUACGAUGAAUACCGCUACCGGUC
CGUGAUCAAAGCCUGCCAGCUGGAAGAGGAUAUUUCAAGUUCGCGGAGAAAG
AUAACAUCGUGCUGGGCGAAGGGGGUAUUACCUUGUCGGGGGGCCAGCGGGCU
AGAAUCUCGCUGGCCAGAGCCGUGUAUAAGGACGCCGACCUGUAUCUCCUGGA
CUCCCCCUUCGGAUACCUGGACGUCCUGACCGAAAAGGAGAUCUUCGAAUCGU
GCGUGUGCAAGCUGAUGGCUAACAAGACUCGCAUCCUCGUGACCUCCAAAUG
GAGCACCUGAAGAAGGCAGACAAGAUUCUGAUUCUGCAUGAGGGGUCCUCCUA
CUUUUACGGCACCUUCUCGGAGUUGCAGAACUUGCAGCCCGACUUCUCAUCGA
AGCUGAUGGGUUGCGACAGCUUCGACCAGUUCUCCGCCGAAAGAAGGAACUCG
AUCCUGACGGAAACCUUGCACCGCUUCUCUUUGGAAGGCGACGCCCCUGUGUC
AUGGACCGAGACUAAGAAGCAGAGCUUCAAGCAGACCGGGGAAUUCGGCGAAA
AGAGGAAGAACAGCAUCUUGAACCCCAUUAACUCCAUCCGCAAGUUCUCAUC
GUGCAAAGACGCCACUGCAGAUGAACGGCAUUGAGGAGGACUCCGACGAACC
CCUUGAGAGGCGCCUGUCCUGGUGCCGGACAGCGAGCAGGGAGAAGCCAUCC
UGCCUCGGAUUUCCGUGAUCUCCACUGGUCCGACGCUCCAAGCCCGGCGGCGG
CAGUCCGUGCUGAACCUGAUGACCCACAGCGUGAACCAGGGGCCAAAACAUUCA
CCGCAAGACUACCGCAUCCACCCGGAAGUGUCCCUUGGCACCUCAAGCGAAUC
UUACCGAGCUCGACAUCUACUCCCGGAGACUGUCGCAGGAAACCGGGCUCGAA
AUUUCGAAAGAAAUCAACGAGGAGGAUCUGAAAGAGUGCUUCUUCGACGAUAU
GGAGUCGAUACCCGCCGUGACGACUUGGAACACUUAUCUGCGGUACAUCACUG

UGCACAAGUCAUUGAUCUUCGUGCUGAUUUGGUGCCUGGUGAUUUUCCUGGCC
 GAGGUCGCGGCCUCACUGGUGGUGCUCUGGCUGUUGGGAAACACGCCUCUGCA
 AGACAAGGGAAACUCCACGCACUCGAGAAACAACAGCUAUGCCGUGAUUAUCA
 CUUCCACCUCUCUUAUUAACGUGUUCUACAUCUACGUCGGAGUGGCGGAUACC
 CUGCUCGCGAUGGGUUCUUCAGAGGACUGCCGCUGGUCCACACCUUGAUCAC
 CGUCAGCAAGAUUCUUCACCACAAGAUGUUGCAUAGCGUGCUGCAGGCCCCCA
 UGUCCACCCUCAACACUCUGAAGGCCGGAGGCAUUCUGAACAGAUUCUCCAAG
 GACAUCGCUAUCCUGGACGAUCUCCUGCCGCUUACCAUCUUUGACUUAUCCA
 GCUGCUGCUGAUCGUGAUUGGAGCAAUCGCAGUGGUGGCGGUGCUGCAGCCUU
 ACAUUUUCGUGGCCACUGUGCCGGUCAUUGUGGGCGUUAUCAUGCUGCGGGCC
 UACUUCCUCCAAACCAGCCAGCAGCUGAAGCAACUGGAAUCCGAGGGACGAUC
 CCCAUCUUCACUCACCUUGUGACGUCGUUGAAGGGACUGUGGACCCUCCGGG
 CUUUCGGACGGCAGCCCUACUUCGAAACCCUCUUCCACAAGGCCCUGAACCUCC
 ACACCGCCAAUUGGUUCCUGUACCUGUCCACCCUGCGGUGGUUCCAGAUGCGC
 AUCGAGAUGAUUUUCGUCAUCUUCUUAUCGCGGUCACAUUCAUCAGCAUCCU
 GACUACCGGAGAGGGAGAGGGACGGGUCGGAUAAUCCUGACCCUCGCCAUGA
 ACAUUAUGAGCACCCUGCAGUGGGCAGUGAACAGCUCGAUCGACGUGGACAGC
 CUGAUGCGAAGCGUCAGCCGCGUGUUAAGUUAUCGACAUGCCUACUGAGGG
 AAAACCCACUAAGUCCACUAAGCCCUACAAAAAUGGCCAGCUGAGCAAGGUCA
 UGAUCAUCGAAAACUCCACGUGAAGAAGGACGAUAUUUGGCCCUCCGGAGGU
 CAAAUGACCGUGAAGGACCUGACCGCAAAGUACACCGAGGGAGGAAACGCCAU
 UCUCGAAAACAUCAGCUUCUCCAUUUCGCCGGGACAGCGGGUCGGCCUUCUCG
 GGCGGACCGGUUCCGGGAAGUCAACUCUGCUGUCGGCUUUCUCCGGCUGCUG
 AAUACCGAGGGGGGAAAUCCAAAUUGACGGCGUGUCUUGGGAUUCCAUAUCUCU
 GCAGCAGUGGCGGAAGGCCUUCGGCGUGAUCCCCCAGAAGGUGUUAUCUUCU
 CGGGUACCUUCCGGAAGAACCUGGAUCCUUAACGAGCAGUGGAGCGACCAAGAA
 AUCUGGAAGGUCGCCGACGAGGUCGGCCUGCGCUCCGUGAUUGAACAAUUUCC
 UGGAAAGCUGGACUUCGUGCUCGUCGACGGGGGAUGUGUCCUGUCGCACGGAC
 AUAAGCAGCUC AUGUGCCUCGCACGGUCCGUGCUCUCCAAGGCCAAGAUUCUG
 CUGCUGGACGAACCUUCGGCCCACCUGGAUCCGGUACCUACCAGAUAUCAG
 GAGGACCCUGAAGCAGGCCUUUGCCGAUUGCACCGUGAUUCUCUGCGAGCACC
 GCAUCGAGGCCAUGCUGGAGUGCCAGCAGUUCUCCUGGUCAUCGAGGAGAACAAAG
 GUCCGCCAAUACGACUCCAUAUCAAAGCUCCUCAACGAGCGGUUCGUGUUCAG
 ACAAGCUAUUUCACCGUCCGAUAGAGUGAAGCUCUUCUCCGCAUCGGAACAGCU

CAAAGUGCAAAUCGAAGCCGCAGAU CGCAGCCUUGAAGGAAGAGACUGAGGAA
GAGGUGCAGGACACCCGGCUUUAAGGGUGGCAUCCCUUGUGACCCCUCCCCAGU
GCCUCUCCUGGCCCUGGAAGUUGCCACUCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAAU
AAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU (SEQ ID NO: 7).

[0089] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
TCTACCAGATTCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTATGTTTATGGGATCTTCTGTACCTGGGGG
AGGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTGGCCTTCACCAC
ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAGACCCTGA
AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCTTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCTTGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAAGTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTCTG

GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACCTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTCAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTCAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTTACCCACCTGGTGACTTCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTGCGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT

ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
 ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
 TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
 CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
 TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
 TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
 CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTTCGCACGGGC
 AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
 AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
 AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTTCATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAG
 AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
 GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
 TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
 CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
 TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
 CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
 TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
 TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
 GTTTCACATAGGAACCTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
 AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 8).

[0090] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCTGATAT
 CTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCGG
 GAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCCAAGCTTATCAATGCTCTG
 CGCCGCTGCTTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGGA
 GGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGCCGCATCATCGCCAGCTATGAC
 CCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGCT
 TGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG

ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTCAGGCTGGG
CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATTTTCAGAG
CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACCTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT

AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTACCCACCTGGTGACTTCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTTCGCACGGGC
AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
AAGCATTGTTGGGTTCATTCCACAGAAAGTTTTATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAG
AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
TTGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT

GTTTCCACATAGGAACTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (**SEQ ID NO: 9**).

[0091] В еще одном варианте осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
TCTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
AGGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTGGCCTTCACCAC
ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACCTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTCTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT

TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACCTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCAACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTTGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCTCATCTGGTGCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACACACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGACACTGCCAACTGGTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA

TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
 CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
 TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
 TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
 CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTTCGCACGGGC
 AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
 AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
 AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTTCATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAG
 AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
 GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
 TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
 CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
 TTGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
 CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
 TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
 TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
 GTTTCACATAGGAACTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
 AAGGAGGAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 10).

[0092] В еще одном варианте осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
 TCTACCAGATTCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
 GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
 GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
 AGGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
 CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG

CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT

TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGACACTGCCAACTGGTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCAACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTGCGACGGGC
AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTTCATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAG
AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
GTTTCCACATAGGAACCTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 11).

[0093] В еще одном варианте осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
 TCTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
 GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
 GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
 AGGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
 CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
 CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
 CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
 GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
 AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
 AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
 TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
 TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
 CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
 CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
 TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
 ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
 AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
 ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAAGTGGAGCCTT
 CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTCTG
 GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTTATGATGAG
 TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
 TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
 ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC

TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACCTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCTATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTCAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTCAAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTTGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT

TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
 TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
 CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTGCGACGGGC
 AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
 AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
 AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTATCTTCTCTGGCACTTTTCAGAAAG
 AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
 GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAATTTTCCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
 TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
 CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
 TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
 CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
 TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
 TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
 GTTTCACATAGGAACCTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
 AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 12).

[0094] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCAGTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
 TCTACCAGATTCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
 GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
 GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
 AGGTCACCAAAGCTGTTTCAAGCGCTCCTTCTTGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
 CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTCAGGCTGGG
 CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATTTTCAGAG
 CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT

GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCTGCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCCTGGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCTGGTTATTTTCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG

CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCAACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTCGCACGGGC
AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTTCATCTTCTCTGGCACTTTTCAGAAAG
AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
GTTTCCACATAGGAACTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
AAGGAGGAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 13).

[0095] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCTGATAT
CTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCGG
GAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCCAAGCTTATCAATGCTCTG
CGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGGA
GGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGAC
CCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGCT
TGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTTGGCCTTCACCAC
ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACCTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTCTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCCGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC

TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACCTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTTGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAGCCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT

TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
 TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
 CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTGCGACGGGC
 AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
 AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
 AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAG
 AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
 GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
 TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
 CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
 TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
 CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
 TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
 TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
 GTTTCACATAGGAACCTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
 AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (**SEQ ID NO: 14**).

[0096] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-
 оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
 TCTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
 GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
 GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
 AGGTCACCAAAGCTGTTTACGCCGCTCCTTCTTGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
 CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTGGCCTTACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTCAGGCTGGG
 CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
 CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT

GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCTGCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCTTGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCTATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCAGGAAACAGGGCTTGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCTCATCTGGTGCTGGTTATTTTCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACACACAG

CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTCGCACGGGC
AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTTCATCTTCTCTGGCACTTTTCAGAAAG
AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAAATTCCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
GTTTCCACATAGGAACTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
AAGGAGGAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 15).

[0097] В еще одном варианте осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
 TCTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
 GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
 GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
 AGGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
 CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
 CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
 CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
 GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
 AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
 AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
 TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
 TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
 CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
 CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
 TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
 ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
 AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
 ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACCTGGAGCCTT
 CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTCTG
 GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTTATGATGAG
 TACCGCTACCGGTCCGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
 TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
 ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC

TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACCTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTCAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTCAAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAGTCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT

TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
 TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
 CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTTCGCACGGGC
 AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
 AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
 AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTATCTTCTCTGGCACTTTTCAGAAAG
 AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
 GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
 TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
 CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
 TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
 CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
 TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
 TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
 GTTTCCACATAGGAACCTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
 AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (**SEQ ID NO: 16**).

[0098] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-
 оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCAGTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCTGATAT
 CTACCAGATTCCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCGG
 GAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCCAAGCTTATCAATGCTCTG
 CGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGGA
 GGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGAC
 CCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGCT
 TGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
 CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATTTTCAGAG
 CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT

GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
TCACAAGACAGTTCCTGCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCCTGGGGGGCCAT
CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAAATACAAC
CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACTGGAGCCTT
CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTTG
GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTATGATGAG
TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC
TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCTATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCTCATCTGGTGCTGGTTATTTTCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACACACAG

CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGCACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT
TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTCGCACGGGC
AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTTCATCTTCTCTGGCACTTTTCAGAAAG
AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAAATTCCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
GTTTCCACATAGGAACTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
AAGGAGGAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 17).

[0099] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGAAGCCCCCTGGAGAAGGCCTCTGTGGTGAGCAAGCTGTTCTTCAGCT
 GGACCAGACCCATCCTGAGAAAGGGCTACAGACAGAGACTGGAGCTGTCTGACA
 TCTACCAGATCCCCTCTGTGGACTCTGCCGACAACCTGTCTGAGAAGCTGGAGAG
 AGAGTGGGACAGAGAGCTGGCCAGCAAGAAGAACCCCAAGCTGATCAATGCCCT
 GAGAAGATGCTTCTTCTGGAGATTCATGTTCTATGGCATCTTCCTGTACCTGGGAG
 AGGTGACCAAGGCCGTGCAGCCCCTGCTGCTGGGCAGGATCATTGCCAGCTATGA
 CCCTGACAACAAGGAGGAGAGAAGCATTGCCATCTACCTGGGCATTGGCCTGTGC
 CTGCTGTTTATTGTGAGAACCCTGCTGCTGCACCCTGCCATCTTTGGCCTGCACCA
 CATTGGCATGCAGATGAGAATTGCCATGTTTCAGCCTGATCTACAAGAAGACCCTG
 AAGCTGAGCAGCAGAGTGCTGGACAAGATCAGCATTGGCCAGCTGGTGAGCCTG
 CTGAGCAACAACCTGAACAAGTTTGATGAGGGCCTGGCCCTGGCCCACTTTGTGT
 GGATTGCCCCCCTGCAGGTGGCCCTGCTGATGGGCCTGATCTGGGAGCTGCTGCA
 GGCTCTGCCTTCTGTGGCCTGGGCTTCCTGATTGTGCTGGCCCTGTTCCAGGCCG
 GCCTGGGCAGAATGATGATGAAGTACAGAGACCAGAGAGCCGGCAAGATCTCTG
 AGAGACTGGTGATCACCTCTGAGATGATTGAGAACATCCAGTCTGTGAAGGCCTA
 CTGCTGGGAGGAGGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGACAGACAGAGCT
 GAAGCTGACCAGGAAGGCCGCCTATGTGAGATACTTCAACAGCTCTGCCTTCTTC
 TTCTCTGGCTTCTTTGTGGTGTTCTGTCTGTGCTGCCCTATGCCCTGATCAAGGG
 CATCATCCTGAGGAAGATCTTCACCACCATCAGCTTCTGCATTGTGCTGAGGATG
 GCCGTGACCAGGCAGTTCCCCTGGGCCGTGCAGACCTGGTATGACAGCCTGGGGG
 CCATCAACAAGATCCAGGACTTCCTGCAGAAGCAGGAGTACAAGACCCTGGAGT
 ACAACCTGACCACCACAGAGGTGGTGATGGAGAATGTGACAGCCTTCTGGGAGG
 AGGGCTTTGGAGAGCTGTTTGAGAAGGCCAAGCAGAACAACAACAACAGAAAGA
 CCAGCAATGGAGATGACAGCCTGTTCTTCAGCAACTTCAGCCTGCTGGGCACCCC
 TGTGCTGAAGGACATCAACTTCAAGATTGAGAGGGGGCCAGCTGCTGGCCGTGGCC
 GGCAGCACAGGAGCCGGCAAGACCAGCCTGCTGATGGTGATCATGGGAGAGCTG
 GAGCCCTCTGAGGGCAAGATCAAGCACTCTGGCAGAATCAGCTTCTGCAGCCAGT
 TCAGCTGGATCATGCCTGGCACCATCAAGGAGAACATCATCTTTGGGGTGAGCTA
 TGATGAGTACAGGTACAGATCTGTGATCAAGGCCTGCCAGCTGGAGGAGGACAT
 CTCCAAGTTTGCCGAGAAGGACAACATTGTGCTGGGGGAGGGAGGCATCACCT
 GTCTGGGGGCCAGAGAGCCAGAATCAGCCTGGCCAGAGCCGTGTACAAGGATGC

CGACCTGTACCTGCTGGACAGCCCCCTTTGGCTACCTGGATGTGCTGACAGAGAAG
GAGATCTTTGAGAGCTGTGTGTGCAAGCTGATGGCCAACAAGACCAGGATCCTGG
TGACCAGCAAGATGGAGCACCTGAAGAAGGCCGACAAGATCCTGATCCTGCATG
AGGGCAGCAGCTACTTCTATGGCACCTTCTCTGAGCTGCAGAACCTGCAGCCTGA
CTTCAGCAGCAAGCTGATGGGCTGTGACAGCTTTGACCAGTTCTCTGCTGAGAGA
AGAAACAGCATCCTGACAGAGACCCTGCACAGGTTTCAGCCTGGAGGGGGGATGCC
CCTGTGAGCTGGACAGAGACCAAGAAGCAGAGCTTCAAGCAGACAGGAGAGTTT
GGGGAGAAGAGGAAGAACAGCATCCTGAACCCCATCAACAGCATCAGGAAGTTC
AGCATTGTGCAGAAGACCCCCCTGCAGATGAATGGCATTGAGGAGGACTCTGAT
GAGCCCCTGGAGAGAAGACTGAGCCTGGTGCCAGACTCTGAGCAGGGAGAGGCC
ATCCTGCCCAGGATCTCTGTGATCAGCACAGGCCCCACCCTGCAGGCCAGAAGAA
GACAGTCTGTGCTGAACCTGATGACCCACTCTGTGAACCAGGGCCAGAATATCCA
CAGAAAGACCACAGCCAGCACCAGAAAGGTGAGCCTGGCCCCCAGGCCAACCT
GACAGAGCTGGACATCTACAGCAGAAGGCTGAGCCAGGAGACAGGCCTGGAGAT
CTCTGAGGAGATCAATGAGGAGGACCTGAAGGAGTGCTTCTTTGATGACATGGA
GAGCATCCCTGCCGTGACCACCTGGAACACCTACCTGAGATACATCACAGTGCAC
AAGAGCCTGATCTTTGTGCTGATCTGGTGCCCTGGTGATCTTCCTGGCCGAGGTGG
CCGCCAGCCTGGTGGTGCTGTGGCTGCTGGGCAACACCCCCCTGCAGGACAAGGG
CAACAGCACCCACAGCAGAAACAACAGCTATGCTGTGATCATCACCAGCACCAG
CAGCTACTATGTGTTCTACATCTATGTGGGAGTGGCTGACACCCTGCTGGCCATG
GGCTTCTTCAGAGGCCTGCCCCTGGTGACACCCTGATCACAGTGAGCAAGATCC
TGCACCACAAGATGCTGCACTCTGTGCTGCAGGCCCCCATGAGCACCCCTGAACAC
CCTGAAGGCTGGAGGCATCCTGAACAGATTCAGCAAGGACATTGCCATCCTGGAT
GACCTGCTGCCCCTGACCATCTTTGACTTCATCCAGCTGCTGCTGATTGTGATTGG
AGCCATTGCCGTGGTGGCCGTGCTGCAGCCCTACATCTTTGTGGCCACAGTGCCT
GTGATTGTGGCCTTCATCATGCTGAGGGCCTACTTCCTGCAGACCAGCCAGCAGC
TGAAGCAGCTGGAGTCTGAGGGCAGAAGCCCCATCTTCACCCACCTGGTGACCAG
CCTGAAGGGCCTGTGGACCCTGAGGGCCTTTGGCAGACAGCCCTACTTTGAGACC
CTGTTCCACAAGGCCCTGAACCTGCACACAGCCAACCTGGTTCTGTACCTGAGCA
CCCTGAGATGGTTCCAGATGAGGATTGAGATGATCTTTGTGATCTTCTTCATTGCC
GTGACCTTCATCAGCATCCTGACCACAGGGGAGGGCGAGGGCAGAGTGGGCATC
ATCCTGACCCTGGCCATGAACATCATGAGCACCCCTGCAGTGGGCCGTGAACAGCA
GCATTGATGTGGACAGCCTGATGAGATCTGTGAGCAGAGTGTTCAAGTTCATTGA
CATGCCACAGAGGGCAAGCCCACCAAGAGCACCAAGCCCTACAAGAATGGCCA

GCTGAGCAAGGTGATGATCATTGAGAACAGCCATGTGAAGAAGGATGACATCTG
 GCCCTCTGGAGGCCAGATGACAGTGAAGGACCTGACAGCCAAGTACACAGAGGG
 GGGCAATGCCATCCTGGAGAACATCAGCTTCAGCATCAGCCCTGGCCAGAGGGT
 GGGCCTGCTGGGCAGAACAGGCTCTGGCAAGAGCACCCCTGCTGTCTGCCTTCCTG
 AGGCTGCTGAACACAGAGGGAGAGATCCAGATTGATGGGGTGAGCTGGGACAGC
 ATCACCCCTGCAGCAGTGGAGGAAGGCCTTTGGGGTGATCCCCCAGAAGGTGTTCA
 TCTTCTCTGGCACCTTCAGGAAGAACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGTCTGACCA
 GGAGATCTGGAAGGTGGCCGATGAGGTGGGCCTGAGATCTGTGATTGAGCAGTT
 CCCTGGCAAGCTGGACTTTGTGCTGGTGGATGGAGGCTGTGTGCTGAGCCATGGC
 CACAAGCAGCTGATGTGCCTGGCCAGATCTGTGCTGAGCAAGGCCAAGATCCTGC
 TGCTGGATGAGCCCTCTGCCCACCTGGACCCCTGTGACCTACCAGATCATCAGAAG
 AACCCCTGAAGCAGGCCTTTGCCGACTGCACAGTGATCCTGTGTGAGCACAGAATT
 GAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAGTTCCTGGTGATTGAGGAGAACAAGGTGAGG
 CAGTATGACAGCATCCAGAAGCTGCTGAATGAGAGAAGCCTGTTTCAGACAGGCC
 ATCAGCCCCTCTGACAGAGTGAAGCTGTTCCCCCACAGGAACAGCAGCAAGTGC
 AAGAGCAAGCCCCAGATTGCCGCCCTGAAGGAGGAGACAGAGGAGGAGGTGCA
 GGACACCAGACTGTGA (SEQ ID NO: 18).

[0100] В еще одном варианте осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCCCTGGAGAAGGCCAGCGTGGTGAGCAAGCTGTTCTTCAGC
 TGGACCAGGCCCATCCTGAGGAAGGGCTACAGGCAGAGGCTGGAGCTGAGCGAC
 ATCTACCAGATCCCCAGCGTGGACAGCGCCGACAACCTGAGCGAGAAGCTGGAG
 AGGGAGTGGGACAGGGAGCTGGCCAGCAAGAAGAACCCCAAGCTGATCAACGCC
 CTGAGGAGGTGCTTCTTCTGGAGGTTTCATGTTCTACGGCATCTTCCTGTACCTGGG
 CGAGGTGACCAAGGCCGTGCAGCCCCTGCTGCTGGGCAGGATCATCGCCAGCTAC
 GACCCCGACAACAAGGAGGAGAGGAGCATCGCCATCTACCTGGGCATCGGCCTG
 TGCCTGCTGTTCATCGTGAGGACCCTGCTGCTGCACCCCGCCATCTTCGGCCTGCA
 CCACATCGGCATGCAGATGAGGATCGCCATGTTTCAGCCTGATCTACAAGAAGACC
 CTGAAGCTGAGCAGCAGGGTGCTGGACAAGATCAGCATCGGCCAGCTGGTGAGC
 CTGCTGAGCAACAACCTGAACAAGTTCGACGAGGGCCTGGCCCTGGCCCACTTCG
 TGTGGATCGCCCCCTGCAGGTGGCCCTGCTGATGGGCCTGATCTGGGAGCTGCT
 GCAGGCCAGCGCCTTCTGCGGCCTGGGCTTCCTGATCGTGCTGGCCCTGTTCCAG
 GCCGGCCTGGGCAGGATGATGATGAAGTACAGGGACCAGAGGGCCGGCAAGATC

AGCGAGAGGCTGGTGATCACCAGCGAGATGATCGAGAACATCCAGAGCGTGAAG
GCCTACTGCTGGGAGGAGGCCATGGAGAAGATGATCGAGAACCTGAGGCAGACC
GAGCTGAAGCTGACCAGGAAGGCCGCTACGTGAGGTACTTCAACAGCAGCGCC
TTCTTCTTCAGCGGCTTCTTCGTGGTGTTCTTGAGCGTGCTGCCCTACGCCCTGAT
CAAGGGCATCATCCTGAGGAAGATCTTACCACCATCAGCTTCTGCATCGTGCTG
AGGATGGCCGTGACCAGGCAGTTCCCCTGGGCGGTGCAGACCTGGTACGACAGC
CTGGGCGCCATCAACAAGATCCAGGACTTCCTGCAGAAGCAGGAGTACAAGACC
CTGGAGTACAACCTGACCACCACCGAGGTGGTGATGGAGAACGTGACCGCCTTCT
GGGAGGAGGGCTTCGGCGAGCTGTTTCGAGAAGGCCAAGCAGAACACAACAACA
GGAAGACCAGCAACGGCGACGACAGCCTGTTCTTCAGCAACTTCAGCCTGCTGGG
CACCCCCGTGCTGAAGGACATCAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTGCTGGC
CGTGCGCGGCAGCACCGGCGCCGGCAAGACCAGCCTGCTGATGGTGATCATGGG
CGAGCTGGAGCCCAGCGAGGGCAAGATCAAGCACAGCGGCAGGATCAGCTTCTG
CAGCCAGTTCAGCTGGATCATGCCCCGGCACCATCAAGGAGAACATCATCTTCGGC
GTGAGCTACGACGAGTACAGGTACAGGAGCGTGATCAAGGCCTGCCAGCTGGAG
GAGGACATCAGCAAGTTCGCCGAGAAGGACAACATCGTGCTGGGCGAGGGCGGC
ATCACCTGAGCGGCGGCCAGAGGGCCAGGATCAGCCTGGCCAGGGCCGTGTAC
AAGGACGCCGACCTGTACCTGCTGGACAGCCCCTTCGGCTACCTGGACGTGCTGA
CCGAGAAGGAGATCTTCGAGAGCTGCGTGTGCAAGCTGATGGCCAACAAGACCA
GGATCCTGGTGACCAGCAAGATGGAGCACCTGAAGAAGGCCGACAAGATCCTGA
TCCTGCACGAGGGCAGCAGCTACTTCTACGGCACCTTCAGCGAGCTGCAGAACCT
GCAGCCCGACTTCAGCAGCAAGCTGATGGGCTGCGACAGCTTCGACCAGTTCAGC
GCCGAGAGGAGGAACAGCATCCTGACCGAGACCCTGCACAGGTTCAGCCTGGAG
GGCGACGCCCCCGTGAGCTGGACCGAGACCAAGAAGCAGAGCTTCAAGCAGACC
GGCGAGTTCGGCGAGAAGAGGAAGAACAGCATCCTGAACCCCATCAACAGCATC
AGGAAGTTCAGCATCGTGAGAAGACCCCCCTGCAGATGAACGGCATCGAGGAG
GACAGCGACGAGCCCCCTGGAGAGGAGGCTGAGCCTGGTGCCCGACAGCGAGCAG
GGCGAGGCCATCCTGCCAGGATCAGCGTGATCAGCACCGGCCCCACCCTGCAG
GCCAGGAGGAGGCAGAGCGTGCTGAACCTGATGACCCACAGCGTGAACCAGGGC
CAGAACATCCACAGGAAGACCACCGCCAGCACCAAGGTGAGCCTGGCCCCC
CAGGCCAACCTGACCGAGCTGGACATCTACAGCAGGAGGCTGAGCCAGGAGACC
GGCCTGGAGATCAGCGAGGAGATCAACGAGGAGGACCTGAAGGAGTGCTTCTTC
GACGACATGGAGAGCATCCCCGCCGTGACCACCTGGAACACCTACCTGAGGTAC
ATCACCGTGACACAAGAGCCTGATCTTCGTGCTGATCTGGTGCTGGTGATCTTCCT

GGCCGAGGTGGCCGCCAGCCTGGTGGTGCTGTGGCTGCTGGGCAACACCCCCCTG
CAGGACAAGGGCAACAGCACCCACAGCAGGAACAACAGCTACGCCGTGATCATC
ACCAGCACAGCAGCTACTACGTGTTCTACATCTACGTGGGCGTGGCCGACACCC
TGCTGGCCATGGGCTTCTTCAGGGGCCTGCCCCCTGGTGCACACCCTGATCACCGT
GAGCAAGATCCTGCACCACAAGATGCTGCACAGCGTGCTGCAGGCCCCCATGAG
CACCTGAACACCCTGAAGGCCGGCGGCATCCTGAACAGGTTCAGCAAGGACAT
CGCCATCCTGGACGACCTGCTGCCCCCTGACCATCTTCGACTTCATCCAGCTGCTGC
TGATCGTGATCGGCGCCATCGCCGTGGTGGCCGTGCTGCAGCCCTACATCTTCGT
GGCCACCGTGCCCCGTGATCGTGGCCTTCATCATGCTGAGGGCCTACTTCCTGCAG
ACCAGCCAGCAGCTGAAGCAGCTGGAGAGCGAGGGCAGGAGCCCCATCTTCACC
CACCTGGTGACCAGCCTGAAGGGCCTGTGGACCCTGAGGGCCTTCGGCAGGCAG
CCCTACTTCGAGACCCTGTTCCACAAGGCCCTGAACCTGCACACCGCCAACCTGGT
TCCTGTACCTGAGCACCTGAGGTGGTTCCAGATGAGGATCGAGATGATCTTCGT
GATCTTCTTCATCGCCGTGACCTTCATCAGCATCCTGACCACCGGCGAGGGCGAG
GGCAGGGTGGGCATCATCCTGACCCTGGCCATGAACATCATGAGCACCTGCAGT
GGGCCGTGAACAGCAGCATCGACGTGGACAGCCTGATGAGGAGCGTGAGCAGGG
TGTTCAAGTTCATCGACATGCCCACCGAGGGCAAGCCCACCAAGAGCACCAAGC
CCTACAAGAACGGCCAGCTGAGCAAGGTGATGATCATCGAGAACAGCCACGTGA
AGAAGGACGACATCTGGCCCAGCGGCGGCCAGATGACCGTGAAGGACCTGACCG
CCAAGTACACCGAGGGCGGCAACGCCATCCTGGAGAACATCAGCTTCAGCATCA
GCCCCGGCCAGAGGGTGGGCCTGCTGGGCAGGACCGGCAGCGGCAAGAGCACCC
TGCTGAGCGCCTTCCTGAGGCTGCTGAACACCGAGGGCGAGATCCAGATCGACG
GCGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGGAAGGCCTTCGGCGTGA
TCCCCCAGAAGGTGTTTCATCTTCAGCGGCACCTTCAGGAAGAACCTGGACCCCTA
CGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTGGCCGACGAGGTGGGCCTGAG
GAGCGTGATCGAGCAGTTCCCCGGCAAGCTGGACTTCGTGCTGGTGGACGGCGGC
TGCGTGCTGAGCCACGGCCACAAGCAGCTGATGTGCCTGGCCAGGAGCGTGCTG
AGCAAGGCCAAGATCCTGCTGCTGGACGAGCCCAGCGCCCACCTGGACCCCGTG
ACCTACCAGATCATCAGGAGGACCCTGAAGCAGGCCTTCGCCGACTGCACCGTGA
TCCTGTGCGAGCACAGGATCGAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAGTTCCTGGTGAT
CGAGGAGAACAAGGTGAGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGCTGCTGAACGAGA
GGAGCCTGTTTCAGGCAGGCCATCAGCCCCAGCGACAGGGTGAAGCTGTTCCCCCA
CAGGAACAGCAGCAAGTGCAAGAGCAAGCCCCAGATCGCCGCCCTGAAGGAGGA
GACCGAGGAGGAGGTGCAGGACACCAGGCTGTGA (SEQ ID NO: 19).

[0101] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGATCCCCTCTGGAGAAGGCCTCAGTGGTGTCCAAGCTTTTCTTCTCCTG
 GACCAGGCCCATTTTAAGAAAGGGCTACAGGCAGAGACTTGAGCTGTCTGACATC
 TATCAGATCCCTTCTGTGGATTCTGCTGACAATCTTAGTGAAAAATTGGAAAGGG
 AGTGGGACAGAGAGCTGGCAAGTAAAAAGAACCCCAAGCTGATTAATGCCCTGA
 GGCGCTGCTTTTTTTGGAGATTCATGTTCTATGGCATATTCCTCTACCTTGGAGAA
 GTAACCAAAGCTGTACAGCCTCTCCTCCTTGGCAGAATCATTGCCTCCTATGATCC
 TGATAACAAGGAGGAGAGAAGCATAGCCATCTACCTGGGCATTGGGCTGTGCCT
 CTTGTTTATTGTGAGGACCCTTCTCTTGCACCCTGCCATCTTTGGCCTTCATCACAT
 TGGCATGCAAATGAGAATAGCAATGTTTAGTCTTATTTACAAAAAACATTAAAA
 CTCTCTTCCAGGGTGTGGACAAGATCAGTATTGGACAACCTGGTCAGCCTGCTGA
 GCAACAACCTGAACAAGTTTGATGAAGGACTGGCCCTGGCCCACTTTGTCTGGAT
 TGCCCCCCTTCAGGTGGCTCTTTTGATGGGCCTGATCTGGGAACTCCTGCAGGCCT
 CTGCCTTCTGTGGGTAGGCTTCTGATAGTGCTAGCTCTCTTTCAGGCAGGGTTG
 GGTAGAATGATGATGAAGTACAGAGACCAGAGGGCTGGGAAGATATCTGAGAGG
 CTGGTCATTACTTCTGAAATGATAGAAAACATCCAGTCTGTAAAGCTTACTGCT
 GGGAGGAGGCTATGGAAAAGATGATTGAGAACTTGAGGCAAACAGAGCTCAAGC
 TGA CTAGGAAGGCAGCCTATGTCAGGTATTTCAACAGCAGTGCTTTCTTCTTCTCA
 GGCTTTTTTCGTGGTCTTCTTGAGTGTCTGCCCTATGCCCTCATCAAGGGGATAAT
 TTTGAGAAAGATTTTCACTACTATTTCTTTTGCATTGTCCTGAGGATGGCTGTCA
 CCAGGCAATTCCCCTGGGCTGTGCAGACATGGTATGACTCTCTGGGGGGCCATCAA
 CAAAATCCAAGATTTCTCTGCAGAAGCAGGAGTACAAGACCCTGGAATACAACCT
 CACCACCACAGAAGTTGTGATGGAGAATGTGACTGCATTCTGGGAGGAAGGATTT
 GGGGAGCTGTTTGAGAAAGCAAAACAAAACAATAATAACAGGAAAACCAGCAAT
 GGAGATGACTCCCTGTTCTTTTCCAACCTCTCTTTGTTGGGCACCCCTGTCCTGAA
 AGATATAAACTTTAAAATTGAAAGAGGGCAGCTGTTGGCAGTTGCTGGCTCCACA
 GGAGCTGGAAAAACTTCACTACTGATGGTGATCATGGGGGAGTTAGAACCCTCTG
 AAGGGAAAATAAAACATTCTGGGAGGATTAGTTTCTGCAGCCAGTTCAGCTGGAT
 CATGCCTGGGACCATTAAAGAAAATATTATATTTGGAGTGAGCTATGATGAATAT
 AGATATAGGAGTGTCTACAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAAGACATCAGCAAATTT
 GCAGAGAAAGACAACATTGTTCTGGGTGAAGGTGGCATCACCCCTGTCAGGAGGG
 CAAAGGGCCAGGATCAGCTTGGCCAGAGCAGTCTATAAAGATGCTGATCTGTACC

TCCTGGATAGCCCTTTTGGCTATCTGGATGTTTTGACAGAGAAGGAAATTTTTGAG
TCCTGTGTCTGCAAGTTAATGGCAAATAAAACAAGGATACTTGTGACCTCAAAAA
TGGAACACCTGAAGAAGGCTGACAAAATTCTGATCCTGCATGAGGGCAGCAGCT
ACTTTTATGGAACATTTTCTGAACTGCAGAATTTGCAACCAGACTTTTCATCAAAG
CTCATGGGATGTGACAGTTTTGATCAGTTTTCTGCAGAAAGGAGAACTCCATTT
TGACTGAGACCCTGCACAGGTTCAAGTCTGGAGGGGGATGCCCCAGTGAGTTGGAC
TGAGACAAAGAAACAGAGCTTCAAGCAGACTGGAGAGTTTGGAGAAAAGAGGA
AAAACCTCAATTCTCAATCCCATCAATAGCATCAGGAAGTTCAGCATAGTTCAGAA
GACTCCTTTGCAGATGAATGGGATTGAAGAGGACTCAGATGAGCCCCTGGAAAG
GAGACTCTCCTTGGTGCCAGATTCAGAGCAGGGGGAAGCCATACTGCCAAGGAT
CTCTGTGATTTCTACAGGGCCCACCCTCCAAGCAAGAAGGAGACAGTCAGTTTTA
AACCTGATGACCCACTCTGTCAACCAGGGACAGAACATTCATAGAAAGACAACA
GCATCTACAAGAAAAGTTTCACTGGCCCCTCAAGCCAATTTAACTGAACTAGATA
TCTACAGCAGGAGGCTCAGCCAAGAAACAGGCCTGGAGATCTCAGAAGAAATAA
ATGAGGAGGATTTGAAGGAATGCTTCTTTGATGATATGGAGAGCATCCCAGCTGT
CACAACCTGGAACACCTACCTGAGATACATCACAGTGCACAAATCCCTCATCTTT
GTAATTATATGGTGCCTTGTCATCTTCTTAGCTGAGGTGGCTGCTTCCCTGGTGGT
GCTGTGGCTGCTGGGAAACACACCCCTCCAGGATAAAGGGAACTCTACTCACAGC
AGGAACAACAGTTATGCTGTGATCATCACCAGTACCTCCTCCTACTATGTGTTCTA
CATTTATGTTGGAGTTGCAGACACATTGCTTGCCATGGGTTTTTTTTAGAGGACTCC
CCCTGGTGCATACTCTCATCACTGTTTCCAAAATCCTTCACCACAAGATGCTGCAC
AGTGTACTACAGGCTCCCATGAGCACCCCTCAACACTCTTAAAGCAGGAGGAATCT
TGAACAGATTTAGCAAGGACATTGCAATTCTTGATGACCTGCTTCCACTGACCAT
CTTTGACTTCATCCAGCTTCTGCTCATTGTAATTGGTGCCATTGCTGTGGTAGCAG
TGCTCCAGCCATATATTTTTGTGGCCACTGTGCCTGTTATTGTGGCCTTCATTATGT
TGAGAGCCTACTTCCTGCAGACCTCTCAGCAGCTCAAGCAACTTGAAAGTGAGGG
CAGGAGCCCCATATTTACACACTTGGTCACTTCCCTCAAAGGCCTCTGGACACTC
AGAGCTTTTGGAAGACAACCTTATTTTGAAACTCTCTTCCACAAGGCTCTGAATCT
CCACACAGCCAACTGGTTTCTGTATCTTTCAACACTGCGCTGGTTCCAGATGAGG
ATTGAGATGATCTTTGTTATCTTCTTCATAGCTGTTACCTTCATCTCTATTCTGACA
ACTGGTGAGGGGGAAGGGAGAGTAGGCATCATCCTCACACTAGCCATGAACATA
ATGTCTACCTTACAATGGGCCGTGAACAGCTCCATAGATGTGGACAGCCTCATGA
GAAGTGTGTCAAGAGTTTTCAAATTCATTGACATGCCACAGAAGGCAAACCAAC
CAAGAGCACAAAACCCTACAAGAATGGCCAGCTGAGTAAGGTCATGATCATTGA

AAATTCTCATGTGAAGAAGGATGATATTTGGCCCAGTGGGGGCCAGATGACAGTC
 AAGGACCTCACTGCCAAATACACAGAGGGTGGAAATGCTATCCTAGAGAACATC
 TCCTTCTCCATCTCCCCAGGCCAAAGAGTTGGCTTGCTGGGCAGGACTGGCAGTG
 GCAAGTCCACCTTGCTCTCAGCATTTCTCAGGCTTTTAAATACAGAGGGAGAGAT
 TCAAATTGATGGGGTGTCTTGGGATAGTATAACACTTCAACAGTGGAGGAAAGCC
 TTTGGTGTGATTCTCAGAAAGTGTTTATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAAAATCT
 GGACCCCTATGAACAGTGGAGTGACCAGGAAATCTGGAAGGTGGCAGATGAAGT
 GGGCCTAAGATCAGTCATAGAGCAGTTTCCTGGAAAGTTGGATTTTGTGCTTGTA
 GATGGAGGCTGTGTGCTGTCCCATGGCCATAAACAGCTAATGTGCCTGGCTAGGT
 CAGTGCTGAGCAAGGCCAAGATCCTGCTGTTAGATGAGCCTTCAGCCCATCTGGA
 CCCTGTGACATAACCAGATTATCAGAAGAACTCTGAAGCAGGCCTTTGCTGACTGC
 ACTGTCATCCTGTGTGAGCACAGAATTGAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAGTTCC
 TTGTTATAGAAGAGAATAAGGTTAGGCAGTATGACAGCATTTCAGAAACTGCTAA
 ATGAAAGATCTCTCTTCAGGCAAGCTATTTACCATCTGATAGAGTGAACTTTTT
 CCCCACAGAAATTCCTCTAAATGTAAATCTAAGCCCCAGATAGCTGCCTTGAAAG
 AGGAGACTGAAGAAGAAGTCCAGGACACCAGACTGTGA (SEQ ID NO: 20).

[0102] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGATCCCCGCTGGAGAAGGCATCTGTGGTGTCAAACTGTTCTTTAGCT
 GGACAAGGCCCATCCTTAGGAAAGGGTACAGACAGAGGTTGGAGCTGTCAGACA
 TATATCAGATCCCTTCAGTGGACTCTGCAGACAACCTCTCTGAAAAGCTGGAGAG
 GGAATGGGACAGGGAACTGGCCAGCAAAAAAACCTAACTGATTAATGCCCT
 GAGGAGGTGCTTCTTTTGGAGATTCATGTTCTATGGGATCTTCCTTTACCTGGGGG
 AGGTGACTAAAGCTGTTTCAGCCTCTTCTTCTGGGGAGGATTATTGCCTCCTATGAC
 CCAGACAACAAAGAAGAAAGAAGCATAGCCATTTACTTAGGCATAGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATAGTTAGAACCCTCCTACTCCACCCAGCCATCTTTGGTCTCCACCA
 CATAGGTATGCAGATGAGAATAGCAATGTTCTCCTTGATCTACAAGAAGACCCTC
 AAGCTGTCCAGCAGGGTGCTGGACAAGATCTCCATAGGCCAGTTAGTCAGTCTAC
 TGTCCAATAACTTAAATAAGTTTGATGAGGGACTGGCACTGGCACATTTTGTGTG
 GATTGCCCCCTCCAAGTGGCCCTTCTTATGGGCCTTATCTGGGAGCTGTTGCAGG
 CCTCTGCTTTCTGTGGCCTGGGTTTCCTCATAGTCCTAGCCTTATTCCAGGCTGGA
 CTGGGCAGAATGATGATGAAGTATAGGGACCAAAGAGCAGGGAAGATTTCTGAA
 AGGCTGGTTATAACTTCTGAGATGATTGAGAACATTCAGTCAGTGAAAGCTTACT

GCTGGGAAGAAGCTATGGAAAAAATGATTGAAAATCTCAGACAGACTGAATTAA
AGTTGACCAGGAAAGCTGCTTATGTCAGATACTTCAACTCCTCAGCCTTCTTTTTT
TCTGGCTTCTTTGTTGTATTCTTTTCAGTCCTCCCCTATGCCCTGATTAAGGGCATT
ATCTTGAGGAAAATTTTCACAACCATCTCCTTTTGTATTGTCCTCAGGATGGCTGT
TACAAGGCAATTTCTTGGGCTGTGCAAACCTGGTATGATAGCCTTGGAGCAATC
AACAAGATCCAGGATTTCTGCAAAAGCAGGAGTACAAGACATTGGAATACAAC
CTTACCACCACTGAGGTGGTGTGATGGAAAATGTGACTGCCTTCTGGGAGGAGGGGT
TTGGAGAGCTGTTTGAGAAAGCCAAACAGAACAAACAATAGAAAGACCTCTA
ATGGTGATGATTCCCTGTTCTTTTCTAACTTTAGTCTTCTGGGGACCCCAGTTCTG
AAAGATATTAACTTTAAAATTGAAAGGGGACAGTTGCTGGCTGTGGCTGGGTCCA
CTGGGGGCTGGGAAGACAAGCCTGCTCATGGTGATCATGGGAGAGCTGGAACCCA
GTGAAGGAAAGATCAAACACTCAGGCAGGATCTCCTTCTGCAGCCAGTTCTCATG
GATTATGCCAGGCACTATTAAAGAAAATATCATCTTTGGTGTAAGCTATGATGAG
TACAGGTATAGATCTGTAATTAAAGCCTGCCAGCTGGAGGAAGACATCTCTAAGT
TTGCTGAGAAGGATAACATTGTGTTGGGGGAAGGGGGCATCACCTTTTCTGGTG
GCAGAGGGCTAGGATCTCCCTTGCTAGGGCAGTATACAAGGATGCTGACTTGTAC
CTCTTGATAGTCCTTTTGGCTACCTAGATGTGCTGACAGAGAAAGAAATATTTG
AAAGCTGTGTGTGTAAGCTCATGGCTAACAAGACCAGGATCCTGGTCACCAGTAA
AATGGAACACCTCAAAAAAGCAGACAAGATCCTTATTCTCCATGAGGGCTCCTCC
TACTTCTATGGGACCTTCAGTGAGCTGCAGAATCTGCAGCCAGACTTCTCCTCAA
AACTTATGGGCTGTGACTCCTTTGACCAATTCTCTGCAGAAAGAAGGAATAGCAT
ACTGACAGAAACACTGCATAGATTCTCCCTGGAAGGAGATGCCCCAGTGAGTTGG
ACAGAAACCAAAAAGCAGAGCTTCAAGCAGACTGGTGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAGAATTCTATCCTGAACCCCATCAATAGCATCAGGAAATTTAGCATAGTCCAAA
AGACCCCCCTCCAGATGAATGGAATAGAGGAGGATAGTGATGAGCCTCTTGAGA
GAAGGCTGTCCCTGGTTCCAGACAGTGAACAGGGTGAAGCCATTCTTCCGAGGAT
CAGTGTCATCTCCACTGGGCCCACATTGCAGGCCAGAAGAAGACAGTCTGTTCTG
AATTTGATGACACATTCTGTGAATCAAGGCCAGAATATCCATAGAAAAACCACTG
CCAGCACCAAGAAAAGTTTCTCTAGCCCCCAGGCTAACCTGACTGAGTTAGACAT
CTACAGCAGAAGGCTGAGCCAAGAGACTGGCTTGGAATATCTGAGGAGATCAA
TGAGGAGGACCTCAAGGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGTCAATCCCTGCAGTC
ACTACATGGAACACTTACCTAAGGTACATCACAGTTCATAAGAGCCTCATCTTTG
TCCTCATATGGTGTCTGGTCATCTTTTTAGCAGAAGTGGCTGCCAGCCTAGTTGTG
CTGTGGTTACTGGGCAATACACCTCTTCAGGACAAAGGCAATAGCACACACAGCA

GAAACAACCTCCTATGCAGTGATCATCACCTCTACAAGCTCTTACTATGTATTCTAT
ATATATGTGGGAGTGGCAGATACTCTCCTGGCCATGGGATTCTTCAGGGGATTAC
CTCTAGTTCACACATTGATCACAGTGTCAAAAATTCTCCACCACAAGATGTTACA
CAGTGTCTCTGCAAGCCCCAATGTCTACTCTGAACACACTTAAGGCAGGTGGAATT
TTGAATAGGTTTAGCAAGGACATAGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCTCTGACCAT
CTTTGACTTCATCCAGTTACTGCTCATTGTAATTGGAGCCATTGCAGTGGTAGCAG
TCCTACAGCCTTACATTTTTGTGGCTACTGTTCTGTTATTGTGGCCTTCATTATGC
TAAGAGCTTACTTCCTGCAAACAAGCCAACAGTTGAAACAGCTAGAAAGTGAGG
GAAGGTCCCCCATCTTCACCCACCTGGTGACATCACTCAAGGGGCTATGGACTCT
TAGGGCTTTTGGGAGACAGCCGTACTTTGAGACCTTATTCCATAAGGCCCTTAAC
CTCCATACAGCAAACCTGGTTCTTATACCTGAGTACTCTGAGGTGGTTTCAAATGA
GGATTGAAATGATTTTTGTGATCTTCTTCATTGCTGTGACCTTCATCTCAATCTTG
ACCACAGGAGAGGGGGAGGGCAGGGTGGGCATCATACTGACCTTGGCCATGAAC
ATTATGTCAACCCTGCAGTGGGCTGTCAATAGCTCCATTGATGTGGACAGTCTGA
TGAGGAGTGTCTCCAGGGTCTTCAAGTTTATTGACATGCCAACTGAGGGCAAACC
CACCAAAGCACTAAGCCATATAAAAATGGCCAACTGTCCAAAGTGATGATCATT
GAAAATTCACATGTAAAGAAGGATGATATCTGGCCCTCTGGAGGACAGATGACA
GTGAAAGACCTGACTGCCAAGTACACAGAGGGTGGTAATGCCATTCTTGAGAAC
ATTAGTTTCAGTATTTCCCCGGGGCAAAGGGTGGGCCTCCTTGGCAGAACAGGCT
CTGGCAAGAGTACCCTGCTGTCAGCCTTTTTAAGACTGTTGAACACTGAGGGAGA
AATTCAGATTGATGGTGTCTCCTGGGATAGCATCACCTCCAGCAGTGGAGAAAA
GCTTTTGGAGTGATCCCGCAAAGGTTTTTCATCTTTTCAGGCACCTTCCGGAAGA
ACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGTCTGACCAGGAAATATGGAAGGTAGCTGATG
AAGTTGGGCTTAGGTCAGTCATAGAGCAGTTCCCAGGCAAACTGGACTTTGTCCT
GGTGGATGGTGGATGTGTACTGAGTCATGGGCACAAACAGCTGATGTGCCTAGCC
AGGTCTGTGCTCAGCAAGGCAAAGATATTGCTGCTTGATGAACCCAGTGCCCATC
TGGACCCAGTCACATATCAGATCATCAGAAGAACATTGAAGCAGGCCTTTGCTGA
TTGCACAGTTATCCTCTGTGAGCACAGGATTGAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAG
TTTCTGGTGATTGAGGAGAATAAAGTAAGGCAGTATGACTCCATCCAGAAGCTGC
TCAATGAAAGAAGCCTCTTTAGACAAGCTATCTCCCCCTCAGACAGGGTCAAATT
GTTCCCTCACAGAAACAGCAGCAAGTGCAAGAGCAAGCCCCAAATTGCAGCCTT
GAAAGAGGAGACAGAGGAAGAGGTGCAGGACACCAGACTCTGA (SEQ ID NO:
21).

[0103] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGAAGCCCCCTGGAGAAGGCCAGCGTGGTGAGCAAGCTGTTCTTCAGC
TGGACCAGACCCATCCTGAGAAAGGGCTACAGACAGAGACTGGAGCTGAGCGAC
ATCTACCAGATCCCCAGCGTGGACAGCGCCGACAACCTGAGCGAGAAGCTGGAG
AGAGAGTGGGACAGAGAGCTGGCCAGCAAGAAGAACCCCAAGCTGATCAACGCC
CTGAGAAGATGCTTCTTCTGGAGATTCATGTTCTACGGCATCTTCCTGTACCTGGG
CGAGGTGACCAAGGCCGTGCAGCCCCTGCTGCTGGGCAGAATCATCGCCAGCTAC
GACCCCGACAACAAGGAGGAGAGAAGCATCGCCATCTACCTGGGCATCGGCCTG
TGCCTGCTGTTTCATCGTGAGAACCCTGCTGCTGCACCCCGCCATCTTCGGCCTGCA
CCACATCGGCATGCAGATGAGAATCGCCATGTTTCAGCCTGATCTACAAGAAGACC
CTGAAGCTGAGCAGCAGAGTGCTGGACAAGATCAGCATCGGCCAGCTGGTGAGC
CTGCTGAGCAACAACCTGAACAAGTTCGACGAGGGCCTGGCCCTGGCCCACTTCG
TGTGGATCGCCCCCTGCAGGTGGCCCTGCTGATGGGCCTGATCTGGGAGCTGCT
GCAGGCCAGCGCCTTCTGCGGCCTGGGCTTCCTGATCGTGCTGGCCCTGTTCCAG
GCCGGCCTGGGCAGAATGATGATGAAGTACAGAGACCAGAGAGCCGGCAAGATC
AGCGAGAGACTGGTGATCACCAGCGAGATGATCGAGAACATCCAGAGCGTGAAG
GCCTACTGCTGGGAGGAGGCCATGGAGAAGATGATCGAGAACCTGAGACAGACC
GAGCTGAAGCTGACCAGAAAGGCCGCCTACGTGAGATACTTCAACAGCAGCGCC
TTCTTCTTCAGCGGCTTCTTCGTGGTGTTCTGAGCGTGCTGCCCTACGCCCTGAT
CAAGGGCATCATCCTGAGAAAGATCTTCACCACCATCAGCTTCTGCATCGTGCTG
AGAATGGCCGTGACCAGACAGTTCCCCTGGGCGGTGCAGACCTGGTACGACAGC
CTGGGCGCCATCAACAAGATCCAGGACTTCCTGCAGAAGCAGGAGTACAAGACC
CTGGAGTACAACCTGACCACCACCGAGGTGGTGATGGAGAACGTGACCGCCTTCT
GGGAGGAGGGCTTCGGCGAGCTGTTTCGAGAAGGCCAAGCAGAACACAACAACA
GAAAGACCAGCAACGGCGACGACAGCCTGTTCTTCAGCAACTTCAGCCTGCTGGG
CACCCCGTGCTGAAGGACATCAACTTCAAGATCGAGAGAGGCCAGCTGCTGGC
CGTGCGCGGCAGCACCGGCGCCGGCAAGACCAGCCTGCTGATGGTGATCATGGG
CGAGCTGGAGCCCAGCGAGGGCAAGATCAAGCACAGCGGCAGAATCAGCTTCTG
CAGCCAGTTCAGCTGGATCATGCCCCGGCACCATCAAGGAGAACATCATCTTCGGC
GTGAGCTACGACGAGTACAGATACAGAAGCGTGATCAAGGCCTGCCAGCTGGAG
GAGGACATCAGCAAGTTCGCCGAGAAGGACAACATCGTGCTGGGCGAGGGCGGC
ATCACCTGAGCGGCGGCCAGAGAGCCAGAATCAGCCTGGCCAGAGCCGTGTAC

AAGGACGCCGACCTGTACCTGCTGGACAGCCCCTTCGGCTACCTGGACGTGCTGA
CCGAGAAGGAGATCTTCGAGAGCTGCGTGTGCAAGCTGATGGCCAACAAGACCA
GAATCCTGGTGACCAGCAAGATGGAGCACCTGAAGAAGGCCGACAAGATCCTGA
TCCTGCACGAGGGCAGCAGCTACTTCTACGGCACCTTCAGCGAGCTGCAGAACCT
GCAGCCCGACTTCAGCAGCAAGCTGATGGGCTGCGACAGCTTCGACCAGTTCAGC
GCCGAGAGAAGAAACAGCATCCTGACCGAGACCCTGCACAGATTCAGCCTGGAG
GGCGACGCCCCCGTGAGCTGGACCGAGACCAAGAAGCAGAGCTTCAAGCAGACC
GGCGAGTTCGGCGAGAAGAGAAAGAACAGCATCCTGAACCCCATCAACAGCATC
AGAAAGTTCAGCATCGTGCAGAAGACCCCCCTGCAGATGAACGGCATCGAGGAG
GACAGCGACGAGCCCCTGGAGAGAAGACTGAGCCTGGTGCCCGACAGCGAGCAG
GGCGAGGCCATCCTGCCCAGAATCAGCGTGATCAGCACCGGCCCCACCCTGCAG
GCCAGAAGAAGACAGAGCGTGCTGAACCTGATGACCCACAGCGTGAACCAGGGC
CAGAACATCCACAGAAAGACCACCGCCAGCACCCAGAAAGGTGAGCCTGGCCCCC
CAGGCCAACCTGACCGAGCTGGACATCTACAGCAGAAGACTGAGCCAGGAGACC
GGCCTGGAGATCAGCGAGGAGATCAACGAGGAGGACCTGAAGGAGTGCTTCTTC
GACGACATGGAGAGCATCCCCGCCGTGACCACCTGGAACACCTACCTGAGATAC
ATCACCGTGACACAAGAGCCTGATCTTCGTGCTGATCTGGTGCTGGTGATCTTCCT
GGCCGAGGTGGCCGCCAGCCTGGTGGTGCTGTGGCTGCTGGGCAACACCCCCCTG
CAGGACAAGGGCAACAGCACCCACAGCAGAAACAACAGCTACGCCGTGATCATC
ACCAGCACCCAGCAGCTACTACGTGTTCTACATCTACGTGGGCGTGGCCGACACCC
TGCTGGCCATGGGCTTCTTCAGAGGCCTGCCCCTGGTGCACACCCTGATCACCGT
GAGCAAGATCCTGCACCACAAGATGCTGCACAGCGTGCTGCAGGCCCCCATGAG
CACCTGAACACCCTGAAGGCCGGCGGCATCCTGAACAGATTCAGCAAGGACAT
CGCCATCCTGGACGACCTGCTGCCCCTGACCATCTTCGACTTCATCCAGCTGCTGC
TGATCGTGATCGGCGCCATCGCCGTGGTGGCCGTGCTGCAGCCCTACATCTTCGT
GGCCACCGTGCCCGTGATCGTGGCCTTCATCATGCTGAGAGCCTACTTCCTGCAG
ACCAGCCAGCAGCTGAAGCAGCTGGAGAGCGAGGGCAGAAGCCCCATCTTCACC
CACCTGGTGACCAGCCTGAAGGGCCTGTGGACCCTGAGAGCCTTCGGCAGACAG
CCCTACTTCGAGACCCTGTTCCACAAGGCCCTGAACCTGCACACCGCCAACTGGT
TCCTGTACCTGAGCACCTGAGATGGTTCCAGATGAGAATCGAGATGATCTTCGT
GATCTTCTTCATCGCCGTGACCTTCATCAGCATCCTGACCACCGGCGAGGGCGAG
GGCAGAGTGGGCATCATCCTGACCCTGGCCATGAACATCATGAGCACCTGCAGT
GGGCCGTGAACAGCAGCATCGACGTGGACAGCCTGATGAGAAGCGTGAGCAGAG
TGTTCAAGTTCATCGACATGCCCACCGAGGGCAAGCCCACCAAGAGCACCAAGC

CCTACAAGAACGGCCAGCTGAGCAAGGTGATGATCATCGAGAACAGCCACGTGA
 AGAAGGACGACATCTGGCCCAGCGGCGGCCAGATGACCGTGAAGGACCTGACCG
 CCAAGTACACCGAGGGCGGCAACGCCATCCTGGAGAACATCAGCTTCAGCATCA
 GCCCCGGCCAGAGAGTGGGCCTGCTGGGCAGAACCGGCAGCGGCAAGAGCACCC
 TGCTGAGCGCCTTCCTGAGACTGCTGAACACCGAGGGCGAGATCCAGATCGACG
 GCGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAAAGGCCTTCGGCGTGA
 TCCCCCAGAAGGTGTTTCATCTTCAGCGGCACCTTCAGAAAGAACCTGGACCCCTA
 CGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTGGCCGACGAGGTGGGCCTGAG
 AAGCGTGATCGAGCAGTTCCCCGGCAAGCTGGACTTCGTGCTGGTGGACGGCGGC
 TCGGTGCTGAGCCACGGCCACAAGCAGCTGATGTGCCTGGCCAGAAGCGTGCTG
 AGCAAGGCCAAGATCCTGCTGCTGGACGAGCCCAGCGCCCACCTGGACCCCGTG
 ACCTACCAGATCATCAGAAGAACCCTGAAGCAGGCCTTCGCCGACTGCACCGTGA
 TCCTGTGCGAGCACAGAATCGAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAGTTCCTGGTGAT
 CGAGGAGAACAAGGTGAGACAGTACGACAGCATCCAGAAGCTGCTGAACGAGA
 GAAGCCTGTTTCAGACAGGCCATCAGCCCCAGCGACAGAGTGAAGCTGTTCCCCCA
 CAGAAACAGCAGCAAGTGCAAGAGCAAGCCCCAGATCGCCGCCCTGAAGGAGGA
 GACCGAGGAGGAGGTGCAGGACACCAGACTGTGA (SEQ ID NO: 22).

[0104] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGCGCAGCCCCCTGGAGAAGGCCAGCGTGGTGAGCAAGCTGTTCTTCAGCT
 GGACCCGCCCCATCCTGCGCAAGGGCTACCGCCAGCGCCTGGAGCTGAGCGACA
 TCTACCAGATCCCCAGCGTGGACAGCGCCGACAACCTGAGCGAGAAGCTGGAGC
 GCGAGTGGGACCGCGAGCTGGCCAGCAAGAAGAACCCCAAGCTGATCAACGCCC
 TCGCGCCGCTGCTTCTTCTGGCGCTTCATGTTCTACGGCATCTTCCTGTACCTGGGC
 GAGGTGACCAAGGCCGTGCAGCCCCTGCTGCTGGGCCGCATCATCGCCAGCTACG
 ACCCCGACAACAAGGAGGAGCGCAGCATCGCCATCTACCTGGGCATCGGCCTGT
 GCCTGCTGTTTCATCGTGCGCACCTGCTGCTGCACCCCGCCATCTTCGGCCTGCAC
 CACATCGGCATGCAGATGCGCATCGCCATGTTTCAGCCTGATCTACAAGAAGACCC
 TGAAGCTGAGCAGCCGCGTGCTGGACAAGATCAGCATCGGCCAGCTGGTGAGCC
 TGCTGAGCAACAACCTGAACAAGTTCGACGAGGGCCTGGCCCTGGCCCACTTCGT
 GTGGATCGCCCCCTGCAGGTGGCCCTGCTGATGGGCCTGATCTGGGAGCTGCTG
 CAGGCCAGCGCCTTCTGCGGCCTGGGCTTCCTGATCGTGCTGGCCCTGTTCCAGG
 CCGGCCTGGGCCGCATGATGATGAAGTACCGCGACCAGCGCGCCGGCAAGATCA

GCGAGCGCCTGGTGATCACCAGCGAGATGATCGAGAACATCCAGAGCGTGAAGG
CCTACTGCTGGGAGGAGGCCATGGAGAAGATGATCGAGAACCTGCGCCAGACCG
AGCTGAAGCTGACCCGCAAGGCCGCCTACGTGCGCTACTTCAACAGCAGCGCCTT
CTTCTTCAGCGGCTTCTTCGTGGTGTTCCTGAGCGTGCTGCCCTACGCCCTGATCA
AGGGCATCATCCTGCGCAAGATCTTCACCACCATCAGCTTCTGCATCGTGCTGCG
CATGGCCGTGACCCGCCAGTTCCCCTGGGCCGTGCAGACCTGGTACGACAGCCTG
GGCGCCATCAACAAGATCCAGGACTTCCTGCAGAAGCAGGAGTACAAGACCCTG
GAGTACAACCTGACCACCACCGAGGTGGTGTGATGGAGAACGTGACCGCCTTCTGG
GAGGAGGGCTTCGGCGAGCTGTTCGAGAAGGCCAAGCAGAACAAACAACCCG
AAGACCAGCAACGGCGACGACAGCCTGTTCTTCAGCAACTTCAGCCTGCTGGGCA
CCCCCGTGCTGAAGGACATCAACTTCAAGATCGAGCGCGGCCAGCTGCTGGCCGT
GGCCGGCAGCACCGGCGCCGGCAAGACCAGCCTGCTGATGGTGTGATCATGGGCGA
GCTGGAGCCCAGCGAGGGCAAGATCAAGCACAGCGGCCGCATCAGCTTCTGCAG
CCAGTTCAGCTGGATCATGCCCCGGCACCATCAAGGAGAACATCATCTTCGGCGTG
AGCTACGACGAGTACCGCTACCGCAGCGTGATCAAGGCCTGCCAGCTGGAGGAG
GACATCAGCAAGTTCGCCGAGAAGGACAACATCGTGCTGGGCGAGGGCGGCATC
ACCCTGAGCGGCGGCCAGCGCGCCCGCATCAGCCTGGCCCGCGCCGTGTACAAG
GACGCCGACCTGTACCTGCTGGACAGCCCCTTCGGCTACCTGGACGTGCTGACCG
AGAAGGAGATCTTCGAGAGCTGCGTGTGCAAGCTGATGGCCAACAAGACCCGCA
TCCTGGTGACCAGCAAGATGGAGCACCTGAAGAAGGCCGACAAGATCCTGATCC
TGCACGAGGGCAGCAGCTACTTCTACGGCACCTTCAGCGAGCTGCAGAACCTGCA
GCCCCGACTTCAGCAGCAAGCTGATGGGCTGCGACAGCTTCGACCAGTTCAGCGCC
GAGCGCCGCAACAGCATCCTGACCGAGACCCTGCACCGCTTCAGCCTGGAGGGC
GACGCCCCCGTGAGCTGGACCGAGACCAAGAAGCAGAGCTTCAAGCAGACCGGC
GAGTTCGGCGAGAAGCGCAAGAACAGCATCCTGAACCCCATCAACAGCATCCGC
AAGTTCAGCATCGTGCAAGAACCCCCCTGCAGATGAACGGCATCGAGGAGGAC
AGCGACGAGCCCCTGGAGCGCCGCCTGAGCCTGGTGCCCGACAGCGAGCAGGGC
GAGGCCATCCTGCCCCGCATCAGCGTGATCAGCACCGGCCCCACCCTGCAGGCCC
GCCGCCGCCAGAGCGTGCTGAACCTGATGACCCACAGCGTGAACCAGGGGCCAGA
ACATCCACCGCAAGACCACCGCCAGCACCCGCAAGGTGAGCCTGGCCCCCAGG
CCAACCTGACCGAGCTGGACATCTACAGCCGCCGCCTGAGCCAGGAGACCGGCC
TGGAGATCAGCGAGGAGATCAACGAGGAGGACCTGAAGGAGTGCTTCTTCGACG
ACATGGAGAGCATCCCCGCCGTGACCACCTGGAACACCTACCTGCGCTACATCAC
CGTGCAACAAGAGCCTGATCTTCGTGCTGATCTGGTGCCTGGTGTGATCTTCCTGGCCG

AGGTGGCCGCCAGCCTGGTGGTGCTGTGGCTGCTGGGCAACACCCCCCTGCAGGA
CAAGGGCAACAGCACCCACAGCCGCAACAACAGCTACGCCGTGATCATCACCAG
CACCAGCAGCTACTACGTGTTCTACATCTACGTGGGCGTGGCCGACACCCTGCTG
GCCATGGGCTTCTTCCGCGGCCTGCCCCTGGTGCACACCCTGATCACCGTGAGCA
AGATCCTGCACCACAAGATGCTGCACAGCGTGCTGCAGGCCCCCATGAGCACCCCT
GAACACCCTGAAGGCCGGCGGCATCCTGAACCGCTTCAGCAAGGACATCGCCAT
CCTGGACGACCTGCTGCCCCTGACCATCTTCGACTTCATCCAGCTGCTGCTGATCG
TGATCGGCGCCATCGCCGTGGTGGCCGTGCTGCAGCCCTACATCTTCGTGGCCAC
CGTGCCCGTGATCGTGGCCTTCATCATGCTGCGCGCCTACTTCCTGCAGACCAGCC
AGCAGCTGAAGCAGCTGGAGAGCGAGGGCCGCAGCCCCATCTTCACCCACCTGG
TGACCAGCCTGAAGGGCCTGTGGACCCTGCGCGCCTTCGGCCGCCAGCCCTACTT
CGAGACCCTGTTCCACAAGGCCCTGAACCTGCACACCGCCAACCTGGTTCCTGTAC
CTGAGCACCCCTGCGCTGGTTCAGATGCGCATCGAGATGATCTTCGTGATCTTCTT
CATCGCCGTGACCTTCATCAGCATCCTGACCACCGGCGAGGGCGAGGGCCGCGTG
GGCATCATCCTGACCCTGGCCATGAACATCATGAGCACCCCTGCAGTGGGCCGTGA
ACAGCAGCATCGACGTGGACAGCCTGATGCGCAGCGTGAGCCGCGTGTTCAAGTT
CATCGACATGCCCACCGAGGGCAAGCCCACCAAGAGCACCAAGCCCTACAAGAA
CGGCCAGCTGAGCAAGGTGATGATCATCGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGACGA
CATCTGGCCCAGCGGCGGCCAGATGACCGTGAAAGGACCTGACCGCCAAGTACAC
CGAGGGCGGCAACGCCATCCTGGAGAACATCAGCTTCAGCATCAGCCCCGGCCA
GCGCGTGGGCCTGCTGGGCCGCACCGGCAGCGGCAAGAGCACCCCTGCTGAGCGC
CTTCCTGCGCCTGCTGAACACCGAGGGCGAGATCCAGATCGACGGCGTGAGCTGG
GACAGCATCACCCCTGCAGCAGTGGCGCAAGGCCTTCGGCGTGATCCCCCAGAAG
GTGTTTCATCTTCAGCGGCACCTTCCGCAAGAACCTGGACCCCTACGAGCAGTGGA
GCGACCAGGAGATCTGGAAGGTGGCCGACGAGGTGGGCCTGCGCAGCGTGATCG
AGCAGTTCCCCGGCAAGCTGGACTTCGTGCTGGTGGACGGCGGCTGCGTGCTGAG
CCACGGCCACAAGCAGCTGATGTGCCTGGCCCCGACGCGTGCTGAGCAAGGCCAA
GATCCTGCTGCTGGACGAGCCCAGCGCCCACCTGGACCCCGTGACCTACCAGATC
ATCCGCCGCACCCTGAAGCAGGCCTTCGCCGACTGCACCGTGATCCTGTGCGAGC
ACCGCATCGAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAGTTCCTGGTGATCGAGGAGAACA
AGGTGCGCCAGTACGACAGCATCCAGAAGCTGCTGAACGAGCGCAGCCTGTTCC
GCCAGGCCATCAGCCCCAGCGACCGCGTGAAAGCTGTTCCCCCACC GCAACAGCA
GCAAGTGCAAGAGCAAGCCCCAGATCGCCGCCCTGAAGGAGGAGACCGAGGAG
GAGGTGCAGGACACCCGCCTGTAA (SEQ ID NO: 23).

[0105] В еще одном варианте осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGAAGCCCCCTGGAGAAGGCCAGCGTGGTGAGCAAGCTGTTCTTCAGC
TGGACCAGACCCATCCTGAGAAAGGGCTACAGACAGAGACTGGAGCTGAGCGAC
ATCTACCAGATCCCCAGCGTGGACAGCGCCGACAACCTGAGCGAGAAGCTGGAG
AGAGAGTGGGACAGAGAGCTGGCCAGCAAGAAGAACCCCAAGCTGATCAACGCC
CTGAGAAGATGCTTCTTCTGGAGATTCATGTTCTACGGCATCTTCCTGTACCTGGG
CGAGGTGACCAAGGCCGTGCAGCCCCTGCTGCTGGGCAGAATCATCGCCAGCTAC
GACCCCGACAACAAGGAGGAGAGAAGCATCGCCATCTACCTGGGCATCGGCCTG
TGCCTGCTGTTTCATCGTGAGAACCCTGCTGCTGCACCCCGCCATCTTCGGCCTGCA
CCACATCGGCATGCAGATGAGAATCGCCATGTTTCAGCCTGATCTACAAGAAGACC
CTGAAGCTGAGCAGCAGAGTGCTGGACAAGATCAGCATCGGCCAGCTGGTGAGC
CTGCTGAGCAACAACCTGAACAAGTTCGACGAGGGCCTGGCCCTGGCCCACTTCG
TGTGGATCGCCCCCTGCAGGTGGCCCTGCTGATGGGCCTGATCTGGGAGCTGCT
GCAGGCCAGCGCCTTCTGCGGCCTGGGCTTCCTGATCGTGCTGGCCCTGTTCCAG
GCCGGCCTGGGCAGAATGATGATGAAGTACAGGGACCAGAGAGCCGGCAAGATC
AGCGAGAGACTGGTGATCACCAGCGAGATGATCGAGAACATCCAGAGCGTGAAG
GCCTACTGCTGGGAGGAGGCCATGGAGAAGATGATCGAGAACCTGAGACAGACC
GAGCTGAAGCTGACCAGAAAGGCCGCCTACGTGAGATACTTCAACAGCAGCGCC
TTCTTCTTCAGCGGCTTCTTCGTGGTGTTCTGAGCGTGCTGCCCTACGCCCTGAT
CAAGGGCATCATCCTGAGAAAGATCTTCACCACCATCAGCTTCTGCATCGTGCTG
AGAATGGCCGTGACCAGACAGTTCCCCTGGGCGGTGCAGACCTGGTACGACAGC
CTGGGCGCCATCAACAAGATCCAGGACTTCCTGCAGAAGCAGGAGTACAAGACC
CTGGAGTACAACCTGACCACCACCGAGGTGGTGATGGAGAACGTGACCGCCTTCT
GGGAGGAGGGCTTCGGCGAGCTGTTTCGAGAAGGCCAAGCAGAACACAACAACA
GAAAGACCAGCAACGGCGACGACAGCCTGTTCTTCAGCAACTTCAGCCTGCTGGG
CACCCCGTGCTGAAGGACATCAACTTCAAGATCGAGAGAGGCCAGCTGCTGGC
CGTGCGCGGCAGCACCGGCGCCGGCAAGACCAGCCTGCTGATGGTGATCATGGG
CGAGCTGGAGCCCAGCGAGGGCAAGATCAAGCACAGCGGCAGAATCAGCTTCTG
CAGCCAGTTCAGCTGGATCATGCCCCGGCACCATCAAGGAGAACATCATCTTCGGC
GTGAGCTACGACGAGTACAGATACAGAAGCGTGATCAAGGCCTGCCAGCTGGAG
GAGGACATCAGCAAGTTCGCCGAGAAGGACAACATCGTGCTGGGCGAGGGCGGC
ATCACCTGAGCGGCGGCCAGAGAGCCAGAATCAGCCTGGCCAGAGCCGTGTAC

AAGGACGCCGACCTGTACCTGCTGGACAGCCCCTTCGGCTACCTGGACGTGCTGA
CCGAGAAGGAGATCTTCGAGAGCTGCGTGTGCAAGCTGATGGCCAACAAGACCA
GAATCCTGGTGACCAGCAAGATGGAGCACCTGAAGAAGGCCGACAAGATCCTGA
TCCTGCACGAGGGCAGCAGCTACTTCTACGGCACCTTCAGCGAGCTGCAGAACCT
GCAGCCCGACTTCAGCAGCAAGCTGATGGGCTGCGACAGCTTCGACCAGTTCAGC
GCCGAGAGAAGAAACAGCATCCTGACCGAGACCCTGCACAGATTCAGCCTGGAG
GGCGACGCCCCCGTGAGCTGGACCGAGACCAAGAAGCAGAGCTTCAAGCAGACC
GGCGAGTTCGGCGAGAAGAGAAAGAACAGCATCCTGAACCCCATCAACAGCATC
AGAAAGTTCAGCATCGTGCAGAAGACCCCCCTGCAGATGAACGGCATCGAGGAG
GACAGCGACGAGCCCCTGGAGAGAAGACTGAGCCTGGTGCCCGACAGCGAGCAG
GGCGAGGCCATCCTGCCCAGAATCAGCGTGATCAGCACCGGCCCCACCCTGCAG
GCCAGAAGAAGACAGAGCGTGCTGAACCTGATGACCCACAGCGTGAACCAGGGC
CAGAACATCCACAGAAAGACCACCGCCAGCACCCAGAAAGGTGAGCCTGGCCCCC
CAGGCCAACCTGACCGAGCTGGACATCTACAGCAGAAGACTGAGCCAGGAGACC
GGCCTGGAGATCAGCGAGGAGATCAACGAGGAGGACCTGAAGGAGTGCTTCTTC
GACGACATGGAGAGCATCCCCGCCGTGACCACCTGGAACACCTACCTGAGATAC
ATCACCGTGACACAAGAGCCTGATCTTCGTGCTGATCTGGTGCTGGTGATCTTCCT
GGCCGAGGTGGCCGCCAGCCTGGTGGTGCTGTGGCTGCTGGGCAACACCCCCCTG
CAGGACAAGGGCAACAGCACCCACAGCAGAAACAACAGCTACGCCGTGATCATC
ACCAGCACCCAGCAGCTACTACGTGTTCTACATCTACGTGGGCGTGGCCGACACCC
TGCTGGCCATGGGCTTCTTCAGAGGCCTGCCCCTGGTGCACACCCTGATCACCGT
GAGCAAGATCCTGCACCACAAGATGCTGCACAGCGTGCTGCAGGCCCCCATGAG
CACCTGAACACCCTGAAGGCCGGCGGCATCCTGAACAGATTCAGCAAGGACAT
CGCCATCCTGGACGACCTGCTGCCCCTGACCATCTTCGACTTCATCCAGCTGCTGC
TGATCGTGATCGGCGCCATCGCCGTGGTGGCCGTGCTGCAGCCCTACATCTTCGT
GGCCACCGTGCCCGTGATCGTGGCCTTCATCATGCTGAGAGCCTACTTCCTGCAG
ACCAGCCAGCAGCTGAAGCAGCTGGAGAGCGAGGGCAGGAGCCCCATCTTCACC
CACCTGGTGACCAGCCTGAAGGGCCTGTGGACCCTGAGAGCCTTCGGCAGACAG
CCCTACTTCGAGACCCTGTTCCACAAGGCCCTGAACCTGCACACCGCCAACTGGT
TCCTGTACCTGAGCACCTGAGATGGTTCCAGATGAGAATCGAGATGATCTTCGT
GATCTTCTTCATCGCCGTGACCTTCATCAGCATCCTGACCACCGGCGAGGGCGAG
GGCAGAGTGGGCATCATCCTGACCCTGGCCATGAACATCATGAGCACCTGCAGT
GGGCCGTGAACAGCAGCATCGACGTGGACAGCCTGATGAGAAGCGTGAGCAGAG
TGTTCAAGTTCATCGACATGCCCACCGAGGGCAAGCCCACCAAGAGCACCAAGC

CCTACAAGAACGGCCAGCTGAGCAAGGTGATGATCATCGAGAACAGCCACGTGA
 AGAAGGACGACATCTGGCCCAGCGGCGGCCAGATGACCGTGAAGGACCTGACCG
 CCAAGTACACCGAGGGCGGCAACGCCATCCTGGAGAACATCAGCTTCAGCATCA
 GCCCCGGCCAGAGAGTGGGCCTGCTGGGCAGAACCGGCAGCGGCAAGAGCACCC
 TGCTGAGCGCCTTCCTGAGACTGCTGAACACCGAGGGCGAGATCCAGATCGACG
 GCGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAAAGGCCTTCGGCGTGA
 TCCCCCAGAAGGTGTTTCATCTTCAGCGGCACCTTCAGAAAGAACCTGGACCCCTA
 CGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTGGCCGACGAGGTGGGCCTGAG
 AAGCGTGATCGAGCAGTTCCCCGGCAAGCTGGACTTCGTGCTGGTGGACGGCGGC
 TCGGTGCTGAGCCACGGCCACAAGCAGCTGATGTGCCTGGCCAGAAGCGTGCTG
 AGCAAGGCCAAGATCCTGCTGCTGGACGAGCCCAGCGCCCACCTGGACCCCGTG
 ACCTACCAGATCATCAGAAGAACCCTGAAGCAGGCCTTCGCCGACTGCACCGTGA
 TCCTGTGCGAGCACAGAATCGAGGCCATGCTGGAGTGCCAGCAGTTCCTGGTGAT
 CGAGGAGAACAAGGTGAGACAGTACGACAGCATCCAGAAGCTGCTGAACGAGA
 GAAGCCTGTTTCAGACAGGCCATCAGCCCCAGCGACAGAGTGAAGCTGTTCCCCCA
 CAGAAACAGCAGCAAGTGCAAGAGCAAGCCCCAGATCGCCGCCCTGAAGGAGGA
 GACCGAGGAGGAGGTGCAGGACACCAGACTGTGA (SEQ ID NO: 24).

[0106] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGTCACCTCTGGAAAAGGCTAGCGTGGTCAGCAAGCTATTTTTTTCCT
 GGACCCGCCCCGATACTCAGGAAGGGCTACCGACAGCGGCTGGAGCTGAGTGACA
 TTTATCAGATTCCCTCCGTTCGATTCCGCTGACAACCTGTCTGAGAACTGGAGCG
 GGAATGGGATAGGGAAGTGGCGTCCAAAAAAACCCCAAACCTCATCAATGCACT
 CCGCAGATGCTTCTTCTGGCGGTTTATGTTTTATGGCATATTCCTGTATCTGGGGG
 AGGTGACGAAAGCCGTGCAGCCGCTGCTGCTTGGTCGCATTATCGCGTCATACGA
 TCCAGATAACAAGGAGGAAAGAAGTATCGCTATCTATCTCGGGATAGGGCTGTG
 CCTGCTCTTCATTGTGCGGACTCTTCTCTTGCACCCCGCCATTTTCGGTCTGCATCA
 TATAGGTATGCAGATGAGAATTGCGATGTTCTCATTGATTTACAAAAAACGCTT
 AAGCTAAGTTCAAGGGTGCTAGATAAGATATCGATCGGCCAGCTGGTGTCTCTGC
 TTAGCAACAACCTCAATAAATTCGACGAAGGCCTTGCCTGGCCACTTCGTGTG
 GATCGCCCCTCTGCAGGTGGCTCTGCTGATGGGGTTAATATGGGAGCTGTTGCAG
 GCCTCCGCTTTTTGTGGCCTGGGGTTTCTCATCGTGTTGGCCTTGTTTCAGGCAGG
 GCTGGGACGTATGATGATGAAATATAGGGATCAGAGGGCTGGCAAATCTCTGA

GCGCCTGGTTATTACGAGTGAAATGATTGAGAACATCCAGTCAGTGAAGGCCTAT
TGCTGGGAGGAGGCCATGGAAAAAATGATTGAGAACCTACGCCAGACTGAGCTG
AAGTTAACCAGAAAAGCCGCCTATGTGCGCTACTTTAACAGTAGCGCATT TTTCT
TCTCCGGTTTTTTTCGTGGTGTTTCTTAGTGTGTTGCCGTATGCCTTAATCAAGGGA
ATAATACTCCGGAAGATTTTCACTACCATCAGCTTCTGTATCGTGTTGCGGATGGC
CGTCACCCGGCAGTTTCCCTGGGCAGTACAGACTTGGTACGATTCTCTCGGAGCA
ATTAACAAAATCCAAGACTTTCTACAAAAGCAGGAGTACAAGACCCTGGAGTAC
AATCTGACCACCACAGAAGTCGTAATGGAGAATGTAAGTGCCTTCTGGGAAGAG
GGCTTTGGCGAACTCTTTGAAAAGGCCAAGCAGAACATAACAACCGGAAGACC
TCCAACGGGGACGACAGCTTATTTTTTCAGCAATTTTTCTTTGCTCGGGACCCCTGT
ACTGAAAGATATTAAGTTCGAGCGCGGACAACCTCGGCTGTCGCCGGC
AGCACTGGAGCTGGAAAAACATCACTGCTTATGGTGATAATGGGAGAACTCGAA
CCAAGCGAGGGAAAAATAAGCACTCTGGACGGATTAGTTTTTGCTCCCAGTTCT
CGTGGATAATGCCTGGCACCATTAAGGAGAATATCATCTTTGGAGTGAGTTACGA
CGAATACCGGTACCGGTCCGTTATCAAGGCTTGTCAACTCGAGGAGGACATTTCT
AAATTCGCCGAAAAAGATAATATAGTGCTGGGCGAAGGAGGCATTACACTGAGC
GGGGGTCAGAGAGCTCGAATTAGCCTCGCCCGAGCAGTCTATAAAGACGCCGAT
CTTTACCTGCTGGATTCCCTTTTGGGTATTTGGATGTTCTGACAGAGAAGGAAAT
CTTTGAATCATGTGTCTGTAACTGATGGCCAATAAGACTAGGATTCTAGTGACT
TCGAAAATGGAGCACCTGAAAAAAGCGGACAAAATTCTGATACTCCATGAAGGG
TCTTCCTACTTCTACGGCACCTTCTCAGAGTTGCAGAACTTACAACCTGATTTTTC
ATCTAAGCTTATGGGGTGCGACTCGTTTGACCAGTTCTCCGCTGAAAGACGAAAC
AGCATCTTAACGGAACTCTTCACAGGTTCTCATTAGAGGGAGATGCGCCGGTGT
CCTGGACAGAGACAAAAAACAGTCTTTCAAACAGACAGGAGAGTTTGGCGAGA
AGAGAAAAAACTCAATCCTCAATCCCATCAATTCTATTAGAAAGTTTAGCATCGT
CCAAAAAACACCATTCAGATGAATGGGATTGAGGAGGACAGTGATGAGCCTTT
GGAACGAAGACTGTCCCTGGTACCCGATAGCGAACAGGGTGAGGCCATCCTTCCT
AGGATCTCGGTCATAAGTACAGGGCCCACACTGCAGGCCAGGCGACGTCAAAGT
GTCCTCAATCTTATGACGCACAGTGTGAATCAGGGGCAGAACATCCATCGTAAGA
CGACAGCTTCAACTCGAAAGGTCAGTCTAGCTCCACAAGCCAATCTTACAGAGCT
GGACATTTATTCCCGCCGCCTCAGTCAGGAGACCGGATTGGAAATATCAGAGGAA
ATTAATGAAGAGGATCTGAAGGAATGCTTCTTTGATGACATGGAATCGATCCCCG
CTGTTACTACCTGGAACACATATCTGAGATATATTACCGTCCATAAGAGCTTAAT
CTTTGTACTGATATGGTGCTTGGTGATTTTCCTGGCAGAGGTTGCGGCGAGTTTGG

TCGTGCTATGGCTCCTTGGAACACTCCCCTGCAGGATAAGGGGAAGTCCACTCA
TAGCAGGAATAACAGCTATGCCGTGATCATCACCTCTACCTCCTCTTATTACGTGT
TTTACATATACGTCGGTGTTGCGGATACCCTGTTGGCAATGGGGTTCTTTAGAGG
ACTACCCCTAGTTCACACCCTGATCACCGTTTCGAAGATCTTGCACCACAAGATG
CTTCATAGCGTTCTCCAAGCTCCTATGAGCACCCCTTAATACTGAAAGCAGGAG
GTATCCTTAACCGCTTTTCCAAAGACATCGCTATACTCGACGATTTGCTCCCATTG
ACCATCTTCGACTTCATTCAGCTGCTCCTCATTGTGATCGGCGCCATTGCCGTGGT
CGCAGTGTTACAGCCATATATTTTCGTAGCCACCGTGCCCGTCATCGTGGCATTTA
TCATGCTGCGCGCATATTTCTTACAGACATCTCAGCAACTGAAGCAGCTGGAATC
TGAGGGCAGATCTCCTATTTTTACACACCTGGTTACCAGCCTGAAGGGCCTGTGG
ACCCTGCGTGCTTTCGGTCGCCAACCCCTACTTTGAGACTCTCTTCCATAAGGCTCT
GAATTTACATACTGCCAATTGGTTCCTATACCTTAGTACCCTTCGGTGGTTCCAGA
TGCGGATAGAAATGATCTTCGTGATTTTCTTCATCGCAGTCACTTTCATCTCTATT
TTGACGACCGGTGAGGGCGAGGGCAGGGTGGGCATCATTCTGACTTTGGCCATGA
ACATTATGTCAACACTCCAGTGGGGCGTTAATTCAAGCATTGATGTGGATTCTTG
ATGCGTTCCGTCAGCAGGGTATTTAAATTCATAGACATGCCACCGAGGGCAAGC
CAACAAAATCTACCAAGCCATACAAAAATGGCCAACTAAGCAAGGTCATGATTA
TCGAGAATTCTCATGTGAAAAAGGACGACATTTGGCCTTCCGGGGGTCAAATGAC
TGTAAGGACCTGACGGCTAAATACACTGAGGGCGGTAATGCTATCTTGAGAA
CATCTCTTTCAGCATCTCCCCTGGCCAGAGAGTGGGACTGCTCGGGCGGACAGGC
TCCGGAAAGTCTACGCTCCTTTCAGCATTCTTAGACTTCTGAACACCGAAGGTG
AGATTGAGATTGACGGGGTCTCTTGGGACTCCATCACACTTCAGCAATGGAGGAA
GGCATTCCGGTGTAATCCCCCAAAGGTTTTTATCTTCTCCGGAACATTTGTAAGA
ATCTGGACCCGTACGAGCAGTGGTCAGATCAGGAGATCTGGAAAGTAGCAGACG
AGGTCGGGCTACGGAGCGTTATTGAACAGTTTCCTGGCAAAGTGGACTTCGTTTT
GGTGGACGGAGGCTGTGTGCTGAGTCACGGCCATAAACAAGTATGTGCTTAGCT
AGGTCTGTTCTCAGCAAGGCAAAGATTTTACTGCTGGATGAACCAAGCGCCCACC
TTGATCCAGTGACATATCAAATCATCAGAAGAACTCTTAAACAGGCGTTCCCGA
CTGCACAGTGATCCTGTGTGAGCACAGAATAGAAGCCATGCTGGAATGTCAACA
GTTTCTCGTGATTGAGGAGAACAAAGGTGCGCCAGTACGATAGCATCCAGAAGTTA
CTCAATGAAAGGTCACCTTTCAGGCAGGCCATCTCACCCAGCGACCGCGTTAAGC
TGTTTCCACACCGAAACAGTTCCAAGTGCAAAAGTAAGCCACAGATTGCTGCACT
GAAGGAAGAGACAGAAGAAGAAGTTCAGGACACTCGGCTCTGA (SEQ ID NO:
25).

[0107] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAGAGGAGCCCACTGGAGAAAGCCTCCGTGGTGAGTAAACTCTTTTTTAGTT
 GGACCAGACCCATCCTGCGAAAAGGATACAGGCAGCGCCTCGAGTTGTCAGATA
 TCTACCAGATTCTTCTGTGGACTCAGCTGACAATTTGAGTGAGAAGCTGGAGCG
 GGAGTGGGATAGAGAGCTGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCTTATCAATGCTCT
 GCGCCGCTGCTTTTTCTGGAGGTTTCATGTTTTATGGGATCTTCCTGTACCTGGGGG
 AGGTCACCAAAGCTGTTTCAGCCGCTCCTTCTTGGCCGCATCATCGCCAGCTATGA
 CCCTGATAATAAAGAAGAAAGGTCTATTGCTATTTATCTGGGAATTGGCCTCTGC
 TTGCTCTTCATCGTCCGCACCCTTCTGCTGCACCCTGCCATTTTTGGCCTTCACCAC
 ATCGGCATGCAAATGAGAATTGCCATGTTCTCCCTCATTTACAAAAAGACCCTGA
 AACTTTCCTCAAGAGTGTTAGATAAAATATCCATTGGTCAGCTGGTCAGCCTGCT
 GTCCAACAATCTTAACAAATTTGATGAAGGCTTGGCGCTGGCCCACTTCGTGTGG
 ATTGCACCTCTGCAGGTGGCCCTGTTGATGGGACTTATATGGGAGCTGCTTCAAG
 CCTCTGCTTTCTGTGGGCTGGGCTTTTTGATTGTACTGGCACTTTTTTCAGGCTGGG
 CTCGGAAGAATGATGATGAAATACAGAGATCAGCGGGCCGGGAAGATATCAGAG
 CGACTTGTGATCACCAGTGAAATGATTGAAAATATTCAGAGCGTGAAAGCCTACT
 GCTGGGAAGAAGCCATGGAGAAGATGATTGAGAACCTGAGGCAGACAGAGCTCA
 AGCTCACTCGGAAGGCTGCTTATGTTTCGCTATTTCAACAGCAGCGCCTTCTTCTTC
 AGTGGCTTCTTTGTTGTCTTCCTGTCTGTTCTGCCATATGCACTGATAAAAGGCAT
 TATTTTACGAAAGATCTTCACCACCATCAGTTTTTGCATCGTTCTCAGGATGGCCG
 TCACAAGACAGTTCCCCTGGGCTGTGCAGACCTGGTACGATTCCTTGGGGGGCCAT
 CAACAAGATTCAAGATTTCTTGCAAAAACAAGAATATAAACTTTAGAATACAAC
 CTCACCACCACTGAAGTGGTCATGGAAAATGTGACAGCCTTTTGGGAGGAGGGTT
 TTGGAGAATTGTTTCGAGAAGGCCAAAGCAGAATAACAACAACAGGAAGACGAGCA
 ATGGGGACGACTCTCTCTTCTTCAGCAACTTTTCACTGCTCGGGACCCCTGTGTTG
 AAAGATATAAACTTCAAGATCGAGAGGGGCCAGCTCTTGGCTGTGGCAGGCTCC
 ACTGGAGCTGGTAAAACATCTCTTCTCATGGTGATCATGGGGGAACCTGGAGCCTT
 CCGAAGGAAAAATCAAGCACAGTGGGAGAATCTCATTCTGCAGCCAGTTTTCTCTG
 GATCATGCCCCGGCACCATTAAGGAAAACATCATATTTGGAGTGTCTTATGATGAG
 TACCGCTACCGGTCAGTCATCAAAGCCTGTCAGTTGGAGGAGGACATCTCCAAGT
 TTGCAGAGAAAGACAACATTGTGCTTGGAGAGGGGGGTATCACTCTTTCTGGAGG
 ACAAAGAGCCAGGATCTCTTTGGCCCGGGCAGTCTACAAGGATGCAGACCTCTAC

TTGTTGGACAGTCCCTTCGGCTACCTCGACGTGCTGACTGAAAAAGAAATTTTTG
AAAGCTGTGTGTGCAAACCTGATGGCAAACAAGACCAGGATTCTTGTCACCAGCA
AGATGGAACATCTGAAGAAAGCGGACAAAATTCTGATTCTGCATGAAGGGAGCT
CCTACTTCTATGGAACATTTAGCGAGCTTCAGAACCTACAGCCAGACTTCTCCTCC
AAATTAATGGGCTGTGACTCCTTCGACCAGTTCTCTGCAGAAAGAAGAACTCTA
TACTCACAGAGACCCTCCACCGCTTCTCCCTTGAGGGAGATGCCCCAGTTTCTTGG
ACAGAAACCAAGAAGCAGTCCTTTAAGCAGACTGGCGAGTTTGGTGAAAAGAGG
AAAAATTCAATTCTCAATCCAATTAACAGTATTCGCAAGTTCAGCATTGTCCAGA
AGACACCCCTCCAGATGAATGGCATCGAAGAAGATAGTGACGAGCCGCTGGAGA
GACGGCTGAGTCTGGTGCCAGATTGAGAACAGGGGGAGGCCATCCTGCCCCGGA
TCAGCGTCATTTCCACAGGCCCCACATTACAAGCACGGCGCCGGCAGAGTGTTTT
AAATCTCATGACCCATTGAGTGAACCAGGGCCAAAATATCCACAGGAAGACTAC
AGCTTCTACCCGGAAAGTGTCTCTGGCCCCCTCAGGCCAATCTGACCGAGCTGGAC
ATCTACAGCAGGAGGCTCTCCCAGGAAACAGGGCTGGAAATATCTGAAGAGATT
AATGAAGAGGATCTTAAAGAGTGCTTCTTTGATGACATGGAGAGCATCCCCGCGG
TGACCACATGGAACACCTACCTTAGATATATTACTGTCCACAAGAGCCTCATATT
TGTCCTCATCTGGTGCCTGGTTATTTTCCTCGCTGAGGTGGCGGCCAGTCTTGTTG
TGCTCTGGCTGCTGGGCAACACTCCTCTCCAGGACAAGGGCAATAGTACTCACAG
CAGAAATAATTCTTATGCCGTCATCATTACAAGCACCTCCAGCTACTACGTGTTCT
ACATCTATGTGGGCGTGGCTGACACCCTCCTGGCCATGGGTTTCTTCCGGGGCCT
GCCTTTGGTGCACACCCTCATCACAGTGTCAAAAATTCTGCACCATAAAATGCTT
CATTCTGTCCTGCAGGCACCCATGAGCACTTTGAACACATTGAAGGCTGGCGGCA
TCCTCAACAGATTTTCTAAAGATATTGCTATCCTGGATGATCTCCTCCCCCTGACA
ATCTTTGACTTTATCCAGCTTCTGCTGATCGTGATTGGAGCCATAGCAGTGGTTGC
TGTCCTGCAGCCCTACATTTTTGTGGCCACCGTGCCCGTGATTGTTGCCTTTATTA
TGCTCAGAGCTTACTTCCTGCAAACCTTCTCAACAGCTCAAACAGCTAGAATCTGA
GGGCCGGAGCCCCATTTTACCCACCTGGTGACTTCCCTGAAGGGACTGTGGACT
CTGAGAGCATTTCGGGCGACAGCCTTACTTTGAGACACTGTTCCACAAGGCCCTGA
ACTTGACACTGCCAACTGGTTTTCTTTACCTGAGCACACTCCGCTGGTTCCAGATG
CGGATAGAGATGATCTTCGTCATCTTTTTTATAGCTGTAACCTTCATTTCTATCCTT
ACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGTGGGAATCATCCTCACGCTGGCTATGAAC
ATAATGTCCACCTTGCAGTGGGCCGTGAATTCCAGTATAGATGTGGATTCTCTAA
TGAGGAGTGTCTCCCGGGTGTTTAAATTCATTGATATGCCTACTGAGGGGAAACC
CACCAAGTCAACAAAACCTTATAAGAATGGACAGCTGAGCAAGGTGATGATAAT

TGAGAACAGCCACGTGAAGAAGGATGACATTTGGCCCAGCGGGGGCCAGATGAC
 TGTGAAGGACCTGACGGCCAAGTACACCGAAGGTGGAAATGCCATTTTGGAAAA
 CATCAGCTTCTCAATCTCTCCTGGGCAGAGAGTTGGATTGCTGGGTTCGCACGGGC
 AGCGGCAAATCAACCCTGCTCAGTGCCTTCCTTCGGCTCCTGAATACAGAAGGCG
 AAATCCAAATTGACGGGGTGAGCTGGGACAGCATCACCTGCAGCAGTGGAGAA
 AAGCATTTGGGGTCATTCCACAGAAAGTTTTATCTTCTCTGGCACTTTCAGAAAG
 AACCTGGACCCCTATGAGCAGTGGAGCGACCAGGAGATCTGGAAGGTTGCAGAT
 GAAGTTGGCCTGCGGAGTGTGATAGAACAAATTTCTGGCAAGCTGGATTTTGTGC
 TGGTAGATGGAGGCTGCGTGCTGTCCACGGCCACAAACAGCTGATGTGCCTCGC
 CCGCTCCGTTCTTTCAAAGGCCAAAATCTTGCTTTTGGATGAGCCCAGTGCTCACC
 TCGACCCAGTGACCTATCAGATAATCCGCAGGACCTTAAAGCAAGCTTTTGCCGA
 CTGCACCGTCATACTGTGTGAGCACCGGATTGAAGCAATGCTGGAATGCCAGCAG
 TTTCTGGTGATCGAGGAGAATAAGGTCCGGCAGTACGACAGCATCCAGAAGTTGT
 TGAATGAGCGCAGCCTTTTCCGCCAGGCCATCTCCCCATCTGACAGAGTCAAGCT
 GTTTCACATAGGAACCTCCTCTAAGTGCAAGTCCAAGCCCCAGATCGCTGCCCTC
 AAGGAGGAAACTGAGGAAGAGGTGCAGGATACCCGCCTGTGA (SEQ ID NO: 26).

[0108] В других вариантах осуществления иллюстративная кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR представляет собой

ATGCAACGGAGTCCTCTGGAAAAAGCCTCTGTCGTATCTAAGCTTTTCTTCAGTTG
 GACACGCCCCGATTTTGAGAAAGGGTTATCGGCAACGCTTGGAACCTAGTGACATC
 TACCAAATTCCAAGTGTAGACTCAGCCGATAACTTGAGCGAAAAGCTCGAACGA
 GAGTGGGATCGAGAACTGGCTAGCAAAAAAAATCCCAAACCTCATAAATGCCCTG
 CGACGCTGTTTCTTTTGGCGATTTATGTTTTACGGTATTTTCCTTTATTTGGGTGAG
 GTCACGAAGGCTGTACAGCCACTGCTGCTGGGTTCGCATCATTGCCTCTTACGACC
 CTGACAACAAAGAGGAGCGGTCAATAGCTATCTACCTTGGTATAGGACTTTGCTT
 GCTCTTCATAGTCCGCACGTTGCTTCTCCACCCTGCTATATTTGGTCTCCATCACA
 TTGGGATGCAAATGCGGATCGCGATGTTCAAGTCTTATATATAAAAAGACTCTTAA
 ACTTTCCAGCCGGGTTCTGGATAAGATCTCTATTGGTCAACTGGTATCTCTTTTGT
 CTAACAACCTGAATAAGTTCGACGAGGGCCTTGCAATTGGCCCATTTTGTATGGAT
 TGCCCCCTTTGCAAGTCGCCCTCCTGATGGGATTGATCTGGGAACTCCTGCAAGCT
 AGTGCTTTTTGCGGATTGGGATTCTCATAGTCCTTGCGCTCTTTCAGGCGGGACT
 TGGACGCATGATGATGAAGTATCGCGACCAACGAGCTGGCAAGATCAGTGAACG
 GCTTGTAATAACCAGTGAAATGATAGAGAACATCCAGAGCGTAAAAGCTTACTGT

TGGGAAGAAGCGATGGAAAAGATGATTGAGAACCTTCGCCAGACAGAACTTAAA
CTTACACGAAAGGCCGCTTATGTCCGGTACTTCAACTCTTCAGCATTTTTTTTTTAG
TGGCTTCTTTGTAGTGTTCCCTGTCCGTCCTTCCGTATGCACTTATCAAGGGTATAA
TACTTAGGAAAATCTTCACAACAATCAGTTTTTGCATAGTCCTTCGCATGGCAGTA
ACTCGCCAATTTCCCTGGGCAGTTCAGACGTGGTACGACTCACTTGGCGCAATTA
ACAAAATTCAAGATTTCTTCCAAAAGCAAGAGTATAAAACCTTGGAATACAACCT
TACCACCACAGAAGTTGTAATGGAAAATGTCACAGCCTTCTGGGAGGAAGGTTTC
GGCGAACTTTTTGAGAAGGCGAAGCAAAATAACAATAATCGGAAAACATCAAAC
GGTGACGATTCACTGTTCTTTTCTAACTTTAGCCTTCTTGGGACGCCCCGTCCTGAA
GGACATAAACTTTAAGATTGAACGGGGTCAACTTCTCGCGGTCGCAGGGAGTACT
GGAGCGGGGAAAACGAGCCTGCTGATGGTGATAATGGGGGAGTTGGAGCCCTCA
GAAGGCAAGATCAAGCATAGTGGTAGAATTAGCTTCTGCAGTCAATTTAGTTGGA
TTATGCCGGGCACGATCAAAGAAAATATAATCTTTGGGGTATCCTACGATGAATA
CAGGTACCGATCAGTGATAAAAGCGTGCCAGCTTGAAGAAGACATTTCAAAGTTT
GCTGAGAAGGATAATATCGTACTTGGAGAAGGAGGTATCACCTGTCTGGGGGTC
AACGAGCGAGGATCTCCCTGGCACGCGCCGTCTACAAGGACGCGGACCTCTATCT
GTTGGATTCACCGTTCGGATATTTGGACGTGCTTACGGAGAAAGAAATATTTGAG
AGCTGTGTTTGCAAGCTCATGGCAAATAAAACCAGAATATTGGTTACAAGCAAGA
TGGAGCATCTTAAGAAAGCAGATAAAATCCTGATATTGCACGAGGGCTCTTCATA
CTTCTACGGGACGTTTTCTGAGTTGCAGAACCTCCAGCCGGATTTCACTCTAAGC
TGATGGGCTGTGATTCCTTTGATCAGTTTAGTGCGGAAAGACGAAACAGTATACT
CACCGAAACACTGCACAGGTTCTCTCTGGAGGGCGACGCCCCGGTTTCCTGGACA
GAGACGAAGAAGCAGTCCTTCAAACAGACAGGCGAGTTTGGGGAGAAAAGGAA
AAATAGCATACTCAACCCGATTAACAGCATTCGCAAGTTCAGTATAGTACAAAAG
ACCCCGTTGCAGATGAACGGTATAGAGGAAGATTCTGATGAGCCACTGGAAAGA
CGGCTTTCTCTCGTTCCGGACAGTGAACAGGGAGAGGCAATACTGCCTCGGATCA
GCGTTATCTCTACAGGACCTACTTTGCAAGCTCGGCGCCGACAGTCAGTCTTGAA
TCTTATGACTCATAGTGTTAATCAAGGCCAGAATATCCATCGCAAGACCACCGCA
AGTACAAGGAAAGTGAGCTTGGCACCTCAAGCAAACCTTACTGAACTTGATATCT
ACTCACGGCGACTTTACAGGAGACCGGACTTGAAATTAGTGAAGAAATTAACG
AGGAGGACCTCAAGGAGTGCTTCTTCGATGACATGGAATCAATCCCCGCAGTCAC
AACCTGGAACACTTATCTGAGGTATATAACAGTTCACAAGAGCCTCATTTTTGTA
CTTATTTGGTGTTTGGTAATTTTCTTGGCGGAGGTTGCTGCTTCTTTGGTCGTCCTT
TGGCTCCTCGGGAATACACCGCTCCAAGACAAAGGCAACTCTACCCATAGTAGGA

ACAATTCATATGCAGTGATTATAAACCAGTACATCATCTTATTACGTTTTCTATATT
TATGTCGGGGTAGCTGACACGCTGTTGGCGATGGGCTTCTTTAGGGGCCTCCCCTT
GGTACACACCCTTATCACGGTGAGTAAAATCCTGCATCACAAAATGCTTCATTCT
GTACTCCAAGCGCCGATGAGTACGCTTAATACGCTGAAAGCAGGAGGGGATACTG
AATCGGTTTCAGCAAGGACATCGCCATTCTGGATGACCTGCTTCCATTGACAATAT
TTGATTTTCATTGAGCTCCTTCTCATAGTTATTGGAGCCATAGCGGTGGTGGCTGTG
CTTCAGCCTTATATATTCGTTGCCACAGTTCCCGTTATAGTGGCATTATAATGCT
CAGGGCCTACTTTCTCCAGACTTCCCAGCAGTTGAAGCAACTCGAATCAGAAGGA
AGGTCACCTATTTTCACACATCTTGTGACTTCCTTGAAGGGCTTGTGGACGCTGCG
GGCCTTCGGAAGACAACCATATTTTGAAACTCTCTTCCACAAAGCTTTGAATCTTC
ATACTGCGAACTGGTTCCTGTATTTGAGTACTTTGCGCTGGTTCAGATGAGGATA
GAAATGATATTCGTTATCTTCTTTATCGCGGTTACGTTTCATAAGTATCCTCACTAC
GGGGGAGGGTGAGGGTAGAGTGGGCATAATACTGACCCTCGCCATGAACATTAT
GTCCACCCTGCAGTGGGCGGTAAACAGCAGCATAGATGTGGATTCTTTGATGCGC
AGTGTGAGCAGGGTTTTTAAGTTTATCGATATGCCGACGGAAGGAAAGCCCACTA
AAAGCACGAAACCCTATAAAAATGGACAGCTTAGCAAAGTAATGATAATCGAGA
ATAGCCATGTGAAAAAGGATGACATATGGCCTTCCGGAGGCCAAATGACTGTTA
AAGATCTGACCGCTAAATATAACCGAGGGCGGCAACGCAATACTCGAAAACATAA
GCTTTTCCATAAGCCCCGGCCAACGCGTGGGTCTTCTGGGGAGGACTGGCTCCGG
AAAATCAACGTTGCTTAGCGCGTTTTTGCGGCTCCTTAACACTGAAGGTGAGATC
CAAATAGATGGCGTTAGTTGGGACTCTATAAACAATGGCGGAAAGCTT
TCGGCGTCATACCTCAGAAGGTGTTTCATCTTTAGCGGAACGTTTCAGGAAGAACTT
GGATCCCTACGAACAATGGAGTGATCAAGAAATATGGAAAGTGGCAGATGAGGT
AGGCTTGCGCAGTGTCATTGAACAATTCCCAGGGAAACTCGACTTTGTACTGGTG
GACGGCGGTTGCGTCTTGTACACGGGCACAAACAGTTGATGTGTTTGGCCCGCA
GTGTTTTGTCTAAGGCGAAGATTCTGTTGCTCGACGAACCGAGTGCTCATCTTGAT
CCCGTCACCTACCAAATCATCAGAAGGACGTTGAAGCAAGCTTTCGCCGACTGCA
CTGTAATCCTTTGTGAGCATAGGATCGAAGCAATGCTCGAGTGCCAACAGTTCTT
GGTTATAGAGGAGAATAAGGTTTCGGCAATACGACTCAATACAGAACTGCTTAA
TGAGCGGTCACTCTTTCGACAAGCTATCTCTCCTAGTGACAGGGTAAAGCTTTTTC
CTCATCGGAATTCCAGCAAGTGTAAGAGTAAACCACAGATCGCCGCCCTTAAAGA
GGAGACCGAAGAAGAGGTGCAGGATACGAGACTTTAG (SEQ ID NO: 27).

[0109] В некоторых вариантах осуществления кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR, подходящая для настоящего изобретения, на по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:7 и кодирует белок CFTR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2. В конкретном варианте осуществления кодон-оптимизированная последовательность mRNA CFTR, подходящая для настоящего изобретения, имеет нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO:6.

[0110] В некоторых вариантах осуществления подходящая последовательность mRNA может представлять собой последовательность mRNA, кодирующую гомолог или аналог белка CFTR человека (hCFTR). Например, гомолог или аналог белка hCFTR может представлять собой модифицированный белок hCFTR, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, делеций и/или вставок по сравнению с белком hCFTR дикого типа или встречающимся в природе белком hCFTR при сохранении значительной активности белка hCFTR. В некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения, кодирует аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше гомологична SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения, кодирует белок, по сути идентичный белку hCFTR. В некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения, кодирует аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше идентична SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения кодирует фрагмент или часть белка hCFTR. В некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения, кодирует фрагмент или часть белка hCFTR, при этом фрагмент или часть белка все еще обеспечивают активность CFTR, подобную таковой белка дикого типа. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения, имеет нуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 7.

[0111] В некоторых вариантах осуществления mRNA, подходящая для настоящего изобретения, имеет нуклеотидную последовательность, которая на по

меньшей мере 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO: 27.

[0112] В некоторых вариантах осуществления подходящая mRNA кодирует слитый белок, содержащий полноразмерный белок hCFTR, фрагмент или часть белка hCFTR, слитые с другим белком (*например*, N- или C-концевое слияние). В некоторых вариантах осуществления белок, слитый с mRNA, кодирующей полноразмерный белок hCFTR, фрагментом или частью белка hCFTR, кодирует последовательность, нацеленную на сигнал или клетку.

[0113] mRNA по настоящему изобретению могут быть синтезированы по любому из ряда известных способов. Например, mRNA по настоящему изобретению могут быть синтезированы посредством транскрипции *in vitro* (IVT). Вкратце, IVT, как правило, осуществляют с матрицей линейной или кольцевой ДНК, содержащей промотор, пул рибонуклеотидных трифосфатов, буферную систему, которая может включать DTT и ионы магния, и соответствующий ингибитор РНК-полимеразы (*например*, РНК-полимеразы Т3, Т7 или SP6), ДНКазы I, пирофосфатазы и/или РНКазы. Точные условия будут варьировать в зависимости от конкретного применения.

[0114] Как правило, синтез mRNA предусматривает добавление «кэпа» на N-конец (5') и «хвоста» на С-конец (3'). Присутствие кэпа важно для обеспечения устойчивости к нуклеазам, находящимся в большинстве эукариотических клеток. Присутствие «хвоста» служит для защиты mRNA от разрушения экзонуклеазой.

[0115] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления mRNA (*например*, mRNA, кодирующие CFTR) включают 5'-кэп-структуру. 5'-Кэп обычно добавляется следующим образом: сначала терминальная РНК-фосфатаза удаляет одну из концевых фосфатных групп из 5'-нуклеотида, оставляя два концевых фосфата, затем гуанозинтрифосфат (GTP) добавляется к концевым фосфатам посредством гуанилилтрансферазы, образуя 5'-5'-трифосфатную связь, а затем 7-азот гуанина метилируют метилтрансферазой. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид, образующий кэп, дополнительно метилирован в 3'-положении. В некоторых вариантах

осуществления нуклеотид, непосредственно примыкающий к кэпу, дополнительно метилирован в 2'-положении. Примеры кэп-структур включают без ограничения $m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)$, $m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)$, $m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeG)$, $m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)$, $m7G(5')ppp(5'(A,G(5')ppp(5')A$ и $G(5')ppp(5')G$. В конкретном варианте осуществления кэп-структура представляет собой $m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)$. Дополнительные кэп-структуры описаны в опубликованной заявке США № US 2016/0032356 и предварительной заявке США № 62/464327, поданной 27 февраля 2017 г., которые включены в данный документ посредством ссылки.

[0116] В некоторых вариантах осуществления mRNA (*например*, mRNA, кодирующие CFTR) включают 3'-хвостовую структуру. Как правило, хвостовая структура включает поли(А)- и/или поли(С)-хвост. Поли-А- или поли-С-хвост на 3'-конце mRNA, как правило, включает по меньшей мере 50 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 100 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 150 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 200 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 250 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 300 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 350 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 400 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 450 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 500 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 550 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 650 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 700 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 750 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 800 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 850 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 900 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, по меньшей мере 950 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов или по меньшей мере 1 т.п.н. аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов соответственно. В некоторых вариантах осуществления поли-А- или поли-С-хвост может составлять приблизительно 10-800 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов (*например*, приблизительно 10-200 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 10-300 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 10-400 аденозиновых или цитозиновых

нуклеотидов, приблизительно 10-500 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 10-550 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 10-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 50-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 100-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 150-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 200-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 250-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 300-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 350-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 400-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 450-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 500-600 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 10-150 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 10-100 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, приблизительно 20-70 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов, или приблизительно 20-60 аденозиновых или цитозиновых нуклеотидов) соответственно. В некоторых вариантах осуществления хвостовая структура включает комбинацию поли(А)- и поли(С)-хвосты различной длины, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления хвостовая структура включает по меньшей мере 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% аденозиновых нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления хвостовая структура включает по меньшей мере 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% цитозиновых нуклеотидов.

[0117] В конкретном варианте осуществления mRNA, кодирующая CFTR, которая имеет поли(А)-хвост от 200 до 1000 аденозиновых нуклеотидов (*например*, как определено с использованием электрофореза в агарозном геле), особенно подходит для осуществления настоящего изобретения. Как правило, mRNA, кодирующая CFTR для применения по настоящему изобретению, имеет поли(А)-хвост, составляющий от 400 до 700 аденозиновых нуклеотидов (*например*, как определено с использованием электрофореза в агарозном геле).

[0118] В конкретном варианте осуществления mRNA, кодирующая CFTR, имеет следующие последовательность и структурные элементы:

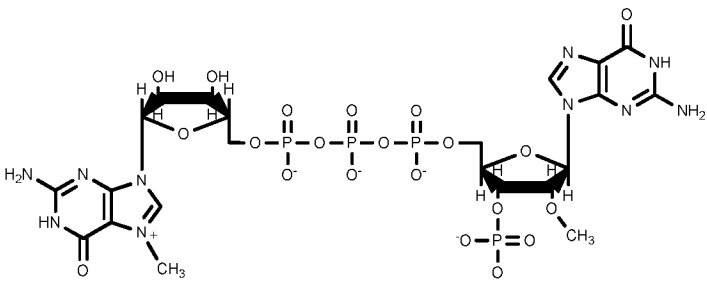
GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUAGAAGACA
CCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAACGCGGAUUC

CCCGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACGAUGCAACGCUCUCCUCUUG
 AAAAGGCCUCGGUGGUGUCCAAGCUCUUCUUCUCGUGGACUAGACCCAUCCUG
 AGAAAGGGGUACAGACAGCGCUUGGAGCUGUCCGAUAUCUAUCAAUCCCUUC
 CGUGGACUCCGCGGACAACCUGUCCGAGAAGCUCGAGAGAGAAUGGGACAGAG
 AACUCGCCUCAAGAAGAACCCGAAGCUGAUUAAUGCGCUUAGGCGGUGCUUU
 UUCUGGCGGUUCAUGUUCUACGGCAUCUUCUCCUCUACCUGGGAGAGGUCACCAA
 GGCCGUGCAGCCCCUGUUGCUGGGACGGAUUAUUGCCUCCUACGACCCCGACA
 ACAAGGAAGAAAGAAGCAUCGCUAUCUACUUGGGCAUCGGUCUGUGCCUGCUU
 UUCAUCGUCCGGACCCUCUUGUUGCAUCCUGCUAUUUUCGGCCUGCAUCACAU
 UGGCAUGCAGAUGAGAAUUGCCAUGUUUUCCCUGAUCUACAAGAAAACUCUGA
 AGCUCUCGAGCCGCGUGCUUGACAAGAUUCCAUCGGCCAGCUCGUGUCCUG
 CUCUCCAACAAUCUGAACAAGUUCGACGAGGGCCUCGCCCUGGGCCACUUCGU
 GUGGAUCGCCCCUCUGCAAGUGGCGCUUCUGAUGGGCCUGAUCUGGGAGCUGC
 UGCAAGCCUCGGCAUUCUGUGGGCUUGGAUUCUGAUCGUGCUGGCACUGUUC
 CAGGCCGGACUGGGGCGGAUGAUGAUGAAGUACAGGGACCAGAGAGCCGGAAA
 GAUUUCCGAACGGCUGGUGAUCACUUCGGAAAUGAUCGAAAACAUCAGUCAG
 UGAAGGCCUACUGCUGGGAAGAGGCCAUGGAAAAGAUGAUUGAAAACCUCGG
 CAAACCGAGCUGAAGCUGACCCGCAAGGCCGCUUACGUGCGCUAUUUCAACUC
 GUCCGCUUUUCUUCUUCUCCGGGUUCUUCGUGGUGUUUCUCUCCGUGCUCCCCU
 ACGCCCUGAUUAAGGGAAUCAUCCUCAGGAAGAUCUUCACCACCAUUUCCUUC
 UGUAUCGUGCUCCGCAUGGCCGUGACCCGGCAGUUCCCAUGGGCCGUGCAGAC
 UUGGUACGACUCCUGGGAGCCAUAACAAGAUCAGGACUUCUUAACAAAGC
 AGGAGUACAAGACCCUCGAGUACAACCUGACUACUACCGAGGUCGUGAUGGAA
 AACGUCACCGCCUUUUGGGAGGAGGGAUUUGGCGAACUGUUCGAGAAGGCCAA
 GCAGAACAAACAACCGCAAGACCUCGAACGGUGACGACUCCCUUCUUCUUU
 CAAACUUCAGCCUGCUCGGGACGCCCUGCUGAAGGACAUAACUUAAGAUC
 GAAAGAGGACAGCUCCUGGCGGUGGCCGGAUCGACCGGAGCCGGAAAGACUUC
 CCUGCUGAUGGUGAUAUGGGAGAGCUUGAACCUAGCGAGGGAAAGAUCAAGC
 ACUCCGGCCGCAUCAGCUUCUGUAGCCAGUUUUCCUGGAUCAUGCCCGGAACC
 AUUAAGGAAAACAUAUCUUCGGCGUGUCCUACGAUGAAUACCGCUACCGGUC
 CGUGAUCAAAGCCUGCCAGCUGGAAGAGGAUAUUUCAAGUUCGCGGAGAAAG
 AUAACAUCGUGCUGGGCGAAGGGGGUAUUACCUUGUCGGGGGGCCAGCGGGCU
 AGAAUCUCGUCUGGCCAGAGCCGUGUAUAAGGACGCCGACCUGUAUCUCCUGGA
 CUCCCCCUUCGGAUACCUGGACGUCCUGACCGAAAAGGAGAUCUUCGAAUCGU

GCGUGUGCAAGCUGAUGGCUAACAAGACUCGCAUCCUCGUGACCUCCAAAAUG
 GAGCACCUGAAGAAGGCAGACAAGAUUCUGAUUCUGCAUGAGGGGUCCUCCUA
 CUUUUACGGCACCUUCUCGGAGUUGCAGAACUUGCAGCCCGACUUCUCAUCGA
 AGCUGAUGGGUUGCGACAGCUUCGACCAGUUCUCCGCCGAAAGAAGGAACUCG
 AUCCUGACGGAAACCUUGCACCGCUUCUCUUUGGAAGGCGACGCCCCUGUGUC
 AUGGACCGAGACUAAGAAGCAGAGCUUCAAGCAGACCGGGGAAUUCGGCGAAA
 AGAGGAAGAACAGCAUCUUGAACCCCAUUAACUCCAUCCGCAAGUUCUCAAUC
 GUGCAAAGACGCCACUGCAGAUGAACGGCAUUGAGGAGGACUCCGACGAACC
 CCUUGAGAGGGCGCCUGUCCCUGGUGCCGGACAGCGAGCAGGGAGAAGCCAUCC
 UGCCUCGGAUUUCCGUGAUCUCCACUGGUCCGACGCUCCAAGCCCGGCGGGCGG
 CAGUCCGUGCUGAACCUUGAUGACCCACAGCGUGAACCAAGGGCCAAAACAUUCA
 CCGCAAGACUACCGCAUCCACCCGAAAGUGUCCCUGGCACCUCAAGCGAAUC
 UUACCGAGCUCGACAUCUACUCCCGGAGACUGUCGCAGGAAACCGGGCUCGAA
 AUUUCGAAGAAAUCAACGAGGAGGAUCUGAAAGAGUGCUUCUUCGACGAUUA
 GGAGUCGAUACCCGCCGUGACGACUUGGAACACUUAUCUGCGGUACAUCACUG
 UGCACAAGUCAUUGAUCUUCGUGCUGAUUUGGUGCCUGGUGAUUUUCCUGGCC
 GAGGUCGCGGCCUCACUGGUGGUGCUCUGGCUGUUGGGAAACACGCCUCUGCA
 AGACAAGGGAAACUCCACGCACUCGAGAAACAACAGCUAUGCCGUGAUUAUCA
 CUUCCACCUCUCUUAUUACGUGUUCUACAUCUACGUCGGAGUGGCGGAUACC
 CUGCUCGCGAUGGGUUUCUUCAGAGGACUGCCGCUGGUCCACACCUUGAUCAC
 CGUCAGCAAGAUUCUUCACCACAAGAUGUUGCAUAGCGUGCUGCAGGCCCCCA
 UGUCCACCCUCAACACUCUGAAGGCCGGAGGCAUUCUGAACAGAUUCUCCAAG
 GACAUCGCUAUCCUGGACGAUCUCCUGCCGCUUACCAUCUUUGACUUCAUCCA
 GCUGCUGCUGAUCGUGAUUGGAGCAAUCGCAGUGGUGGCGGUGCUGCAGCCUU
 ACAUUUUCGUGGCCACUGUGCCGGUCAUUGUGGCGUUCAUCAUGCUGCGGGCC
 UACUCCUCCAAACCAGCCAGCAGCUGAAGCAACUGGAAUCCGAGGGACGAUC
 CCCAUUCUUCACUCACCUUGUGACGUCGUUGAAGGGACUGUGGACCCUCCGGG
 CUUUCGGACGGCAGCCCUACUUCGAAACCCUCUUCCACAAGGCCCUGAACCUC
 ACACCGCCAAUUGGUUCCUGUACCUGUCCACCCUGCGGUGGUUCCAGAUGCGC
 AUCGAGAUGAUUUUCGUCAUCUUCUUCAUCGCGGUCACAUUCAUCAGCAUCCU
 GACUACCGGAGAGGGAGAGGGACGGGUCGGAUAAUCCUGACCCUCGCCAUGA
 ACAUUAUGAGCACCCUGCAGUGGGCAGUGAACAGCUCGAUCGACGUGGACAGC
 CUGAUGCGAAGCGUCAGCCGCGUGUUCAAGUUCAUCGACAUGCCUACUGAGGG
 AAAACCCACUAAGUCCACUAAGCCCUACAAAAAUGGCCAGCUGAGCAAGGUCA

UGAUCAUCGAAAACUCCACGUGAAGAAGGACGAUAUUUGGCCCUCCGGAGGU
 CAA AUGACCGUGAAGGACCUGACCGCAAAGUACACCGAGGGAGGAAACGCCAU
 UCUCGAAAACAUCAGCUUCUCCAUUUCGCCGGGACAGCGGGUCGGCCUUCUCG
 GGCGGACCGGUUCCGGGAAGUCAACUCUGCUGUCGGCUUUCUCCGGCUGCUG
 AAUACCGAGGGGGAAAUCCAAAUUGACGGCGUGUCUUGGGAUUCCAUAUCUCU
 GCAGCAGUGGCGGAAGGCCUUCGGCGUGAUCCCCAGAAGGUGUUCAUCUUCU
 CGGGUACCUUCCGGAAGAACCUGGAUCCUACGAGCAGUGGAGCGACCAAGAA
 AUCUGGAAGGUCGCCGACGAGGUCGGCCUGCGCUCGUGAUUGAACA AUUCC
 UGGAAAGCUGGACUUCGUGCUCGUCGACGGGGGAUGUGUCCUGUCGCACGGAC
 AUAAGCAGCUCAUGUGCCUCGCACGGUCCGUGCUCUCCAAGGCCAAGAUCUG
 CUGCUGGACGAACCUUCGGCCCACCUGGAUCCGGUCACCUACCAGAUAUCAG
 GAGGACCCUGAAGCAGGCCUUGCCGAUUGCACCGUGAUUCUCUGCGAGCACC
 GCAUCGAGGCCAUGCUGGAGUGCCAGCAGUCCUGGUCAUCGAGGAGAACAAG
 GUCCGCCAAUACGACUCCAUAUCAAAGCUCCUCAACGAGCGGUCGCUGUUCAG
 ACAAGCUAUUUCACCGUCCGAUAGAGUGAAGCUCUCCCCGCAUCGGAACAGCU
 CAAAGUGCAAUUCGAAGCCGCAGAUUCGCAGCCUUGAAGGAAGAGACUGAGGAA
 GAGGUGCAGGACACCCGGCUUUAACGGGUGGCAUCCUGUGACCCCUCCCCAG
 UGCCUCUCCUGGCCCUGGAAGUUGCCACUCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAA
 UAAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU (SEQ ID NO: 28).

Таблица А. Структурные элементы mRNA

Структурный элемент	Описание	Координаты последовательности
Кэп-структура		7mG присоединяется к нуклеотиду в положении 1 mRNA CFTR, при этом первый нуклеотид (подчеркнут) метилирован в 2'-положении

Структурный элемент	Описание	Координаты последовательности
5'-UTR	<u>GGAC</u> ...CACG	1-140
Старт-кодон hCFTR	AUG (жирный шрифт)	141-143
Стоп-кодон hCFTR	UAA (жирный шрифт)	4581-4583
3'-UTR	CGGG...AGCU	4584-4688
Поли-А-хвост	(A) _x , x = 200-1000*	4689-ff

[0119] В другом варианте осуществления mRNA, кодирующая CFTR, имеет следующие последовательность и структурные элементы:

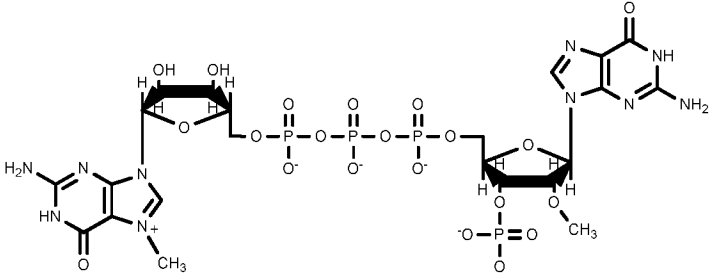
[0120] GGACAGAUCCGCGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCA
AGAAGACACCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAAC
GCGGAUUCGCGGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACGA**AUGCAGCGGUC**
CCCGCUCGAAAAGGCCAGUGUCGUGUCCAAACUCUUCUUCUCAUGGACUCGGC
CUAUCCUAGAAAGGGGUAUCGGCAGAGGCUUGAGUUGUCUGACAUCUACCAG
AUCCCCUCGGUAGAUUCGGCGGAUAACCUCUCGGAGAAGCUCGAACGGGAUG
GGACCGCGAACUCGCGUCUAAGAAAAACCCGAAGCUCAUCAACGCACUGAGAA
GGUGCUUCUUCUGGCGGUUCAUGUUCUACGGUAUCUUCUUGUAUCUCGGGGAG
GUCACAAAAGCAGUCCAACCCUGUUGUUGGGUCGCAUUAUCGCCUCGUACGA
CCCCGAUAACAAAGAAGACGGAGCAUCGCGAUCUACCUCGGGAUCGGACUGU
GUUUGCUUUUCAUCGUCAGAACACUUUUGUUGCAUCCAGCAAUCUUCGGCCUC
CAUCACAUCGGUAUGCAGAUUCGGAUUCGCUAUGUUUAGCUUGAUCUACAAAAA
GACACUGAAACUCUCGUCGCGGGUGUUGGAUAAGAUUCCAUCGGUCAGUUGG
UGUCCUGCUUAGUAAUAACCUCACAAAUUCGAUGAGGGACUGGCGCUGGCA
CAUUUCGUGUGGAUUGCCCCGUUGCAAGUCGCCCUUUUGAUGGGCCUUAUUUG
GGAGCUGUUGCAGGCAUCUGCCUUUUGUGGCCUGGGAUUUCUGAUUGUGUUGG
CAUUGUUUCAGGCUGGGCUUGGGCGGAUGAUGAUGAAGUAUCGCGACCAGAGA
GCGGGUAAAAUCUCGGAAAGACUCGUCAUCACUUCGGAAAUGAUCGAAAACAU

CCAGUCGGUCAAGCCUAUUGCUGGGAAGAAGCUAUGGAGAAGAUGAUUGAA
 AACCUCCGCCAAACUGAGCUGAAACUGACCCGCAAGGCGGCGUAUGUCCGGUA
 UUUCAAUUCGUCAGCGUUCUUCUUUCCGGGUUCUUCGUUGUCUUUCUCUCGG
 UUUUGCCUUAUGCCUUGAUUAAGGGGAUUAUCCUCCGCAAGAUUUUCACCACG
 AUUUCGUUCUGCAUUGUAUUGCGCAUGGCAGUGACACGGCAAUUUCCGUGGGC
 CGUGCAGACAUGGUAUGACUCGCUUGGAGCGAUAACAAAAUCCAAGACUUCU
 UGCAAAAGCAAGAGUACAAGACCCUGGAGUACAAUCUUACUACUACGGAGGUA
 GUAAUGGAGAAUGUGACGGCUUUUUGGGAAGAGGGUUUUGGAGAACUGUUUG
 AGAAAGCAAAGCAGAAUAACAACAACCGCAAGACCUCAAAUGGGGACGAUCC
 CUGUUUUUCUGAACUUCUCCCUGCUCGGAACACCCGUGUUGAAGGACAUCAA
 UUUCAAGAUUGAGAGGGGACAGCUUCUCGCGGUAGCGGGAAGCACUGGUGCGG
 GAAAAACUAGCCUCUUGAUGGUGAUUAUGGGGGAGCUUGAGCCCAGCGAGGGG
 AAGAUUAAACACUCCGGGCGUAUCUCAUUCUGUAGCCAGUUUUAUGGAUCAU
 GCCCGGAACCAUUAAGAGAAUCAUUAUUGGAGUAUCCUAUGAUGAGUACC
 GAUACAGAUUCGGUCAUUAAGGCGUGCCAGUUGGAAGAGGACAUUUCUAAGUUC
 GCCGAGAAGGAUAACAUCGUCUUGGGAGAAGGGGGUAUUACAUUGUCGGGAG
 GGCAGCGAGCGCGGAUCAGCCUCGCGAGAGCGGUUAUACAAAGAUGCAGAUUUG
 UAUCUGCUUGAUUCACCGUUUGGAUACCUCGACGUUUGACAGAAAAAGAAU
 CUUCGAGUCGUGCGUGUGUAAACUUAUGGCUAUAAGACGAGAAUCCUGGUGA
 CAUCAAAAAUGGAACACCUUAAGAAGGCGGACAAGAUAUCCUGAUCCUCCACGAA
 GGAUCGUCCUACUUUUACGGCACUUCUCAGAGUUGCAAAACUUGCAGCCGGA
 CUUCUCAAGCAAACUCAUGGGGUGUGACUCAUUCGACCAGUUCAGCGCGGAAC
 GGCGGAACUCGAUCUUGACGGAAACGCUGCACCGAUUUCGCUUGAGGGUGAU
 GCCCCGGUAUCGUGGACCGAGACAAAGAAGCAGUCGUUUAAGCAGACAGGAGA
 AUUUGGUGAGAAAAGAAAGAACAGUAUCUUGAAUCCUAUUAACUCAAUUCGC
 AAGUUCUCAAUUCGUCCAGAAAACUCCACUGCAGAUUGAAUGGAAUUGAAGAGGA
 UUCGGACGAACCCUUGGAGCGCAGGCUUAGCCUCGUGCCGGAUUCAGAGCAAG
 GGGAGGCCAUUCUUCUCCCGGAUUUCGGUGAUUUAACCGGACCUACACUUCAG
 GCGAGGCCGAAGGCAAUCCGUGCUCAACCUCAUGACGCAUUCGGUAAACCAGGG
 GCAAAACAUCACCGCAAAACGACGGCCUCAACGAGAAAAGUGUCACUUGCAC
 CCCAGGCGAAUUUGACUGAACUCGACAUCUACAGCCGUAGGCUUUCGCAAGAA
 ACCGGACUUGAGAUUCAGCGAAGAAUCAAUGAAGAAGAUUUGAAAGAGUGUU
 UCUUUGAUGACAUGGAAUCAAUCCAGCGGUGACAACGUGGAACACAUAUCUUG
 CGUUACAUCACGGUGCACAAGUCCUUGAUUUUCGUCCUCAUCUGGUGUCUCGU

GAUCUUUCUCGCUGAGGUCGCAGCGUCACUUGUGGUCCUCUGGCUGCUUGGUA
 AUACGCCCUCUGCAAGACAAAGGCAAUUCUACACACUCAAGAAACAAUUCCUAU
 GCCGUGAUUAUCACUUCUACAAGCUCGUAAUACGUGUUUUACAUCUACGUAGG
 AGUGGCCGACACUCUGCUCGCGAUGGGUUUCUCCGAGGACUCCACUCGUUC
 ACACGCUUAUCACUGUCUCCAAGAUUCUCCACCAUAAGAUGCUUCAUAGCGUA
 CUGCAGGCUCCCAUGUCCACCUUGAAUACGCUCAAGGCGGGAGGUUUUUGAA
 UCGCUUCUCAAAAGAUAUUGCAAUUUUGGAUGACCUUCUGCCCCUGACGAUCU
 UCGACUUCAUCCAGUUGUUGCUGAUCGUGAUUGGGGCUAUUGCAGUAGUCGCU
 GUCCUCCAGCCUUAACAUUUUUGUCGCGACCGUUCGGUGAUCGUGGGCGUUUAU
 CAUGCUGCGGGCCUAUUUCUUGCAGACGUCACAGCAGCUUAAGCAACUGGAGU
 CUGAAGGGAGGUCGCCUAUCUUUACGCAUCUUGUGACCAGUUUGAAGGGAUUG
 UGGACGUUGCGCGCCUUUGGCAGGCAGCCCUACUUUGAAACACUGUCCACAA
 AGCGCUGAAUCUCCAUAACGGCAAUUGGUUUUUGUAUUUGAGUACCCUCCGAU
 GGUUUCAGAUGCGCAUUGAGAUGAUUUUUGUGAUCUUCUUUAUCGCGGUGAC
 UUUUAUCUCCAUCUUGACCACGGGAGAGGGCGAGGGACGGGUCGGUAUUAUCC
 UGACACUCGCCAUGAACAUAUGAGCACUUUGCAGUGGGCAGUGAACAGCUCG
 AUUGAUGUGGAUAGCCUGAUGAGGUCCGUUUCGAGGGUCUUUAAGUUCAUCG
 ACAUGCCGACGGAGGGAAAGCCACAAAAAGUACGAAACCCUAUAAGAAUGGG
 CAAUUGAGUAAGGUAAUGAUCAUUCGAGAACAGUCACGUGAAGAAGGAUGACA
 UCUGGCCUAGCGGGGGUCAGAUGACCGUGAAGGACCUGACGGCAAAAUACACC
 GAGGGAGGGAACGCAAUCCUUGAAAACAUCUCGUUCAGCAUUAGCCCCGGUCA
 GCGUGUGGGGUUGCUCGGGAGGACCGGGUCAGGAAAAUCGACGUUGCUGUCGG
 CCUUCUUGAGACUUCUGAAUACAGAGGGUGAGAUCAGAUUCGACGGCGUUUCG
 UGGGAUAGCAUCACCUUGCAGCAGUGGCGGAAAGCGUUUGGAGUAAUCCCCCA
 AAAGGUCUUUAUCUUUAGCGGAACCUUCCGAAAGAAUCUCGAUCCUUAUGAAC
 AGUGGUCAGAUCAAGAGAUUUGGAAAGUCGCGGACGAGGUUGGCCUUCGGAG
 UGUAAUCGAGCAGUUUCCGGGAAAACUCGACUUUGUCCUUGUAGAUGGGGGAU
 GCGUCCUGUCGCAUGGGCACAAGCAGCUCAUGUGCCUGGCGCGAUCCGUCCUC
 UCUEAAGCGAAAAUUCUUCUCUUGGAUGAACCUUCGGCCCAUCUGGACCCGGU
 AACGUAUCAGAUCAUCAGAAGGACACUUAAGCAGGCGUUUGCCGACUGCACGG
 UGAUUCUCUGUGAGCAUCGUUUCGAGGCCAUGCUCGAAUGCCAGCAAUUUCUU
 GUCAUCGAAGAGAAUAAGGUCCGCCAGUACGACUCCAUCCAGAAGCUGCUUAA
 UGAGAGAUCAUUGUUCGGCAGGCGAUUUCACCAUCCGAUAGGGUGAAACUUU
 UUCCACACAGAAAUUCGUCGAAGUGCAAGUCCAAACCGCAGAUUCGCGGCCUUG

AAAGAAGAGACUGAAGAAGAAGUUCAAGACACGCGUCUUU**AA**CGGGUGGGCAUC
CCUGUGACCCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCCUUGGAAGUUGCCACUCCAGUGC
CCACCAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU (SEQ ID NO: 29).

Таблица В. Структурные элементы mRNA

Структурный элемент	Описание	Координаты последовательности
Кэп-структура		7mG присоединяется к нуклеотиду в положении 1 mRNA CFTR, при этом первый нуклеотид (подчеркнут) метилирован в 2'-положении
5'-UTR	<u>GGAC...CACG</u>	1-140
Старт-кодон hCFTR	AUG (жирный шрифт)	141-143
Стоп-кодон hCFTR	UAA (жирный шрифт)	4581-4583
3'-UTR	<u>CGGG...AGCU</u>	4584-4689
Поли-А-хвост	(A) _x , x = 200-1000*	4690-ff

[0121] В другом варианте осуществления mRNA, кодирующая CFTR, имеет следующие последовательность и структурные элементы:

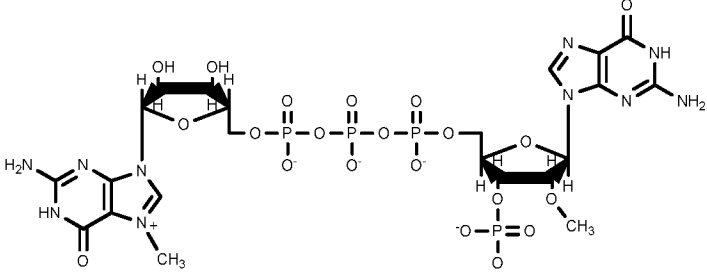
[0122] GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCGUGUUUUGACCUCCAU
AGAAGACACCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAAC
GCGGAUUCCTCCGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACGA**U**GCAGAGGAG
CCCACUGGAGAAAGCCUCCGUGGUGAGUAAACUCUUUUUUAGUUGGACCAGAC

CCAUCCUGCGAAAAGGAUACAGGCAGCGCCUCGAGUUGUCUGAUUUCUACCAG
 AUUCCUUCUGUGGACUCAGCUGACAAUUUGAGUGAGAAGCUGGAGCGGGAGUG
 GGAUAGAGAGCUGGCGAGCAAAAAAACCCTAAGCUUAUCAUUGCUCUGCGCC
 GCUGCUUUUUCUGGAGGUUCAUGUUUUUAUGGGAUCUUCCUGUACCUGGGGGAG
 GUCACCAAAGCUGUUCAGCCGCUCCUUCUUGGCCGCAUCAUCGCCAGCUAUGA
 CCCUGAUAAUAAAGAAGAAAGGUCUAUUGCUAUUUUAUCUGGGGAAUUGGCCUCU
 GCUUGCUCUUCAUUCGUCCGCACCCUUCUGCUGCACCCUGCCAUUUUUGGCCUUC
 ACCACAUCGGCAUGCAAUGAGAAUUGCCAUGUUCUCCCUCAUUUACAAAAAG
 ACCCUGAAACUUUCCUCAAGAGUGUUAGAUAAAAUAUCCAUUGGUCAGCUGGU
 CAGCCUGCUGUCCAACAAUCUUAACAAAUUUGAUGAAGGCUUGGCGCUGGGCC
 ACUUCGUGUGGAUUGCACCUCUGCAGGUGGGCCUGUUGAUGGGACUUAUAUGG
 GAGCUGCUUCAAGCCUCUGCUUUCUGUGGGCUGGGCUUUUUGAUUGUACUGGC
 ACUUUUUCAGGCUGGGCUCGGAAGAAUGAUGAUGAAAUACAGAGAUACAGCGG
 GCCGGGAAGAUUUCAGAGCGACUUGUGAUCACCAGUGAAAUGAUUGAAAAUA
 UUCAGAGCGUGAAAGCCUACUGCUGGGAAGAAGCCAUGGAGAAGAUGAUUGA
 GAACCUGAGGCAGACAGAGCUCAAGCUCACUCGGAAGGCUGCUUAUGUUCGCU
 AUUUCAACAGCAGCGCCUUCUUCUUCAGUGGCUCUUCUUGUUGUCUUCUGUCU
 GUUCUGCCAUAUGCACUGAUAAAAGGCAUUAUUUUACGAAAGAUCUUCACCAC
 CAUCAGUUUUUGCAUCGUUCUCAGGAUGGCCGUCACAAGACAGUUCUUUUUGG
 CUGUGCAGACCUGGUACGAUUCUUGGGGGCCAUCAACAAGAUUCAAGAUUUC
 UUGCAAAAACAAGAAUAUAAAACUUUAGAAUACAACCUCACCACCACUGAAGU
 GGUAUGGAAAAUGUGACAGCCUUUUGGGAGGAGGGUUUUGGAGAAUUGUUC
 GAGAAGGCAAAGCAGAAUAACAACAACAGGAAGACGAGCAAUGGGGACGACUC
 UCUCUUCUUCAGCAACUUUUCACUGCUCGGGACCCUGUGUUGAAAGAUUAUA
 ACUUCAAGAUCGAGAGGGGCCAGCUCUUGGCUGUGGCAGGCUCCACUGGAGCU
 GGUAAAACAUCUCUUCUCAUGGUGAUCUUGGGGGAACUGGAGCCUUCGGAAGG
 AAAAAUCAAGCACAGUGGGAGAAUCUCAUUCUGCAGCCAGUUUUCUGGAUCA
 UGCCCCGGCACCAUUAAGGAAAACAUCAUAUUUGGAGUGUCCUAUGAUGAGUAC
 CGCUACCGGUCAGUCAUCAAAGCCUGUCAGUUGGAGGAGGACAUCUCCAAGUU
 UGCAGAGAAAGACAACAUAUGUGCUUGGAGAGGGGGGUAUCACUCUUUCUGGA
 GGACAAAGAGCCAGGAUCUCUUUGGCCCGGGCAGUCUACAAGGAUGCAGACCU
 CUACUUGUUGGACAGUCCCUUCGGCUACCUCGACGUGCUGACUGAAAAAGAAA
 UUUUUGAAAGCUGUGUGUGCAAACUGAUGGCAAACAAGACCAGGAUUCUUGUC
 ACCAGCAAGAUGGAACAUCUGAAGAAAGCGGACAAAUAUCUGAUUCUGCAUGA

AGGGAGCUCCUACUUCUAUGGAACAUUUAGCGAGCUUCAGAACCUACAGCCAG
 ACUUCUCCUCCAAAUUAUUGGGCUGUGACUCCUUCGACCAGUUCUCUGCAGAA
 AGAAGAAACUCUAUACUCACAGAGACCCUCCACCGCUUCUCCCUUGAGGGAGA
 UGCCCCAGUUUCUUGGACAGAAACCAAGAAGCAGUCCUUUAAGCAGACUGGCG
 AGUUUGGUGAAAAGAGGAAAAAUUCAAUUCUCAAUCCAUAUACAGUAUUCG
 CAAGUUCAGCAUUGUCCAGAAGACACCCCUCCAGAUGAAUGGCAUCGAAGAAG
 AUAGUGACGAGCCGCUGGAGAGACGGCUGAGUCUGGUGCCAGAUUCAGAACAG
 GGGGAGGCCAUCCUGCCCCGGAUCAGCGUCAUUUCCACAGGCCCCACAUAACA
 AGCACGGCGCCGGCAGAGUGUUUUAAAUCUCAUGACCCAUUCAGUGAACCAGG
 GCCAAAUAUCCACAGGAAGACUACAGCUUCUACCCGGAAAGUGUCUCUGGCC
 CCUCAGGCCAAUCUGACCGAGCUGGACAUCUACAGCAGGAGGCUCUCCAGGA
 AACAGGGCUGGAAAUAUCUGAAGAGAUUAAUGAAGAGGAUCUUAAGAGUGC
 UUCUUUGAUGACAUGGAGAGCAUCCCCGCGGUGACCACAUGGAACACCUACCU
 UAGAUAUAUUACUGUCCACAAGAGCCUCAUAUUUGUCCUCAUCUGGUGCCUGG
 UUAUUUUCUCUGCUGAGGUGGCGGCCAGUCUUGUUGUGCUCUGGCUGCUGGGC
 AACACUCCUCUCCAGGACAAGGGCAAUAGUACUCACAGCAGAAAUAUUUCUUA
 UGCCGUCAUCAUUACAAGCACCUCAGCUACUACGUGUUCUACAUCUAUGUGG
 GCGUGGCUGACACCCUCCUGGCCAUGGGUUUCUUCCGGGGCCUGCCUUUGGUG
 CACACCCUCAUCACAGUGUCAAAAAUUCUGCACCAUAAAAUGCUUCAUUCUGU
 CCUGCAGGCACCCAUGAGCACUUUGAACACAUAUGAAGGCUGGCGGCAUCCUCA
 ACAGAUUUUCUAAAGAUAUUGCUAUCCUGGAUGAUCUCCUCCCCCUGACAAUC
 UUUGACUUUAUCCAGCUUCUGCUGAUCGUGAUUGGAGCCAUAGCAGUGGUUGC
 UGUCCUGCAGCCCUACAUUUUUGUGGCCACCGUGCCCGUGAUUGUUGCCUUUA
 UUAUGCUCAGAGCUUACUCCUGCAAACUUCUCAACAGCUCAAACAGCUAGAA
 UCUGAGGGCCGGAGCCCCAUUUUUACCCACCUGGUGACUUCCUGAAGGGACU
 GUGGACUCUGAGAGCAUUCGGGCGACAGCCUUAUUUGAGACACUGUUCACACA
 AGGCCCUGAACUUGCACACUGCCAACUGGUUUUCUUUACCUGAGCACACUCCGC
 UGGUUCAGAUUGCGGAUAGAGAUGAUCUUCGUCAUCUUUUUAUAGCUGUAAC
 CUUCAUUUCUAUCCUUACAACAGGAGAAGGAGAGGGCAGGGUGGGAAUCAUCC
 UCACGCUGGCUAUGAACAUAAUGUCCACCUUGCAGUGGGCCGUGAAUUCAGU
 AUAGAUGUGGAUUCUCUAAUGAGGAGUGUCUCCCGGGUGUUUAAAUAUUG
 AUAUGCCUACUGAGGGGAAACCCACCAAGUCAACAAAACCUUAUAAGAAUGGA
 CAGCUGAGCAAGGUGAUGAUAAUUGAGAACAGCCACGUGAAGAAGGAUGACA
 UUUGGCCAGCGGGGGGCCAGAUGACUGUGAAGGACCUGACGGCCAAGUACACC

GAAGGUGGAAAUGCCAUUUUGGAAAACAUCAGCUUCUCAAUCUCUCCUGGGCA
GAGAGUUGGAUUGCUGGGUCGCACGGGCAGCGGCAAAUCAACCCUGCUCAGUG
CCUUCCUUCGGCUCCUGAAUACAGAAGGCGAAAUCCAAAUUGACGGGGUGAGC
UGGGACAGCAUCACCCUGCAGCAGUGGAGAAAAGCAUUUGGGGUCAUUCACACA
GAAAGUUUUCAUCUUCUCUGGCACUUUCAGAAAGAACCUGGACCCCUAUGAGC
AGUGGAGCGACCAGGAGAUCUGGAAGGUUGCAGAUGAAGUUGGCCUGCGGAG
UGUGAUAGAACA AUUUCUGGCAAGCUGGAUUUUGUGCUGGUAGAUGGAGGC
UGCGUGCUGUCCCACGGCCACAAACAGCUGAUGUGCCUCGCCCCGCUCCGUUCU
UUCAAAGGCCAAAAUCUUGCUUUUGGAUGAGCCCAGUGCUCACCUUGACCCAG
UGACCUAUCAGAUAAUCCGCAGGACCUUAAAGCAAGCUUUUGCCGACUGCACC
GUCAUACUGUGUGAGCACCGGAUUGAAGCAAUGCUGGAAUGCCAGCAGUUUCU
GGUGAUCGAGGAGAAUAAGGUCCGGCAGUACGACAGCAUCCAGAAGUUGUUGA
AUGAGCGCAGCCUUUUCGCCAGGCCAUCUCCCCAUCUGACAGAGUCAAGCUG
UUUCCACAUAGGAACUCCUCUAAGUGCAAGUCCAAGCCCCAGAUCGCUGCCCU
CAAGGAGGAAACUGAGGAAGAGGUGCAGGAUACCCGCCUGUGACGGGGUGGCAU
CCCUGUGACCCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCCUGGAAGUUGCCACUCCAGUG
CCCACCAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGCAUCAAGCU (SEQ ID NO: 30).

Таблица С. Структурные элементы mRNA

Структурный элемент	Описание	Координаты последовательности
Кэп-структура		7mG присоединяется к нуклеотиду в положении 1 mRNA CFTR, при этом первый нуклеотид (подчеркнут) метилирован в 2'-положении
5'-UTR	<u>GGAC...CACG</u>	1-140
Старт-кодон hCFTR	AUG (жирный шрифт)	141-143
Стоп-кодон hCFTR	UGA (жирный шрифт)	4581-4583
3'-UTR	<u>CGGG...AGCU</u>	4584-4688
Поли-А-хвост	(A) _x , x = 200-1000*	4689-ff

Модифицированная mRNA

[0123] mRNA CFTR может содержать только встречающиеся в природе нуклеотиды (или немодифицированные нуклеотиды). Однако, в некоторых вариантах осуществления подходящая mRNA CFTR может содержать модификации остова, модификации сахара и/или модификации основания. Например, модифицированные нуклеотиды могут включать без ограничения модифицированные пурины (аденин (A), гуанин (G)) или пиримидины (тимин (T), цитозин (C), урацил (U)) и в качестве модифицированных нуклеотидов аналоги или производные пуринов и пиримидинов, такие как, например, 1-метиладенин, 2-метиладенин, 2-метилтио-N-6-

изопентениладенин, N6-метиладенин, N6-изопентениладенин, 2-тиоцитозин, 3-метилцитозин, 4-ацетилцитозин, 5-метилцитозин, 2,6-диаминопурин, 1-метилгуанин, 2-метилгуанин, 2,2-диметилгуанин, 7-метилгуанин, инозин, 1-метиринозин, псевдоурацил (5-урацил), дигидроурацил, 2-тиоурацил, 4-тиоурацил, 5-карбоксиметиламинометил-2-тиоурацил, 5-(карбоксигидроксиметил)-урацил, 5-фторурацил, 5-бромурасил, 5-карбоксиметиламинометилурацил, 5-метил-2-тиоурацил, 5-метилурацил, сложный метиловый эфир N-урацил-5-оксиуксусной кислоты, 5-метиламинометилурацил, 5-метоксиаминометил-2-тиоурацил, 5'-метоксикарбонилметилурацил, 5-метоксиурацил, сложный метиловый эфир урацил-5-оксиуксусной кислоты, урацил-5-оксиуксусная кислота (v), 1-метилпсевдоурацил, квеуозин, бета-D-маннозилквеуозин, вибутоксозин, а также фосфоамидаты, фосфоротиоаты, пептидные нуклеотиды, метилфосфонаты, 7-дезагуанозин, 5-метилцитозин и инозин. Получение таких аналогов известно специалисту в данной области, *например*, из патента США № 4373071, патента США № 4401796, патента США № 4415732, патента США № 4458066, патента США № 4500707, патента США № 4668777, патента США № 4973679, патента США № 5047524, патента США № 5132418, патента США № 5153319, патентов США №№ 5262530 и 5700642, описания которых включены в данный документ в полном своем объеме.

[0124] В некоторых вариантах осуществления mRNA (*например*, mRNA, кодирующие CFTR) могут содержать модификации остова РНК. Как правило, модификация остова представляет собой модификацию, при которой фосфаты в остове нуклеотидов, содержащихся в РНК, химически модифицированы. Иллюстративные модификации остова, как правило, включают без ограничения модификации из группы, состоящей из метилфосфонатов, метилфосфоамидатов, фосфоамидатов, фосфоротиоатов (*например*, цитидин-5'-О-(1-тиофосфат)), боранофосфатов, положительно заряженных гуанидиниевых групп и т. д., что означает замену фосфодиэфирной связи другими анионными, катионными или нейтральными группами.

[0125] В некоторых вариантах осуществления mRNA (*например*, mRNA, кодирующие CFTR) могут содержать модификации сахара. Типичная модификация сахара представляет собой химическую модификацию сахара в содержащих его нуклеотидах, в том числе без ограничения модификации сахара, выбранные из группы, состоящей из 2'-дезоксид-2'-фтор-олигорибонуклеотида (2'-фтор-2'-дезоксидцитидин-5'-трифосфата, 2'-фтор-2'-дезоксидуридин-5'-трифосфата), 2'-дезоксид-2'-

деаминолигорибонуклеотида (2'-амино-2'-дезокситидин-5'-трифосфата, 2'-амино-2'-дезоксидидин-5'-трифосфата), 2'-О-алкилолигорибонуклеотид, 2'-дезоксид-2'-С-алкилолигорибонуклеотида (2'-О-метилцитидин-5'-трифосфата, 2'-метилдидин-5'-трифосфата), 2'-С-алкилолигорибонуклеотида и его изомеров (2'-арацитидин-5'-трифосфата, 2'-арадидин-5'-трифосфата) или азидотрифосфатов (2'-азидо-2'-дезокситидин-5'-трифосфата, 2'-азидо-2'-дезоксидидин-5'-трифосфата).

[0126] В конкретном варианте осуществления по настоящему изобретению mRNA, кодирующие CFTR, не модифицированы.

Среды-носители для доставки

[0127] По настоящему изобретению mRNA, кодирующая белок CFTR (например, полноразмерный белок CFTR, фрагмент или часть белка CFTR), описанный в данном документе, может быть доставлена в виде голой (неупакованной) mRNA или посредством сред-носителей для доставки. Используемые в данном документе термины «среда-носитель для доставки», «транспортная среда-носитель», «наночастица» или грамматический эквивалент используют взаимозаменяемо.

[0128] Среды-носители для доставки могут быть составлены в комбинации с одним или несколькими дополнительными нуклеиновыми кислотами, носителями, нацеливающими лигандами или стабилизирующими реагентами, или в фармакологических композициях, где их смешивают с подходящими вспомогательными средствами. Методики для составления и введения лекарственных средств можно найти в «Remington's Pharmaceutical Sciences», Mack Publishing Co., Easton, Pa., последнее издание. Конкретную среду-носитель для доставки выбирают на основании ее способности облегчать трансфекцию нуклеиновой кислоты в целевую клетку.

[0129] В различных вариантах осуществления подходящие среды-носители для доставки включают без ограничения носители на основе полимера, такого как полиэтиленимин (PEI), липидные наночастицы (LNP) и липосомы, наноллипосомы, содержащие керамид наноллипосомы, протеоллипосомы, экзосомы как природного, так и синтетического происхождения, природные, синтетические и полусинтетические ламеллярные тельца, наночастицы, наночастицы фосфоросиликата кальция, наночастицы фосфата кальция, наночастицы диоксида кремния, нанокристаллические частицы, полупроводниковые наночастицы, поли(D-аргинин), золь-гели,

нанодендримеры, системы доставки на основе крахмала, мицеллы, эмульсии, ниосомы, мультидоменные блок-полимеры (виниловые полимеры, полимеры полипропилакриловой кислоты, динамические поликонъюгаты), сухие порошковые составы, плазмиды, вирусы, нуклеотиды фосфата кальция, аптамеры, пептиды и другие векторные метки.

Липосомные среды-носители для доставки

[0130] В некоторых вариантах осуществления подходящая среда-носитель для доставки представляет собой липосомную среду-носитель для доставки, *например*, липидную наночастицу (LNP) или липосому. В некоторых вариантах осуществления липосомы могут содержать один или несколько катионных липидов. В некоторых вариантах осуществления липосома содержит один или несколько катионных липидов, один или несколько липидов, отличных от катионных, один или несколько липидов на основе холестерина и один или несколько PEG-модифицированных липидов. В некоторых вариантах осуществления липосома содержит один или несколько катионных липидов, один или несколько липидов, отличных от катионных, и один или несколько PEG-модифицированных липидов. В некоторых вариантах осуществления липосома содержит не более четырех отличных липидных компонентов. В некоторых вариантах осуществления липосома содержит не более трех отличных липидных компонентов. В некоторых вариантах осуществления один отличный липидный компонент представляет собой катионный липид на основе стерина.

[0131] Используемая в данном документе фраза «катионный липид» относится к любому из ряда липидных соединений, которые имеют суммарный положительный заряд при выбранном pH, например, физиологическом pH. Некоторые катионные липиды были описаны в литературе, многие из которых коммерчески доступны. Примеры подходящих катионных липидов для применения в композициях и способах по настоящему изобретению включают описанные в международных публикациях патентных заявок WO 2010/053572 (например, C12-200, описанный в параграфе [00225]) и WO 2012/170930, обе из которых включены в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления в композициях и способах по настоящему изобретению используются липидные наночастицы, содержащие ионизируемый катионный липид, описанные в предварительной заявке на патент США № 61/617468, поданной 29 марта 2012 г. (включенной в данный документ посредством ссылки), такой как, *например*, (15Z, 18Z)-N,N-диметил-6-(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-

1-ил)тетракоза-15,18-диен-1-амин (HGT5000), (15Z,18Z)-N,N-диметил-6-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)тетракоза-4,15,18-триен-1-амин (HGT5001) и (15Z,18Z)-N,N-диметил-6-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)тетракоза-5,15,18-триен-1-амин (HGT5002).

[0132] В некоторых вариантах осуществления представленные липосомы включают катионный липид, описанный в международных публикациях патентных заявок WO 2013/063468 и WO 2015/061467, обе из которых включены в данный документ посредством ссылки.

[0133] В конкретных вариантах осуществления представленные липосомы включают катионный липид cKK-E12 или (3,6-бис(4-(бис(2-гидроксидодецил)амино)бутил)пиперазин-2,5-дион, OF-00, OF-01, OF-02 или OF-03 (см., например, Fenton, Owen S., *et al.* «Bioinspired Alkenyl Amino Alcohol Ionizable Lipid Materials for Highly Potent In Vivo mRNA Delivery», *Advanced materials* (2016)).

[0134] В некоторых вариантах осуществления подходящими катионными липидами могут быть хлорид N-[1-(2,3-диолеилокси)пропил]-N,N,N-триметиламмония или «DOTMA» (Feigner *et al.* (Proc. Nat'l Acad. Sci. 84, 7413 (1987); патент США № 4897355). DOTMA может быть составлен отдельно или может быть объединен с нейтральным липидом, диолеоилфосфатидилэтаноламином или «DOPE» или другими катионными или липидами, отличными от катионных, в липосомную транспортную среду-носитель или липидную наночастицу, и такие липосомы могут быть использованы для улучшения доставки нуклеиновых кислот в целевые клетки. Другие подходящие катионные липиды включают, например, 5-карбоксиспермилглициндиоктадециламид или «DOGS», 2,3-диолеилокси-N-[2(спермин-карбоксамидо)этил]-N,N-диметил-1-пропанаминий или «DOSPA» (Behr *et al.* Proc. Nat'l Acad. Sci. 86, 6982 (1989), патент США № 5171678, патент США № 5334761), 1,2-диолеоил-3-диметиламмонияпропан или «DODAP», пропан 1,2-диолеоил-3-триметиламмония или «DOTAP».

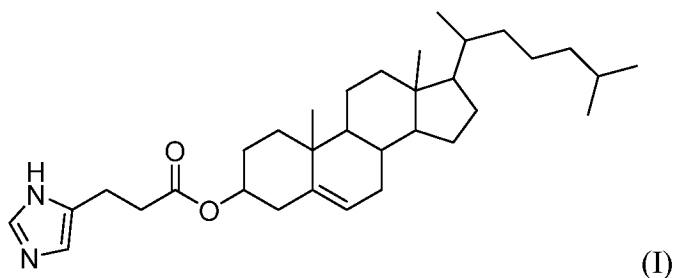
[0135] Дополнительные иллюстративные катионные липиды также включают 1,2-дистеарилокси-N,N-диметил-3-аминопропан или «DSDMA», 1,2-диолеилокси-N,N-диметил-3-аминопропан или «DODMA», 1,2-дилинолеилокси-N,N-диметил-3-аминопропан или «DLinDMA», 1,2-дилиноленилокси-N,N-диметил-3-аминопропан или «DLenDMA», хлорид N-диолеил-N,N-диметиламмония или «DODAC», бромид N,N-

дистеарил-N,N-диметиламмония или «DDAB», бромид N-(1,2-димиристилоксипроп-3-ил)-N,N-диметил-N-гидроксиэтиламмония или «DMRIE», 3-диметиламино-2-(холест-5-ен-3-бета-оксибутан-4-окси)-1-(цис,цис-9,12-октадекадиенокси)пропан или «CLinDMA», 2-[5'-(холест-5-ен-3-бета-окси)-3'-оксапентокси]-3-диметил-1-(цис,цис-9',12'-октадекадиенокси)пропан или «CpLinDMA», N,N-диметил-3,4-диолеилоксибензиламин или «DMOBA», 1,2-N,N'-диолеилкарбамил-3-диметиламинопропан или «DOcarbDAP», 2,3-дилинолеоилокси-N,N-диметилпропиламин или «DLinDAP», 1,2-N,N'-дилинолеилкарбамил-3-диметиламинопропан или «DLincarbDAP», 1,2-дилинолеоилкарбамил-3-диметиламинопропан или «DLinCDAP», 2,2-дилинолеил-4-диметиламинометил-[1,3]-диоксолан или «DLinDMA», 2,2-дилинолеил-4-диметиламиноэтил-[1,3]-диоксолан или «DLin-K-XTC2-DMA» и 2-(2,2-ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-1,3-диоксолан-4-ил)-N,N-диметилэтанамин (DLin-KC2-DMA)) (см. WO 2010/042877; Semple *et al.*, Nature Biotech. 28: 172-176 (2010)) или их смеси. (Heyes, J., *et al.*, J Controlled Release 107: 276-287 (2005); Morrissey, DV., *et al.*, Nat. Biotechnol. 23(8): 1003-1007 (2005); PCT публикация WO 2005/121348A1). В некоторых вариантах осуществления один или несколько из катионных липидов включают по меньшей мере один из фрагмента имидазола, диалкиламино или гуанидиния.

[0136] В некоторых вариантах осуществления один или несколько катионных липидов могут быть выбраны из XTC (2,2-дилинолеил-4-диметиламиноэтил-[1,3]-диоксолан), MC3 (((6Z,9Z,28Z,31Z)-гептатриаконта-6,9,28,31-тетраен-19-ил-4-(диметиламино)бутаноат), ALNY-100 ((3aR,5s,6aS)-N,N-диметил-2,2-ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диенил)тетрагидро-3aH-циклопента[d][1,3]диоксол-5-амин)), NC98-5 (4,7,13-трис(3-оксо-3-(ундециламино)пропил)-N1,N16-диундецил-4,7,10,13-тетраазагексадекан-1,16-диамид), HGT4003 (WO 2012/170889, описание которой включено в данный документ посредством ссылки в полном своем объеме), ICE (WO 2011/068810, описание которой включено в данный документ посредством ссылки в полном своем объеме) и аминокспирт-липидоидов, таких как описанные в WO2010/053572.

[0137] В некоторых вариантах осуществления катионные липиды на основе стерина могут быть использованы вместо катионных липидов, описанных в данном документе, или в дополнение к таковым. Подходящими катионными липидами на основе стерина являются содержащие диалкиламино, имидазол и гуанидиний

катионные липиды на основе стерина. Например, некоторые варианты осуществления относятся к композиции, содержащей один или несколько катионных липидов на основе стерина, содержащих имидазол, например, сложный эфир холестерина, содержащий имидазол, или липид «ICE» (3S,10R,13R,17R)-10,13-диметил-17-((R)-6-метилгептан-2-ил)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-тетрадекагидро-1H-циклопента[а]фенантрен-3-ил-3-(1H-имидазол-4-ил)пропаноат, представленный приведенной ниже структурой (I). В определенных вариантах осуществления липидная наночастица для доставки РНК (*например*, mRNA), кодирующей функциональный белок, может содержать один или несколько катионных липидов на основе имидазола, например, сложный эфир холестерина, содержащий имидазол, или липид «ICE» (3S,10R,13R,17R)-10,13-диметил-17-((R)-6-метилгептан-2-ил)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-тетрадекагидро-1H-циклопента[а]фенантрен-3-ил-3-(1H-имидазол-4-ил)пропаноат, представленный структурой (I).



[0138] В некоторых вариантах осуществления процентное содержание катионного липида в липосоме может составлять более чем 10%, более чем 20%, более чем 30%, более чем 40%, более чем 50%, более чем 60% или более чем 70%. В некоторых вариантах осуществления катионный(катионные) липид(липиды) составляет(составляют) приблизительно 30-50% (*например*, приблизительно 30-45%, приблизительно 30-40%, приблизительно 35-50%, приблизительно 35-45% или приблизительно 35-40%) липосомы по массе. В некоторых вариантах осуществления катионный липид (*например*, липид ICE) составляет приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45% или приблизительно 50% липосомы по молярному отношению.

[0139] Используемая в данном документе фраза «липид, отличный от катионного,» относится к любому нейтральному, цвиттерионному или анионному липиду. Используемая в данном документе фраза «анионный липид» относится к

любому из ряда липидных соединений, которые несут суммарный отрицательный заряд при выбранном pH, например, физиологическом pH. Липиды, отличные от катионных, включают без ограничения дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), диолеоилфосфатидилхолин (DOPC), дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), диолеоилфосфатидилглицерол (DOPG), дипальмитоилфосфатидилглицерол (DPPG), диолеоилфосфатидилэтаноламин (DOPE), пальмитоилолеоилфосфатидилхолин (POPC), пальмитоилолеоил-фосфатидилэтаноламин (POPE), диолеоилфосфатидилэтаноламин-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилат (DOPE-mal), дипальмитоилфосфатидилэтаноламин (DPPE), димиристоилфосфоэтаноламин (DMPE), дистеароилфосфатидилэтаноламин (DSPE), фосфатидилсерин, сфинголипиды, цереброзиды, ганглиозиды, 16-О-монометил PE, 16-О-диметил PE, 18-1-транс PE, 1-стеароил-2-олеоил-фосфатидилэтаноламин (SOPE) или их смесь.

[0140] В некоторых вариантах осуществления такие липиды, отличные от катионных, могут быть использованы отдельно, но предпочтительно используются в комбинации с другими липидами, например, катионными липидами. В некоторых вариантах осуществления липид, отличный от катионного, может характеризоваться молярным соотношением от приблизительно 5% до приблизительно 90% или от приблизительно 10% до приблизительно 70% от общего количества липида, присутствующего в липосоме. В некоторых вариантах осуществления липид, отличный от катионного, представляет собой нейтральный липид, *т. е.* липид, который не несет суммарный заряд при условиях составления и/или введения композиции. В некоторых вариантах осуществления процентное содержание липида, отличного от катионного, в липосоме может составлять более чем 5%, более чем 10%, более чем 20%, более чем 30% или более чем 40%.

[0141] Подходящие катионные липиды на основе холестерина включают, например, DC-Chol (N,N-диметил-N-этилкарбоксамидохолестерин), 1,4-бис(3-N-олеиламино-пропил)пиперазин (Gao, *et al.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 179, 280 (1991); Wolf *et al.* BioTechniques 23, 139 (1997), патент США № 5744335) или ICE. В некоторых вариантах осуществления липид на основе холестерина может характеризоваться молярным соотношением от приблизительно 2% до приблизительно 30% или от приблизительно 5% до приблизительно 20% от общего количества липида, присутствующего в липосоме. В некоторых вариантах осуществления процентное

содержание липида на основе холестерина в липидной наночастице может составлять более чем 5%, более чем 10%, более чем 20%, более чем 30% или более чем 40%.

[0142] Применение полиэтиленгликоль (PEG)-модифицированных фосфолипидов и дериватизированных липидов, таких как дериватизированные церамиды (PEG-CER), включая N-октаноил-сфингозин-1-[сукцинил(метоксиполиэтиленгликоль)-2000] (церамид C8 PEG-2000), также предусмотрено в настоящем изобретении, либо отдельно, либо предпочтительно в комбинации с другими липидными составами, вместе с которыми входят в состав транспортной среды-носителя (*например*, липидной наночастицы). Рассматриваемые PEG-модифицированные липиды включают без ограничения полиэтиленгликолевую цепь до 5 кДа в длину, ковалентно присоединенную к липиду с алкильной(алкильными) цепью(цепями) длиной C₆-C₂₀. Добавление таких компонентов может предотвращать агрегацию комплекса, а также может обеспечивать средство повышения продолжительности циркуляции и усиления доставки композиции липид-нуклеиновая кислота в целевые ткани (Klibanov *et al.* (1990) FEBS Letters, 268 (1): 235-237), или они могут быть выбраны для быстрого замещения из состава *in vivo* (см. патент США № 5885613). Особенно применимыми заменяемыми липидами являются PEG-церамиды, имеющие более короткие ацильные цепи (*например*, C14 или C18). PEG-модифицированный фосфолипид и дериватизированные липиды по настоящему изобретению могут характеризоваться молярным соотношением от приблизительно 0% до приблизительно 20%, от приблизительно 0,5% до приблизительно 20%, от приблизительно 1% до приблизительно 15%, от приблизительно 4% до приблизительно 10% или от приблизительно 2% от общего количества липида, присутствующего в липосомной транспортной среде-носителе.

[0143] В различных вариантах осуществления выбор катионных липидов, липидов, отличных от катионных, и/или PEG-модифицированных липидов, которые содержат липидную наночастицу, а также относительное молярное соотношение таких липидов друг к другу, основаны на характеристиках выбранного(выбранных) липида(липидов), природе предполагаемых целевых клеток, характеристиках mRNA, подлежащей доставке. Дополнительные критерии включают, например, насыщенность алкильной цепи, а также размер, заряд, pH, pKa, фузогенность и токсичность выбранного(выбранных) липида(липидов). Таким образом, можно соответственно регулировать молярные отношения.

[0144] В некоторых вариантах осуществления подходящую среду-носитель для доставки составляют с использованием полимера в качестве носителя, отдельно или в комбинации с другими носителями, в том числе различными липидами, описанными в данном документе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления липосомные среды-носители для доставки, как используется в данном документе, также охватывают наночастицы, содержащие полимеры. Подходящие полимеры могут включать, например, полиакрилаты, полиалкилцианоакрилаты, полилактид, сополимеры полилактида и полигликолида, поликапролактоны, декстран, альбумин, желатин, альгинат, коллаген, хитозан, циклодекстрины, протамин, пегилированный протамин, PLL, пегилированный PLL и полиэтиленимин (PEI). Если присутствует PEI, это может быть разветвленный PEI с молекулярной массой, находящейся в диапазоне от 10 до 40 кДа, *например*, разветвленный PEI 25 кДа (Sigma, № 408727).

[0145] Подходящие липосомы для настоящего изобретения могут включать один или несколько из любых катионных липидов, липидов, отличных от катионных, липидов на основе холестерина, PEG-модифицированных липидов и/или полимеров, описанных в данном документе, в различных отношениях. В качестве неограничивающих примеров подходящий липосомный состав может включать комбинацию, выбранную из сКК-E12, DOPE, холестерина и DMG-PEG2K; C12-200, DOPE, холестерина и DMG-PEG2K; HGT4003, DOPE, холестерина и DMG-PEG2K; ICE, DOPE, холестерина и DMG-PEG2K или ICE, DOPE и DMG-PEG2K.

[0146] В различных вариантах осуществления катионные липиды (*например*, сКК-E12, C12-200, ICE и/или HGT4003) составляют приблизительно 30-60% (*например*, приблизительно 30-55%, приблизительно 30-50%, приблизительно 30-45%, приблизительно 30-40%, приблизительно 35-50%, приблизительно 35-45% или приблизительно 35-40%) липосомы по молярному отношению. В некоторых вариантах осуществления процентное содержание катионных липидов (*например*, сКК-E12, C12-200, ICE и/или HGT4003) составляет или превышает приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50%, приблизительно 55% или приблизительно 60% липосомы по молярному отношению.

[0147] В некоторых вариантах осуществления соотношение катионного(катионных) липида(липидов) к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к липиду(липидам) на основе холестерина к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) может составлять

приблизительно 30:60:25:35:20:30:1-15 соответственно. В некоторых вариантах осуществления соотношение катионного(катионных) липида(липидов) к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к липиду(липидам) на основе холестерина к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет приблизительно 40:30:20:10 соответственно. В некоторых вариантах осуществления соотношение катионного(катионных) липида(липидов) к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к липиду(липидам) на основе холестерина к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет приблизительно 40:30:25:5 соответственно. В некоторых вариантах осуществления соотношение катионного(катионных) липида(липидов) к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к липиду(липидам) на основе холестерина к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет приблизительно 40:32:25:3 соответственно. В некоторых вариантах осуществления соотношение катионного(катионных) липида(липидов) к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к липиду(липидам) на основе стерина к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет 50:45:5. В некоторых вариантах осуществления соотношение липида(липидов) на основе стерина к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет 50:40:10. В некоторых вариантах осуществления соотношение липида(липидов) на основе стерина к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет 55:40:5. В некоторых вариантах осуществления соотношение липида(липидов) на основе стерина к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет 55:35:10. В некоторых вариантах осуществления соотношение липида(липидов) на основе стерина к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет 60:35:5. В

некоторых вариантах осуществления соотношение липида(липидов) на основе стерина к липиду(липидам), отличному(отличным) от катионного(катионных), к PEG-модифицированному(модифицированным) липиду(липидам) составляет 60:30:10.

[0148] В некоторых вариантах осуществления номинальное соотношение зарядов азота/фосфора (N/P), что относится к положительно заряженным атомам азота в катионном липиде и отрицательно заряженным фосфодиэфирным связям в mRNA, составляет от приблизительно 1 до 10. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 1. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 2. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 3. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 4. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 5. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 6. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 7. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 8. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 9. В некоторых вариантах осуществления N/P составляет приблизительно 10.

[0149] Липосома, содержащая ICE, DOPE и DMG-PEG2K, особенно подходит для применения по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE и DOPE при молярном отношении ICE:DOPE $>1:1$. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DOPE составляет $<2,5:1$. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DOPE составляет от 1:1 до 2,5:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DOPE составляет приблизительно 1,5:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DOPE составляет приблизительно 1,7:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DOPE составляет приблизительно 2:1. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DMG-PEG-2K $>10:1$. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DMG-PEG-2K составляет $<16:1$. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DMG-PEG-2K составляет приблизительно 12:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение ICE:DMG-PEG-2K составляет приблизительно 14:1. В некоторых вариантах осуществления подходящая

для настоящего изобретения липосома содержит DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении DOPE: DMG-PEG-2K $>5:1$. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение DOPE: DMG-PEG-2K составляет $<11:1$. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение DOPE: DMG-PEG-2K составляет приблизительно 7:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение DOPE: DMG-PEG-2K составляет приблизительно 10:1. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении 50%-60% ICE, 30%-40% DOPE и 5%-10% DMG-PEG-2K. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DOPE:DMG-PEG-2K 50:45:5. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DOPE:DMG-PEG-2K 50:40:10. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DOPE:DMG-PEG-2K 55:40:5. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DOPE:DMG-PEG-2K 55:35:10. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DOPE:DMG-PEG-2K 60:35:5. В некоторых вариантах осуществления подходящая для настоящего изобретения липосома содержит ICE, DOPE и DMG-PEG-2K при молярном отношении ICE:DOPE:DMG-PEG-2K 60:30:10.

[0150] Липосомные транспортные среды-носители для применения в композициях по настоящему изобретению могут быть получены посредством различных методик, которые в настоящее время известны в уровне техники. Различные способы описаны в опубликованной заявке на патент США № US 2011/0244026, опубликованной заявке на патент США № US 2016/0038432 и предварительной заявке на патент США № 62/580155, поданной 1 ноября 2017 г., и могут быть использованы в осуществлении настоящего изобретения, все из которых включены в данный документ посредством ссылки.

[0151] Вкратце, способ получения улучшенных липидных липосом CFTR-mRNA включает стадию нагревания одного или нескольких растворов (*т. е.* применение тепла от источника тепла в отношении раствора) до температуры (или

поддержания температуры) выше, чем температура окружающей среды, при этом еще один раствор представляет собой раствор, содержащий предварительно сформированные липидные наночастицы, раствор, содержащий mRNA, и смешанный раствор, содержащий инкапсулированную в липидные наночастицы mRNA. В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию нагревания одного или обоих из раствора mRNA и раствора предварительно сформированных липидных наночастиц перед стадией смешивания. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание одного или нескольких из раствора, содержащего предварительно сформированные липидные наночастицы, раствора, содержащего mRNA, и раствора, содержащего инкапсулированную в липидные наночастицы mRNA, во время стадии смешивания. В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию нагревания инкапсулированной в липидные наночастицы mRNA после стадии смешивания. В некоторых вариантах осуществления температура, до которой нагревают один или несколько растворов (или при которой поддерживают один или несколько растворов) составляет или превышает приблизительно 30°C, 37°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C или 70°C. В некоторых вариантах осуществления температура, до которой нагревают один или несколько растворов находится в диапазоне от приблизительно 25 до 70°C, от приблизительно 30 до 70°C, от приблизительно 35 до 70°C, от приблизительно 40 до 70°C, от приблизительно 45 до 70°C, от приблизительно 50 до 70°C или от приблизительно 60 до 70°C. В некоторых вариантах осуществления температура, превышающая температуру окружающей среды, до которой нагревают один или несколько растворов, составляет приблизительно 65°C.

[0152] Для облечения экспрессии mRNA *in vivo* среды-носители для доставки, такие как липосомы, могут быть составлены в комбинации с одним или несколькими из дополнительных нуклеиновых кислот, носителей, нацеливающих лигандов или стабилизирующих реагентов, или в фармакологических композициях, где их смешивают с подходящими вспомогательными средствами. Методики для составления и введения лекарственных средств можно найти в «Remington's Pharmaceutical Sciences», Mack Publishing Co., Easton, Pa., последнее издание.

[0153] Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» в значительной степени определяется на основе общего количества терапевтического средства, содержащегося в фармацевтических композициях по

настоящему изобретению. Обычно терапевтически эффективного количества достаточно для достижения значимой пользы для субъекта (*например*, лечения, модулирования, излечения, предупреждения и/или облегчения кистозного фиброза). Например, терапевтически эффективное количество может быть количеством, достаточным для достижения желаемого терапевтического и/или профилактического эффекта.

[0154] В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая mRNA, кодирующую CFTR, содержит mRNA при концентрации, составляющей по меньшей мере 0,1 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая mRNA, кодирующую CFTR, содержит mRNA при концентрации, составляющей по меньшей мере 0,2 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая mRNA, кодирующую CFTR, содержит mRNA при концентрации, составляющей по меньшей мере 0,3 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая mRNA, кодирующую CFTR, содержит mRNA при концентрации, составляющей по меньшей мере 0,4 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 0,5 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 0,6 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 0,7 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 0,8 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 0,9 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 1,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 2,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 3,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 4,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 5,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 6,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 7,0 мг/мл. В некоторых

вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 8,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 9,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, составляет по меньшей мере 10,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, находится в диапазоне от 0,1 мг/мл до 10,0 мг/мл. Как правило, концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, находится в диапазоне от 0,5 мг/мл до 0,8 мг/мл, *например*, составляет 0,6 мг/мл.

[0155] В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую mRNA, кодирующую CFTR, составляют с разбавителем. В некоторых вариантах осуществления разбавитель выбран из группы, состоящей из DMSO, этиленгликоля, глицерола, 2-метил-2,4-пентандиола (MPD), пропиленгликоля, сахарозы и трегалозы. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% или 20% разбавителя.

[0156] Трегалоза в качестве разбавителя, как было показано, особенно эффективна в обеспечении стабильной композиции, содержащей инкапсулированную в липосомы mRNA, кодирующую CFTR. Подходящая концентрация трегалозы составляет от приблизительно 5% до приблизительно 15% (вес/об.), *например*, приблизительно 10% (вес/об.).

Лиофилизация

[0157] Липосомные композиции mRNA CFTR по настоящему изобретению могут быть предоставлены в форме сухого порошка. В некоторых вариантах осуществления сухой порошок mRNA CFTR формируют путем лиофилизации комплекса mRNA-липид. Тем самым заявитель полностью включает посредством ссылки свою более раннюю заявку на патент № US14/124615, поданную 06.08.2012 г., по которой был выдан патент США № 9717690 08.01.2017 г. Лиофилизированный сухой порошок подходит для длительного хранения. Он может быть восстановлен с помощью очищенной воды для введения субъекту при необходимости в этом. В некоторых вариантах осуществления при восстановлении с помощью соответствующей регидратационной среды (*например*, очищенной воды, деионизированной воды, 5% декстрозы (вес/об.), 10% трегалозы (вес/об.) и/или нормального солевого раствора)

восстановленная композиция демонстрирует фармакологическую или биологическую активность, сравнимую с наблюдаемой до лиофилизации. Например, в определенных вариантах осуществления фармакологическая и биологическая активность инкапсулированного полинуклеотида эквивалентна наблюдаемой до лиофилизации композиции; или, в качестве альтернативы, демонстрирует незначительное снижение фармакологической и биологической активности (*например*, снижение на менее чем приблизительно 1%, 2%, 2,5%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8% 9% или 10% биологической или фармакологической активности инкапсулированного полинуклеотида).

[0158] В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие лиофилизированные наночастицы или липосомные среды-носители для доставки характеризуются как стабильные (*например*, такие же стабильные, как фармацевтические композиции, содержащие эквивалентные нелиофилизированные среды-носители). Ллиофилизация липидных наночастиц существенно не изменяет или не меняет размер частиц липидных наночастиц после лиофилизации и/или восстановления. Например, в данном документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие лиофилизированные липидные среды-носители для доставки, при этом при восстановлении (*например*, очищенной водой) липидные наночастицы не флоккулируются или не агрегируются, или, в качестве альтернативы, наблюдается ограниченная или незначительная флоккуляция или агрегация (*например*, как определяют по размеру частиц восстановленных липидных наночастиц).

[0159] Следовательно, в определенных вариантах осуществления при восстановлении лиофилизированной липидной наночастицы липидные наночастицы имеют Dv_{50} , составляющее менее чем приблизительно 500 нм (*например*, менее чем приблизительно 300 нм, 200 нм, 150 нм, 125 нм, 120 нм, 100 нм, 75 нм, 50 нм, 25 нм или меньше). Подобным образом, в определенных вариантах осуществления при восстановлении лиофилизированной липидной наночастицы липидные наночастицы имеют Dv_{90} , составляющее менее чем приблизительно 750 нм (*например*, менее чем приблизительно 700 нм, 500 нм, 300 нм, 200 нм, 150 нм, 125 нм, 100 нм, 75 нм, 50 нм, 25 нм или меньше).

[0160] В других вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие лиофилизированные липидные среды-носители для доставки

характеризуются индексом полидисперсности, составляющим менее чем приблизительно 1 (*например*, менее чем 0,95, 0,9, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,25, 0,2, 0,1, 0,05 или меньше). В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие лиофилизированные липидные среды-носители для доставки, демонстрируют пониженную тенденцию к флокуляции или иной агрегации (*например*, в ходе лиофилизации или при восстановлении). Например, при восстановлении липидные среды-носители для доставки могут иметь средний размер частиц (Z_{ave}), составляющий менее чем 500 нм (*например*, менее чем приблизительно 400 нм, 300 нм, 200 нм, 175 нм, 150 нм, 125 нм, 100 нм, 75 нм, 50 нм, 25 нм или меньше в растворе PBS). Как правило, средний размер частиц (Z_{ave}) липидных сред-носителей для доставки для применения по настоящему изобретению составляет от 40 нм до 60 нм.

[0161] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированные липидные среды-носители для доставки (*например*, лиофилизированные липидные наночастицы) дополнительно содержат один или несколько лиопротекторов (*например*, сахаров и/или углеводов) или, в качестве альтернативы, их получают с использованием таковых. В определенных вариантах осуществления включение одного или нескольких лиопротекторов в липидную наночастицу может улучшать или иным образом усиливать стабильность лиофилизированных липидных сред-носителей для доставки (*например*, при нормальных условиях хранения) и/или облегчать восстановление лиофилизированных липидных сред-носителей для доставки с использованием регидратационной среды, с получением тем самым водного состава. Например, в определенных вариантах осуществления получают липидные наночастицы, и перед лиофилизацией буфер, присутствующий в липосомном составе, может быть заменен (*например*, посредством центрифугирования) лиопротектором, таким как раствор или суспензия сахарозы (*например*, водный раствор, содержащий от приблизительно 1 до 50% (вес/об.) или от 10 до 25% (вес/об.) сахарозы). В некоторых вариантах осуществления лиопротектором является трегалоза. В некоторых вариантах осуществления лиопротектор содержит 10-50% (вес/об.), или 10-25% (вес/об.), или 10-20% (вес/об.), или 10-15% (вес/об.) трегалозы. Другие лиопротекторы, которые могут быть использованы для получения лиофилизированных композиций, описанных в данном документе, включают, например, декстран (*например*, 1,5 кДа, 5 кДа и/или 40 кДа) и инулин (*например*, 1,8 кДа и/или 4 кДа). Леофилизированные липидные среды-

носители для доставки характеризуются эффективностью инкапсулирования, составляющей более чем приблизительно 80%.

[0162] Фармацевтическая композиция, содержащая лиофилизированную липидную наночастицу, содержащую кодирующую CFTR mRNA, стабильна при 4°C в течение по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 2 месяцев, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 4 месяцев, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев или в течение по меньшей мере 1 года. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированные липидные среды-носители для доставки могут храниться в холодильнике и оставаться стабильными (*например*, как показано по минимальным потерям или отсутствию потерь их предполагаемой фармацевтической или биологической активности) на протяжении длительных периодов времени (*например*, стабильны в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 36 месяцев или дольше при хранении при приблизительно 4°C). В других вариантах осуществления лиофилизированные липидные среды-носители для доставки могут храниться в холодильнике и оставаться стабильными на протяжении длительных периодов времени (*например*, стабильны в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 36 месяцев или дольше при хранении при приблизительно 25°C).

[0163] Фармацевтическая композиция в лиофилизированной форме может храниться в замороженном состоянии в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 10 лет без потери фармакологической или биологической активности.

[0164] Следовательно, также в данном документе представлены способы лечения заболевания у субъекта путем введения эффективного количества фармацевтических композиций, содержащих лиофилизированные среды-носители для доставки mRNA CFTR-липид, субъекту (*например*, при восстановлении с помощью регидратационной среды, такой как стерильная вода для инъекции).

[0165] В некоторых вариантах осуществления состав вводят с помощью дозирующего ингалятора.

[0166] В некоторых вариантах осуществления состав вводят с помощью небулайзера.

[0167] Подходящий состав mRNA CFTR для распыления можно хранить в виде замороженной жидкости, или стерильной жидкости, или лиофилизированного или

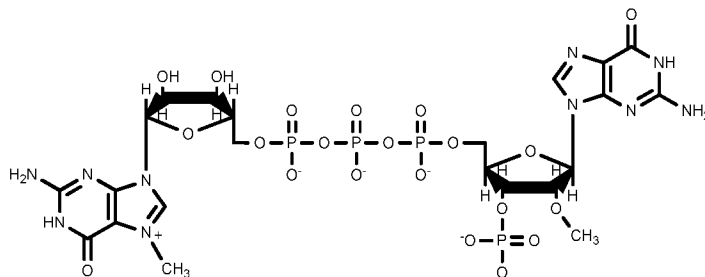
сухого порошка и восстанавливать перед распылением. В некоторых вариантах осуществления композицию хранят в одноразовом флаконе до распыления. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 50 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 40 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 30 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 20 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 10 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 9,0 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 8,0 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 7,0 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 6,0 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит 5,0 мл или меньше композиции. В некоторых вариантах осуществления одноразовый флакон содержит от 4,0 мл до 5,0 мл композиции. Чаще всего, одноразовый флакон содержит от 3,0 до 4,0 мл композиции. В конкретном варианте осуществления одноразовый флакон содержит 3,2 мл композиции.

Иллюстративные составы

Композиции, содержащие SEQ ID NO: 28

[0168] В вариантах осуществления композиция содержит

- a. mRNA, кодирующую белок CFTR, при этом mRNA содержит
 - i. последовательность, указанную под SEQ ID NO: 28;
 - ii. 5'-кэп-структуру, при этом 5'-кэп-структура представляет собой



(“m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)”), и

iii. поли-А-хвост от 200 до 1000 аденозиновых нуклеотидов,

- b. сложный эфир холестерина, содержащий имидазол (ICE),
- c. 1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE),
- d. 1,2-димиристоил-гас-глицеро-3-метилполиоксиэтилен (DMG-PEG-2K) и
- e. трегалозу.

[0169] В вариантах осуществления mRNA под SEQ ID NO: 28 характеризуется средней молекулярной массой, составляющей приблизительно 1,63 мегадальтона. В вариантах осуществления 5'-UTR, старт-кодон hCFTR, стоп-кодон hCFTR и 3'-UTR mRNA под SEQ ID NO: 28 указаны в **таблице А**. В вариантах осуществления концентрация mRNA составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0170] В вариантах осуществления соотношение азот/фосфор (N/P) (*т. е.* соотношение положительно заряженных атомов азота в ICE к отрицательно заряженным фосфодиэфирным липидам с mRNA) составляет приблизительно 4. В вариантах осуществления диапазон среднего размера частиц для состава LNP составляет от приблизительно 40 до 60 нм.

[0171] Иллюстративные композиции, содержащие mRNA под SEQ ID NO: 28, также включают описанные в **таблице D**.

Таблица D. Иллюстративные составы под SEQ ID NO: 28

	Состав 1	Состав 2	Состав 3	Состав 4
mRNA CFTR	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 28
5'-Кэп	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)
5'-UTR	как описано в таблице А	как описано в таблице А	как описано в таблице А	как описано в таблице А
Старт-кодон hCFTR	AUG	AUG	AUG	AUG
Стоп-кодон hCFTR	UAA	UAA	UAA	UAA
3'-UTR	как описано в таблице А	как описано в таблице А	как описано в таблице А	как описано в таблице А

	Состав 1	Состав 2	Состав 3	Состав 4
Поли-А-хвост	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов
ICE:DOPE: DMG-PEG-2K	60:35:5	60:30:10	60:35:5	60:35:5
Разбавитель	10% трегалозы	10% трегалозы	10% сахарозы	10% глюкозы
Средний размер частиц	40-60 нм	40-60 нм	40-60 нм	40-60 нм
Соотношение зарядов N/P	4	4	4	4

[0172] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 1. В вариантах осуществления состав 1 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0173] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 2. В вариантах осуществления состав 2 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0174] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 3. В вариантах осуществления состав 3 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0175] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 4. В вариантах осуществления состав 4 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

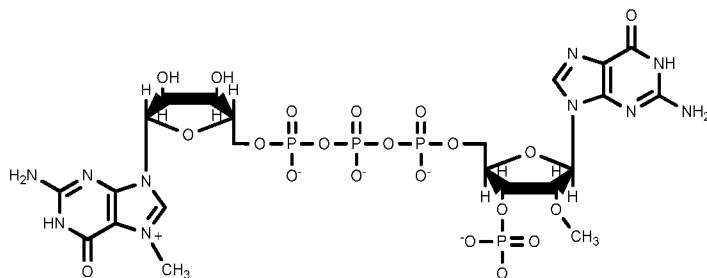
Композиции, содержащие SEQ ID NO: 29

[0176] В вариантах осуществления композиция содержит

a. mRNA, кодирующую белок CFTR, при этом mRNA содержит

i. последовательность, указанную под SEQ ID NO: 29;

ii. 5'-кэп-структуру, при этом 5'-кэп-структура представляет собой



(“m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)”), и

iii. поли-А-хвост от 200 до 1000 аденозиновых нуклеотидов;

- b. сложный эфир холестерина, содержащий имидазол (ICE);
- c. 1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE),
- d. 1,2-димиристоил-гас-глицеро-3-метилполиоксиэтилен (DMG-PEG-2K) и
- e. трегалозу.

[0177] В вариантах осуществления mRNA под SEQ ID NO: 29 характеризуется средней молекулярной массой, составляющей приблизительно 1,63 мегадальтона. В вариантах осуществления 5'-UTR, старт-кодон hCFTR, стоп-кодон hCFTR и 3'-UTR mRNA под SEQ ID NO: 29 указаны в **таблице В**. В вариантах осуществления концентрация mRNA составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0178] В вариантах осуществления соотношение азот/фосфор (N/P) (*т. е.* соотношение положительно заряженных атомов азота в ICE к отрицательно заряженным фосфодиэфирным липидам с mRNA) составляет приблизительно 4. В вариантах осуществления диапазон среднего размера частиц для состава LNP составляет от приблизительно 40 до 60 нм.

[0179] Иллюстративные композиции, содержащие mRNA под SEQ ID NO: 29, также включают описанные в **таблице Е**.

Таблица Е. Иллюстративные составы под SEQ ID NO: 29

	Состав 5	Состав 6	Состав 7	Состав 8
mRNA CFTR	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 29
5'-Кэп	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)
5'-UTR	как описано в таблице В	как описано в таблице В	как описано в таблице В	как описано в таблице В

	Состав 5	Состав 6	Состав 7	Состав 8
Старт-кодон hCFTR	AUG	AUG	AUG	AUG
Стоп-кодон hCFTR	UAA	UAA	UAA	UAA
3'-UTR	как описано в таблице В	как описано в таблице В	как описано в таблице В	как описано в
Поли-А-хвост	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов
ICE:DOPE: DMG-PEG-2K	60:35:5	60:30:10	60:35:5	60:35:5
Разбавитель	10% трегалозы	10% трегалозы	10% сахарозы	10% глюкозы
Средний размер частиц	40-60 нм	40-60 нм	40-60 нм	40-60 нм
Соотношение зарядов N/P	4	4	4	4

[0180] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 5. В вариантах осуществления состав 5 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0181] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 6. В вариантах осуществления состав 6 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

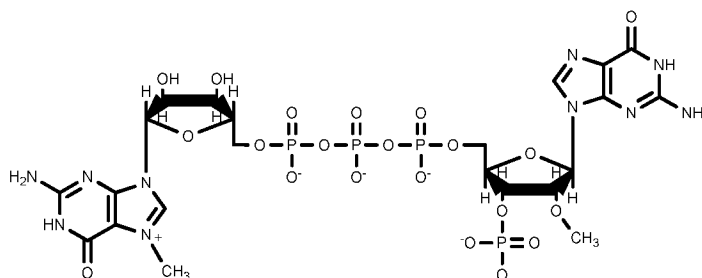
[0182] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 7. В вариантах осуществления состав 7 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0183] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 8. В вариантах осуществления состав 8 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

Композиции, содержащие SEQ ID NO: 30

[0184] В вариантах осуществления композиция содержит

- a. mRNA, кодирующую белок CFTR, при этом mRNA содержит
 - i. последовательность, указанную под SEQ ID NO : 30;
 - ii. 5'-кэп-структуру, при этом 5'-кэп-структура представляет собой



(“m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)”), и

- iii. поли-A-хвост от 200 до 1000 аденозиновых нуклеотидов;
- b. сложный эфир холестерина, содержащий имидазол (ICE),
- c. 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE),
- d. 1,2-димиристоил-гас-глицеро-3-метилполиоксиэтилен (DMG-PEG-2K) и
- e. трегалозу.

[0185] В вариантах осуществления mRNA под SEQ ID NO: 30 характеризуется средней молекулярной массой, составляющей приблизительно 1,63 мегадальтона. В вариантах осуществления 5'-UTR, старт-кодон hCFTR, стоп-кодон hCFTR и 3'-UTR mRNA под SEQ ID NO: 30 указаны в **таблице С**. В вариантах осуществления концентрация mRNA составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0186] В вариантах осуществления соотношение азот/фосфор (N/P) (*т. е.*, соотношение положительно заряженных атомов азота в ICE к отрицательно заряженным фосфодиэфирным липидам с mRNA) составляет приблизительно 4. В вариантах осуществления диапазон среднего размера частиц для состава LNP составляет от приблизительно 40 до 60 нм.

[0187] Иллюстративные композиции, содержащие mRNA под SEQ ID NO: 30, также включают описанные в **таблице F**.

Таблица F. Иллюстративные составы под SEQ ID NO: 30

	Состав 9	Состав 10	Состав 11	Состав 12
mRNA CFTR	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 30
5'-Кэп	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)	m7G(5')ppp(5') (2'OMeG)
5'-UTR	как описано в таблице C	как описано в таблице C	как описано в таблице C	как описано в таблице C
Старт-кодон hCFTR	AUG	AUG	AUG	AUG
Стоп-кодон hCFTR	UGA	UGA	UGA	UGA
3'-UTR	как описано в таблице C	как описано в таблице C	как описано в таблице C	как описано в таблице C
Поли-А-хвост	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов	~ 200-1000 аденозиновых нуклеотидов
ICE:DOPE: DMG-PEG-2K	60:35:5	60:30:10	60:35:5	60:35:5
Разбавитель	10% трегалозы	10% трегалозы	10% сахарозы	10% глюкозы
Средний размер частиц	40-60 нм	40-60 нм	40-60 нм	40-60 нм
Соотношение зарядов N/P	4	4	4	4

[0188] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 9. В вариантах осуществления состав 9 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0189] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 10. В вариантах осуществления состав 10 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0190] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 11. В вариантах осуществления состав 11 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

[0191] В вариантах осуществления состав представляет собой состав 12. В вариантах осуществления состав 12 дополнительно характеризуется концентрацией mRNA, которая составляет приблизительно 0,6 мг/мл.

Оценивание характеристик состава

[0192] Состав можно оценивать в отношении одной или нескольких из следующих характеристик: внешний вид, идентичность, количество, концентрация, присутствие примесей, микробиологическая оценка, уровень pH и активность.

[0193] В некоторых вариантах осуществления приемлемый внешний вид состава предусматривает прозрачный бесцветный раствор, практически не содержащий видимых частиц.

[0194] В некоторых вариантах осуществления идентичность mRNA CFTR оценивают способами секвенирования. Способы секвенирования осуществляют для подтверждения правильной последовательности требуемой mRNA CFTR.

[0195] В некоторых вариантах осуществления концентрацию mRNA CFTR оценивают подходящим способом, таким как УФ-спектрофотометрия. В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет от приблизительно 90% до 110% номинальной (0,9-1,1 мг/мл). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 90% номинальной (0,9 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 91% номинальной (0,91 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 92% номинальной (0,92 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 93% номинальной (0,93 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 94% номинальной (0,94 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 95% номинальной (0,95 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 96% номинальной (0,96 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая

концентрация составляет приблизительно 97% номинальной (0,97 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 98% номинальной (0,98 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 99% номинальной (0,99 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 100% номинальной (1,0 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 101% номинальной (1,01 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 102% номинальной (1,02 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 103% номинальной (1,03 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 104% номинальной (1,04 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 105% номинальной (1,05 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 106% номинальной (1,06 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 107% номинальной (1,07 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 108% номинальной (1,08 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 109% номинальной (1,09 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления подходящая концентрация составляет приблизительно 110% номинальной (1,10 мг/мл).

[0196] В некоторых вариантах осуществления состав оценивают для определения целостности mRNA CFTR, для определения наличия остаточной плазмидной ДНК и для определения присутствия остаточного растворителя. В некоторых вариантах осуществления целостность mRNA CFTR оценивают электрофорезом в агарозном геле. Гели анализируют, чтобы определить, соответствует ли паттерн полос и кажущаяся длина нуклеотидов аналитическому эталонному стандарту. Например, гели оценивают, чтобы определить, соответствует ли паттерн полос и кажущаяся длина нуклеотидов аналитическому эталонному стандарту, и расположен ли он между полосами 7000 нуклеотидов и 3000 нуклеотидов. Дополнительные способы оценивания целостности mRNA CFTR включают, например, оценивание очищенной mRNA с использованием электрофореза в капиллярном геле

(CGE). В некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе, определяемая с помощью CGE, является такой, что основной пик составляет не менее чем приблизительно 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, или 30%. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе является такой, что основной пик CGE составляет не менее чем приблизительно 55%. В некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе является такой, что основной пик CGE составляет не менее чем приблизительно 50%. В некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе является такой, что основной пик CGE составляет не менее чем приблизительно 45%. В некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе является такой, что основной пик CGE составляет не менее чем приблизительно 40%. В некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе является такой, что основной пик CGE составляет не менее чем приблизительно 35%. В некоторых вариантах осуществления приемлемая чистота mRNA CFTR в составе является такой, что основной пик CGE составляет не менее чем приблизительно 30%.

[0197] Состав также можно оценивать в отношении присутствия какой-либо остаточной плазмидной ДНК. Различные способы можно использовать для оценивания присутствия остаточной плазмидной ДНК, например, qPCR. В некоторых вариантах осуществления менее чем 10 пг/мг (например, менее чем 10 пг/мг, менее чем 9 пг/мг, менее чем 8 пг/мг, менее чем 7 пг/мг, менее чем 6 пг/мг, менее чем 5 пг/мг, менее чем 4 пг/мг, менее чем 3 пг/мг, менее чем 2 пг/мг или менее чем 1 пг/мг) является приемлемым уровнем остаточной плазмидной ДНК. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 10 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 9 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 8 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 7 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 6 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 5 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 4 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 3 пг/мг остаточной плазмидной ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 2 пг/мг остаточной плазмидной

ДНК. В некоторых вариантах осуществления состав содержит менее чем 1 пг/мг остаточной плазмидной ДНК.

[0198] Состав также можно оценивать в отношении присутствия каких-либо остаточных растворителей. Различные способы можно использовать для оценивания присутствия остаточного растворителя. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 10000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 9000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 8000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 7000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 6000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 5000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 4000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 3000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 2000 ppm. В некоторых вариантах осуществления приемлемые уровни остаточного растворителя составляют не более чем 1000 ppm. В некоторых вариантах осуществления остаточным растворителем является, например, этанол.

[0199] Состав также можно оценивать в отношении присутствия бактериальных эндотоксинов. В некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины составляют < 0,5 ЕЭ/мл, <0,4 ЕЭ/мл, <0,3 ЕЭ/мл, <0,2 ЕЭ/мл или <0,1 ЕЭ/мл. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины в очищенной mRNA составляют < 0,5 ЕЭ/мл. В некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины в очищенной mRNA составляют < 0,4 ЕЭ/мл. В некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины в очищенной mRNA составляют < 0,3 ЕЭ/мл. В некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины в очищенной mRNA составляют < 0,2 ЕЭ/мл. В некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины в очищенной mRNA составляют < 0,2 ЕЭ/мл. В некоторых вариантах осуществления бактериальные эндотоксины в очищенной mRNA составляют < 0,1 ЕЭ/мл.

[0200] Состав также можно оценивать в отношении микробных контаминантов (например, «определение микробиологической нагрузки»). Тесты могут включать, например оценивание общего количества аэробных микроорганизмов («ТАМС») и/или оценивание общего количества дрожжей/плесневых грибов («ТУМС»). В некоторых вариантах осуществления очищенная mRNA характеризуется не более чем 1 КОЕ/10 мл, 1 КОЕ/25 мл, 1КОЕ/50 мл, 1КОЕ/75 мл или не более чем 1 КОЕ/100 мл. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления очищенная mRNA характеризуется не более чем 1 КОЕ/10 мл. В некоторых вариантах осуществления очищенная mRNA характеризуется не более чем 1 КОЕ/25 мл. В некоторых вариантах осуществления очищенная mRNA характеризуется не более чем 1 КОЕ/50 мл. В некоторых вариантах осуществления очищенная mRNA характеризуется не более чем 1 CFR/75 мл. В некоторых вариантах осуществления очищенная mRNA характеризуется 1 КОЕ/100 мл.

[0201] Также можно оценивать pH состава. В некоторых вариантах осуществления приемлемый pH состава составляет от 5 до 8. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления состав характеризуется pH, составляющим приблизительно 5. В некоторых вариантах осуществления состав характеризуется pH, составляющим приблизительно 6. В некоторых вариантах осуществления состав характеризуется pH, составляющим приблизительно 7. В некоторых вариантах осуществления состав характеризуется pH, составляющим приблизительно 7. В некоторых вариантах осуществления состав характеризуется pH, составляющим приблизительно 8.

[0202] Состав также можно оценивать в отношении точности трансляции mRNA CFTR. Точность трансляции можно оценивать различными способами, такими как, например, трансфекция и анализ вестерн-блоттинга. Приемлемые характеристики очищенной mRNA включают в себя паттерн полос при вестерн-блоттинге с переносом при молекулярной массе, подобной таковой эталонного стандарта. Например, основная полоса образца переносится при кажущейся молекулярной массе, подобной таковой эталонного стандарта, и расположена между маркерами 100 кДа и 250 кДа.

[0203] Состав также можно оценивать в отношении проводимости. В некоторых вариантах осуществления приемлемые характеристики очищенной mRNA включают в себя проводимость, составляющую от приблизительно 50% до 150% эталонного стандарта. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления состав

[illegible]

осуществления состав характеризуется проводимостью, составляющей приблизительно 145% таковой эталонного стандарта. В некоторых вариантах осуществления состав характеризуется проводимостью, составляющей приблизительно 150% таковой эталонного стандарта.

[0204] mRNA CFTR в составе также можно оценивать в отношении процентного содержания кэпов. Различные способы можно использовать для оценивания процентного содержания кэпов, например, сверхэффективную жидкостную хроматографию («UPLC»). В некоторых вариантах осуществления приемлемое процентное содержание кэпов включает Cap1 с % площади, составляющим не менее чем приблизительно 80%, 85%, 90% или 95%. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления приемлемое процентное содержание кэпов включает Cap1 с % площади, составляющим не менее чем приблизительно 80%. В некоторых вариантах осуществления приемлемое процентное содержание кэпов включает Cap1 с % площади, составляющим не менее чем приблизительно 85%. В некоторых вариантах осуществления приемлемое процентное содержание кэпов включает Cap1 с % площади, составляющим не менее чем приблизительно 90%. В некоторых вариантах осуществления приемлемое процентное содержание кэпов включает Cap1 с % площади, составляющим не менее чем приблизительно 95%.

[0205] Кроме того, mRNA CFTR в составе можно оценивать в отношении длины поли-А-хвоста. Различные способы можно использовать для оценивания длины поли-А-хвоста, например, капиллярный электрофорез. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 100-1500 нуклеотидов (например, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 и 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 или 1500 нуклеотидов). Следовательно, В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 200 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 250 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 300 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 350 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 400 нуклеотидов. В некоторых

вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 450 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 500 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 550 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 600 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 650 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 700 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 750 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 800 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 850 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 900 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 950 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 1000 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 1100 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 1200 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 1300 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 1400 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет приблизительно 1500 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет от приблизительно 200 до 1000 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет от приблизительно 300 до 900 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления приемлемая длина поли-А-хвоста составляет от приблизительно 400 до 800 нуклеотидов.

Легочная доставка

[0206] mRNA CFTR может быть составлена для доставки различными путями введения, включая без ограничения пероральное, ректальное, вагинальное, трансмукозальное или кишечное введение, парентеральную доставку, включая

интрадермальные, трансдермальные (местные), внутримышечные, подкожные, интрамедуллярные инъекции, а также интратекальное, прямое внутрижелудочковое, внутривенное, внутривентральное и/или интраназальное введение.

[0207] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR составляют для легочной доставки. Как используется в данном документе, легочная доставка относится к доставке в легкие через, *например*, носовую полость, трахею, бронхи, бронхиолы и/или другую легочную систему. В конкретных вариантах осуществления mRNA CFTR составляют для распыления. В таких вариантах осуществления среда-носитель для доставки может быть в виде композиции, которую превращают в аэрозоль, которую можно ингалировать. В некоторых вариантах осуществления легочная доставка предусматривает ингаляцию (*например*, для доставки через нос, трахею или бронхи). В некоторых вариантах осуществления состав mRNA CFTR распыляют перед ингаляцией.

Распыление

[0208] Капли ингаляционного аэрозоля с размером частиц 1-5 мкм могут проникать в узкие ветви нижних дыхательных путей. Капли аэрозоля большего диаметра обычно абсорбируются клетками эпителия, выстилающими ротовую полость, и вряд ли достигнут эпителия нижних дыхательных путей и глубоких альвеолярных тканей легких.

[0209] Размер частиц в аэрозоле обычно описывается со ссылкой на массовый медианный аэродинамический диаметр (MMAD). MMAD вместе с геометрическим стандартным отклонением (GSD) статистически описывает распределение частиц по размеру любого аэрозоля на основании массы и размера частиц. Средства вычисления MMAD аэрозоля хорошо известны в уровне техники.

[0210] Конкретный способ вычисления MMAD с использованием каскадного импактора был впервые описан в 1959 году Mitchell *et al.* Каскадный импактор для измерения размеров частиц состоит из непрерывного ряда сопел, за каждым из которых следует коллекторная пластина, и основан на том принципе, что частицы в движущемся потоке воздуха ударяются о пластину, помещенную на их пути, если их импульс достаточен для преодоления сопротивления, оказываемого потоком воздуха при движении вокруг пластины. Поскольку каждое сопло меньше предыдущего, скорость потока воздуха и, следовательно, скорость диспергированных частиц

увеличивается по мере продвижения аэрозоля через импактор. Следовательно, более мелкие частицы в конечном итоге приобретают достаточный импульс, чтобы удариться о пластину, и достигается полная классификация размеров частиц аэрозоля. Улучшенный импактор следующего поколения, используемый в данном документе для измерения MMAD фармацевтической композиции по настоящему изобретению, был впервые описан Marple *et al.* в 2003 г. и с тех пор широко используется в фармакопее.

[0211] Другим параметром для описания размера частиц в аэрозоле является объемный медианный диаметр (VMD). VMD также описывает распределение частиц по размеру аэрозоля на основании объема частиц. Средства вычисления VMD аэрозоля хорошо известны в уровне техники. Конкретным способом, используемым для определения VMD, является лазерная дифракция, которую используют в данном документе для измерения VMD фармацевтической композиции по настоящему изобретению (*см., например*, Clark, 1995, Int J Pharm. 115:69-78).

[0212] В некоторых вариантах осуществления средний размер частиц распыляемого состава mRNA CFTR по настоящему изобретению составляет от приблизительно 4 мкм до 6 мкм, *например*, приблизительно 4 мкм, приблизительно 4,5 мкм, приблизительно 5 мкм, приблизительно 5,5 мкм или приблизительно 6 мкм.

[0213] Фракцию мелких частиц (FPF) определяют как долю частиц в аэрозоле, у которых MMAD или VMD меньше заданного значения. В некоторых вариантах осуществления FPF распыляемого состава mRNA CFTR по настоящему изобретению с размером частиц <5 мкм составляет по меньшей мере приблизительно 30%, чаще всего по меньшей мере приблизительно 40%, *например*, по меньшей мере приблизительно 50%, чаще всего по меньшей мере приблизительно 60%.

[0214] В некоторых вариантах осуществления распыление осуществляют таким образом, что средняя респираторная выпускаемая доза (*т. е.* процентное содержание FPF с размером частиц <5 мкм; *например*, как определено импактором следующего поколения с экстракцией 15 л/минута) составляет по меньшей мере приблизительно 30% выпускаемой дозы, *например*, по меньшей мере приблизительно 31%, по меньшей мере приблизительно 32%, по меньшей мере приблизительно 33%, по меньшей мере приблизительно 34% или по меньшей мере приблизительно 35% выпускаемой дозы. В некоторых вариантах осуществления распыление осуществляют таким образом, что средняя респираторная доставленная доза (*т. е.* процентное содержание FPF с

размером частиц <5 мкм; *например*, как определено импактором следующего поколения с экстракцией 15 л/минута) составляет по меньшей мере приблизительно 15% испускаемой дозы, *например*, по меньшей мере 16% или 16,5% испускаемой дозы.

Небулайзер

[0215] Распыление можно осуществлять с помощью любого небулайзера, известного в уровне техники. Небулайзер превращает жидкость в туман, благодаря чему ее легче ингалировать в легкие. Небулайзеры эффективны для младенцев, детей и взрослых. Небулайзеры способны распылять большие дозы ингаляционных лекарственных препаратов. Как правило, небулайзер для применения по настоящему изобретению содержит съемный мундштук. Это важно, потому что при введении состава mRNA CFTR по настоящему изобретению следует использовать только чистые мундштуки, не содержащие РНКаз.

[0216] В некоторых вариантах осуществления объем резервуара небулайзера находится в диапазоне от приблизительно 5,0 мл до приблизительно 8,0 мл. В некоторых вариантах осуществления объем резервуара небулайзера составляет приблизительно 5,0 мл. В некоторых вариантах осуществления объем резервуара небулайзера составляет приблизительно 6,0 мл. В некоторых вариантах осуществления объем резервуара небулайзера составляет приблизительно 7,0 мл. В некоторых вариантах осуществления объем резервуара небулайзера составляет приблизительно 8,0 мл.

[0217] Один тип небулайзера представляет собой струйный небулайзер, который содержит трубку, соединенную с компрессором, который заставляет сжатый воздух или кислород с высокой скоростью течь через жидкий лекарственный препарат, превращая его в аэрозоль, который затем вдыхается пациентом.

[0218] Другой тип небулайзера представляет собой ультразвуковой небулайзер, который содержит электронный генератор колебаний, который генерирует высокочастотную ультразвуковую волну, вызывающую механическую вибрацию пьезоэлектрического элемента, находящегося в контакте с резервуаром с жидкостью. Высокочастотной вибрации жидкости достаточно, чтобы образовался паровой туман. Иллюстративными ультразвуковыми небулайзерами являются Omron NE-U17 и Beurer Nebulizer IH30.

[0219] Третий тип небулайзера основан на технологии вибрирующего сита (VMT). Небулайзер VMT обычно содержит сито/мембрану с 1000-7000 отверстиями, что вибрирует в верхней части резервуара с жидкостью и тем самым выталкивает туман из очень мелких капель аэрозоля через отверстия в сите/мембране. Небулайзеры VMT, подходящие для доставки состава mRNA CFTR включают любые из следующих: eFlow (PARI Medical Ltd.), i-Neb (Respironics Respiratory Drug Delivery Ltd), Nebulizer IH50 (Beurer Ltd.), AeroNeb Go (Aerogen Ltd.), InnoSpire Go (Respironics Respiratory Drug Delivery Ltd), Mesh Nebulizer (Shenzhen Homed Medical Device Co, Ltd.), Portable Nebulizer (Microbase Technology Corporation) и Airworks (Convexity Scientific LLC). В некоторых вариантах осуществления сито или мембрана небулайзера VMT выполнены с возможностью вибрации за счет пьезоэлектрического элемента. В некоторых вариантах осуществления сито или мембрана небулайзера VMT выполнены с возможностью вибрации за счет ультразвука.

[0220] Выяснили, что небулайзеры VMT особенно подходят для осуществления настоящего изобретения, поскольку они не нарушают целостность mRNA в составе mRNA CFTR по настоящему изобретению. Как правило, по меньшей мере приблизительно 60%, *например*, по меньшей мере приблизительно 65% или по меньшей мере приблизительно 70%, mRNA в составе mRNA CFTR по настоящему изобретению сохраняют свою целостность после распыления.

[0221] В некоторых вариантах осуществления распыление является непрерывным во время вдоха и выдоха. Чаще всего распыление активируется вдохом. Подходящие небулайзеры для применения по настоящему изобретению характеризуются скоростью распыления, составляющей $>0,2$ мл/минута. В некоторых вариантах осуществления скорость распыления составляет $>0,25$ мл/минута. в другом варианте осуществления скорость распыления составляет $>0,3$ мл/минута. В определенных вариантах осуществления скорость распыления составляет $>0,45$ мл/минута. В обычном варианте осуществления скорость распыления находится в диапазоне от 0,2 мл/минута до 0,5 мл/минута.

[0222] В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, находящийся в диапазоне от 13,0 мл до 42,0 мл, *например*, от 14 мл до 28 мл. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 13,9 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 16,0

мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 18,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 20,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 22,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 24,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 26,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 27,9 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 30,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 32,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 34,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 36,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 38,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 40,0 мл, или равный ему. В некоторых вариантах осуществления объем распыления представляет собой объем, составляющий менее 41,8 мл Биораспределение mRNA hCFTR, или равный ему.

[0223] У субъекта-человека могут проявляться побочные эффекты во время лечения, если объем распыления превышает 10 мл. В частности, такие побочные эффекты могут быть более частыми при введении объемов, составляющих более 20 мл. В некоторых вариантах осуществления объем распыления не превышает 20 мл.

[0224] В некоторых вариантах осуществления однократная доза композиции mRNA CO-hCFTR по настоящему изобретению может быть введена только с одним или двумя перезарядками на одну процедуру распыления. Например, если общий объем композиции mRNA CO-hCFTR, которая подлежит введению пациенту, составляет 13 мл, то при использовании небулайзера с резервуаром 8 мл требуется только одна перезарядка для введения всего объема, но при использовании небулайзера с резервуаром 5 мл требуется две перезарядки для введения того же объема. В других вариантах осуществления требуются по меньшей мере три перезарядки на процедуру

распыления, *например*, для введения объема 26 мл требуется по меньшей мере три перезарядки при использовании небулайзера с резервуаром 8 мл. В следующем варианте осуществления требуется по меньшей мере четыре перезарядки. Например, для доставки 42 мл небулайзером с резервуаром 5 мл требуется по меньшей мере восемь перезарядок. Обычно для введения композиции СО-hCFTR по настоящему изобретению требуется не более 1-3 перезарядок.

[0225] Как правило, продолжительность распыления составляет от 30 до 300 минут. Средний сеанс распыления может превышать 30 минут, *например*, он может длиться по меньшей мере 35 минут или больше, по меньшей мере 45 минут или больше или по меньшей мере 1 час или больше. Например, большинство пациентов лечат с помощью сеанса распыления, который длится от приблизительно 45 минут до приблизительно 90 минут, хотя для некоторых пациентов могут требоваться сеансы распыления, которые могут длиться от приблизительно 100 минут до приблизительно 180 минут. Более длительное лечение может продолжаться в течение 1 часа, 1,5 часа или 2 часов. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления сеанс распыления составляет приблизительно 45 минут, приблизительно 60 минут, приблизительно 75 минут, приблизительно 90 минут, приблизительно 105 минут, приблизительно 120 минут, приблизительно 135 минут, приблизительно 150 минут, приблизительно 165 минут или приблизительно 180 минут. В некоторых вариантах осуществления сеанс распыления составляет приблизительно 45 минут. В некоторых вариантах осуществления распыление составляет приблизительно 2 часов и 25 минут. В некоторых вариантах осуществления для пациентов могут потребоваться сеансы распыления, которые могут длиться от приблизительно 150 минут до приблизительно 300 минут, *например*, от 3 часа и 4,5 часа.

[0226] В некоторых вариантах осуществления число небулайзеров, используемых в ходе одного сеанса распыления, находится в диапазоне от 2 до 8. В некоторых вариантах осуществления 1 небулайзер используют в ходе одного сеанса распыления. В некоторых вариантах осуществления 2 небулайзера используют в ходе одного сеанса распыления. В некоторых вариантах осуществления 3 небулайзера используют в ходе одного сеанса распыления. В некоторых вариантах осуществления 4 небулайзера используют в ходе одного сеанса распыления. В некоторых вариантах осуществления 5 небулайзеров используют в ходе одного сеанса распыления. В некоторых вариантах осуществления 6 небулайзеров используют в ходе одного сеанса

распыления. В некоторых вариантах осуществления 7 небулайзеров используют в ходе одного сеанса распыления. В некоторых вариантах осуществления 8 небулайзеров используют в ходе одного сеанса распыления.

Фармакокинетические показатели и распределение в тканях

[0227] По настоящему изобретению введение состава, содержащего mRNA CFTR, приводит к доставке mRNA и кодируемого белка CFTR в различные целевые ткани, описанные в данном документе. В частности, введение состава, содержащего mRNA CFTR по настоящему изобретению, приводит к терапевтически или клинически эффективным уровню или активности CFTR в целевой ткани. В различных вариантах осуществления целевая ткань включает легкое, поджелудочную железу, почку, печень, селезенку, яички/яичники, слюнные железы, потовые железы, сердце и головной мозг. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является легкое. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является верхняя доля (*т. е.* верхушка) правого или левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является нижняя доля (*т. е.* нижний отдел) правого или левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является средняя доля правого легкого.

[0228] В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является верхушечный сегмент правого легкого или верхний задний сегмент левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является задний сегмент правого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является передний сегмент правого или левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является верхушечный сегмент правого или левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является боковой базальный сегмент правого или левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является передний базальный сегмент правого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является переднемедиальный базальный сегмент левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является боковой сегмент правого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является медиальный сегмент правого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является верхушечный язычковый сегмент левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является нижний язычковый сегмент левого легкого. В

некоторых вариантах осуществления целевой тканью является задний базальный сегмент правого или левого легкого. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью является медиальный базальный сегмент правого легкого.

[0229] В конкретных вариантах осуществления целевой тканью являются эпителиальные клетки в легком. В некоторых вариантах осуществления целевой тканью являются гладкомышечные клетки в легком. В определенном варианте осуществления целевой тканью являются эпителиальные клетки протоков поджелудочной железы. В определенном варианте осуществления целевой тканью являются эпителиальные клетки желчных протоков. В определенном варианте осуществления целевой тканью являются эпителиальные клетки слюнных желез. В определенном варианте осуществления целевой тканью являются почечные эпителиальные клетки. В определенном варианте осуществления целевой тканью являются бета-S-клетки в секреторных клубках потовых желез. В определенном варианте осуществления целевой тканью являются эпителиальные клетки репродуктивного тракта.

[0230] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, обеспечивает уровень экспрессии или активности белка CFTR, который составляет по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% от нормального уровня экспрессии или активности белка CFTR, в целевой ткани, описанной в данном документе. В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, обеспечивает уровень экспрессии или активности белка CFTR, который повышен по меньшей мере в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз или 10 раз по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень) в целевой ткани, описанной в данном документе.

[0231] В целом, mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, характеризуется достаточно продолжительным периодом полувыведения в целевой ткани, описанной в данном документе. В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, характеризуется периодом полувыведения, составляющим по меньшей мере около 30 минут, 45 минут, 60 минут, 90 минут, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 12 часов, 16 часов, 18 часов, 20 часов, 25 часов, 30 часов, 35 часов, 40 часов, 3 часов, 7

часов, 14 часов, 21 день или месяц. В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к выявляемому уровню или активности белка CFTR в целевой ткани (*например*, легком) или в кровотоке через 12 часов, 24 часа, 30 часов, 36 часов, 42 часа, 48 часов, 54 часа, 60 часов, 66 часов, 72 часа, 78 часов, 84 часа, 90 часов, 96 часов, 102 часа, неделю, две недели, три недели или месяц после введения. Выявляемый уровень или активность можно определять с использованием различных способов, известных в уровне техники.

[0232] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в ткани верхней доли легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз, 1000 раз или 1500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0233] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в ткани нижней доли легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз, 1000 раз или 1500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0234] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в ткани средней доли легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз, 1000 раз или 1500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0235] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в дистальных тканях легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10

раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 200 раз, 300 раз, 400 раз или 500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0236] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в дистальной периферической ткани легкого, *например*, на меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 200 раз или 300 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0237] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в боковой периферической ткани легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз, 1000 раз или 1500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0238] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в медиальной периферической ткани легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз или 1000 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0239] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в средней ткани легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20

раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 150 раз, 200 раз, 250 раз, 300 раз, 350 раз, 400 раз, 450 раз или 500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0240] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в проксимальной ткани легкого, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз, 1000 раз или 1500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0241] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к выявляемому уровню или активности белка CFTR в гортани, трахее, носовой раковине и/или жидкости бронхоальвеолярного лаважа (BALF). В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к выявляемому уровню или активности белка CFTR в крови. В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к выявляемому уровню или активности белка CFTR в легком, поджелудочной железе, почке, печени, селезенке, яичках/яичниках, слюнных железах, потовых железах, сердце и головном мозге.

[0242] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR, доставленная по настоящему изобретению, приводит к повышенному уровню или активности белка CFTR в гортани, трахее, трахеобронхиальном лимфатическом узле и/или крови, *например*, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 100 раз, 500 раз, 1000 раз или 1500 раз, по сравнению с контролем (*например*, эндогенный уровень белка или активности без обработки или до обработки по настоящему изобретению или исторический эталонный уровень).

[0243] Экспрессия mRNA CFTR может быть выявлена или количественно оценена с помощью qPCR в образцах РНК, очищенной из ткани. Экспрессия белка CFTR может быть определена путем измерения иммунных ответов в отношении белка CFTR. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG к белку CFTR измеряют с

помощью иммуносорбентного анализа с ферментной меткой в собранных образцах сыворотки крови. В некоторых вариантах осуществления CFTR-специфические Т-клеточные ответы оценивают с использованием собранных мононуклеарных клеток периферической крови. В некоторых вариантах осуществления Т-клеточные ответы на CFTR измеряют с помощью иммуноферментного спот-анализа человеческого интерферона- γ , как описано Calcedo *et al.* (Calcedo *et al.*, *Hum Gene Ther Clin Dev.* (2013) 24:108-15). Качественное оценивание белка CFTR можно также выполнять с помощью анализа вестерн-блоттинга. Активность белка CFTR может быть измерена по активности хлоридного канала CFTR в клетках соответствующей ткани. Регистрируют стабильный потенциал со средним значением 10-секундного интервала оценки после перфузии раствора. Активность CFTR оценивают по изменению разности потенциалов после перфузии изопроterenолом, не содержащим хлорид. В уровне техники известны различные другие способы, которые можно использовать для определения экспрессии или активности mRNA CFTR и белка CFTR.

Терапевтическая эффективность

[0244] По настоящему изобретению mRNA CFTR доставляют пациенту с CF, нуждающемуся в лечении, при терапевтически эффективной дозе и интервале введения на протяжении периода лечения, достаточного для улучшения, стабилизации или уменьшения одного или нескольких симптомов кистозного фиброза по сравнению с контролем. Термины «лечить» или «лечение», используемые в данном документе в контексте кистозного фиброза, относятся к облегчению одного или нескольких симптомов, связанных с кистозным фиброзом, предупреждению или отсрочке начала одного или нескольких симптомов кистозного фиброза и/или уменьшению тяжести или частоты одного или нескольких симптомов кистозного фиброза.

[0245] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективная доза mRNA CFTR составляет или превышает приблизительно 2 мг, 4 мг, 6 мг, 8 мг, 10 мг, 12 мг, 14 мг, 16 мг, 18 мг, 20 мг, 22 мг, 24 мг, 26 мг, 28 мг, 30 мг, 32 мг, 34 мг, 36 мг, 38 мг или 40 мг на дозу или их эквивалент. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективная доза mRNA CFTR составляет не более чем приблизительно 50 мг, 48 мг, 46 мг, 44 мг, 42 мг, 40 мг, 38 мг, 36 мг, 34 мг, 32 мг, 30 мг, 28 мг, 26 мг, 24 мг, 22 мг, 20 мг, 18 мг, 16 мг, 14 мг, 12 мг, 10 мг, 8 мг, 6 мг или 4 мг на

дозу или их эквивалент. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективная доза mRNA CFTR составляет приблизительно 2-50 мг, 4-45 мг, 4-40 мг, 6-40 мг, 6-38 мг, 6-36 мг, 6-34 мг, 6-32 мг, 6-30 мг, 6-28 мг, 6-26 мг, 6-24 мг, 6-22 мг, 6-20 мг, 6-18 мг, 6-16 мг, 8-50 мг, 8-45 мг, 8-40 мг, 8-38 мг, 8-36 мг, 8-34 мг, 8-32 мг, 8-30 мг, 8-28 мг, 8-26 мг, 8-24 мг, 8-22 мг, 8-20 мг на дозу или их эквивалент.

[0246] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективную дозу mRNA CFTR вводят один раз в сутки, два раз в неделю, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели, один раз в месяц, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца. Как правило, введение один раз в неделю терапевтически эффективной дозы mRNA CFTR по настоящему изобретению является достаточным для эффективного снижения тяжести одного или нескольких симптомов у пациента с кистозным фиброзом. Например, номинальная доза, составляющая 4-40 мг mRNA CFTR (*например*, номинальная доза, составляющая 6-30 мг, *например*, 8 мг, 16 мг или 24 мг), вводимая один раз в неделю путем распыления, является эффективной для снижения тяжести одного или нескольких симптомов у пациента с кистозным фиброзом.

[0247] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективную дозу mRNA CFTR вводят на протяжении периода, составляющего по меньшей мере две недели, три недели, четыре недели, месяц, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев, семь месяцев, восемь месяцев, девять месяцев, десять месяцев, одиннадцать месяцев, двенадцать месяцев, 1 год, 2 года, 3 года, 4 года, 5 лет или 10 лет.

[0248] Как правило, терапевтический эффект введения mRNA CFTR у пациента кистозного фиброза измеряют относительно контроля. В некоторых вариантах осуществления контроль представляет собой тяжесть одного или нескольких симптомов у одного и того же пациента до лечения. В некоторых вариантах осуществления контроль указывает на исторический эталонный уровень одного или нескольких симптомов у пациентов с CF. В некоторых вариантах осуществления контроль указывает на нормальный уровень способности, физического состояния или биомаркера, соответствующий одному или нескольким измеряемым симптомам.

[0249] В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект введения mRNA CFTR по настоящему изобретению измеряют по оценке респираторного домена, пересмотренной в опроснике по кистозному фиброзу (CFQ-R). В некоторых вариантах

осуществления терапевтический эффект введения mRNA CFTR по настоящему изобретению измеряют с помощью значения хлорида в поте. В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект введения mRNA CFTR по настоящему изобретению измеряют с помощью индекса массы тела и/или массы тела. В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект введения mRNA CFTR по настоящему изобретению измеряют по началу или тяжести легочного обострения.

[0250] В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект введения mRNA CFTR по настоящему изобретению измеряют с помощью минутного объема, частоты дыхания и/или дыхательного объема. В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект от введения mRNA CFTR по настоящему изобретению на дыхательную систему определяют путем проведения спирометрии и оценивания следующих параметров: объем форсированного выдоха за 1 секунду (FEV₁): абсолютный объем (L) и процент в зависимости от возраста, пола и роста пациента, форсированная жизненная емкость (FVC): абсолютный объем (L) и процент в зависимости от возраста, пола и роста пациента, FEV₁/FVC: соотношение и процент в зависимости от возраста, пола и роста пациента, и/или форсированный поток выдоха в средней части FVC (FEF_{25-75%}): абсолютный объем (L) и процент в зависимости от возраста, пола и роста пациента. В некоторых вариантах осуществления параметры могут быть нормализованы с использованием уравнений прогноза Глобальной инициативы по легочной функции (GLI) ERS. В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект от введения mRNA CFTR по настоящему изобретению на дыхательную систему определяют с помощью рентгенографии грудной клетки.

[0251] В некоторых вариантах осуществления введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к изменению балла дыхательного раздела CFQ-R по меньшей мере на 1, по меньшей мере на 2, по меньшей мере на 3, по меньшей мере на 4, по меньшей мере на 5, по меньшей мере на 6, по меньшей мере на 7, по меньшей мере на 8, по меньшей мере на 9, по меньшей мере на 10, по меньшей мере на 11, по меньшей мере на 12, по меньшей мере на 13, по меньшей мере на 14 или по меньшей мере на 15 пунктов относительно контроля. В некоторых вариантах осуществления введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к изменению балла дыхательного раздела CFQ-R по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% или 20% относительно контроля.

[0252] В некоторых вариантах осуществления введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к облегчению, предупреждению или отсрочке начала легочного обострения. Как используется в данном документе, легочное обострение относится к одному или нескольким из следующих синусно-пульмональных признаков/симптомов: изменение мокроты, новое или усиленное кровохарканье, усиленный кашель, усиленная одышка, недомогание/утомляемость/сонливость, температура $>38^{\circ}\text{C}$ ($\sim 100,4^{\circ}\text{F}$), анорексия/потеря массы, боль/болезненность носовых пазух, изменение выделений из пазух, изменение при физическом осмотре грудной клетки, снижение легочной функции и рентгенологический признак легочной инфекции.

[0253] В некоторых вариантах осуществления введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к предупреждению или уменьшению воспаления, связанного с легочным обострением. Например, введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к снижению экспрессии маркеров воспаления и/или повреждения легких, в том числе без ограничения С-реактивного белка, количества лейкоцитов, интерлейкина-8, комплексов эластазы нейтрофилов альфа 1-антипротеаза и матриксных металлопротеинов в крови или сыворотке по сравнению с контролем, показывающим соответствующий уровень соответствующих маркеров у пациента с CF без лечения. В качестве дополнения или альтернативы, введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к снижению концентрации в мокроте биоактивных липидных медиаторов, таких как цистеиниллейкотриены и простагландин-E2, или количества клеток в мокроте по сравнению с контролем, показывающим соответствующий уровень соответствующих маркеров у пациента с CF без лечения.

[0254] В некоторых вариантах осуществления введение mRNA CFTR по настоящему изобретению приводит к увеличению массы на по меньшей мере 1 фунт, на по меньшей мере 2 фунта, на по меньшей мере 3 фунта, на по меньшей мере 4 фунта, на по меньшей мере 5 фунтов, на по меньшей мере 6 фунтов, на по меньшей мере 7 фунтов, на по меньшей мере 8 фунтов, на по меньшей мере 9 фунтов, на по меньшей мере 10 фунтов, на по меньшей мере 11 фунтов, на по меньшей мере 12 фунтов, на по меньшей мере 13 фунтов, на по меньшей мере 14 фунтов или на по меньшей мере 15 фунтов по сравнению с массой тела до лечения.

[0255] В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR вводят в комбинации с одним или несколькими потенцирующими средствами и/или

корректорами CFTR. Подходящие потенцирующие средства и/или корректоры CFTR включают ивакафтор (товарный знак Kalydeco®), лумакафтор (товарный знак Orkambi®) или комбинацию ивакафтора и лумакафтора. В некоторых вариантах осуществления mRNA CFTR вводят в комбинации с одним или несколькими другими видами лечения CF, такими как заместительная гормональная терапия, заместительная терапия гормонами щитовидной железы, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства и назначенный дронабинол (Marinol®) в ходе лечения.

[0256] В некоторых вариантах осуществления пациент с CF получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR. В некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR обеспечивают в ходе режима лечения с помощью mRNA CFTR. В некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR обеспечивают до начала режима лечения с помощью mRNA CFTR. В некоторых вариантах осуществления средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR начинают после режима лечения с помощью mRNA CFTR.

[0257] Различные терапевтические средства-модуляторы CFTR известны в уровне техники. Например, в некоторых вариантах осуществления пациент с CF получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR, включающее в себя ивакафтор. В некоторых вариантах осуществления пациент с CF получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR, включающее лумакафтор. В некоторых вариантах осуществления пациент с CF получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR, включающее тезакафтор. В некоторых вариантах осуществления пациент с CF получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR, включающее ивакафтор/лумакафтор. В некоторых вариантах осуществления пациент с CF получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR, включающее тезакафтор/лумакафтор.

[0258] В некоторых вариантах осуществления потенцирующие средства и/или корректоры CFTR и/или другие виды лечения кистозного фиброза можно вводить до или после введения mRNA CFTR по настоящему изобретению или одновременно с введением mRNA CFTR по настоящему изобретению. Например, потенцирующие средства и/или корректоры CFTR и/или другие виды лечения кистозного фиброза можно вводить в пределах 1 часа или больше, в пределах 2 часов или больше, в пределах 4 часов или больше, в пределах 6 часов или больше, в пределах 8 часов или

больше, в пределах 10 часов или больше, в пределах 12 часов или больше, в пределах 18 часов или больше, в пределах 24 часов или больше, в пределах 36 часов или больше, в пределах 48 часов или больше, в пределах 72 часов или больше, в пределах 1 недели или больше, в пределах 2 недель или больше, в пределах 3 недель или больше или в пределах 1 месяца или больше до или после введения mRNA CFTR по настоящему изобретению.

ПРИМЕРЫ

[0259] Хотя определенные соединения, композиции и способы по настоящему изобретению были описаны конкретно в соответствии с определенными вариантами осуществления, следующие примеры служат исключительно для иллюстрации соединений по настоящему изобретению и не предназначены для его ограничения.

Пример 1. Составление композиции mRNA/липосома

[0260] Кодон-оптимизированную матричную РНК трансмембранного регулятора проводимости, связанного с кистозным фиброзом (CFTR) человека, содержащую последовательность под SEQ ID NO:1, синтезировали путем *in vitro* транскрипции из плазмидной ДНК-матрицы, кодирующей ген CFTR с последующим добавлением 5' кэп-структуры (Cap1) (Fechter, P.; Brownlee, G.G. «Recognition of mRNA cap structures by viral and cellular proteins» J. Gen. Virology 2005, 86, 1239-1249) и 3'-поли(А)-хвоста. mRNA, кодирующая белок CFTR, содержала 5'- и 3'-нетранслируемые области (UTR). Конечная конструкция mRNA имела последовательность под SEQ ID NO: 6 с 3'-поли(А)-хвостом длиной от около 400 до 700 нуклеотидов, как определено с помощью гель-электрофореза.

[0261] Три биоразлагаемых липидных компонента объединяли в твердой форме, а затем растворяли вместе в этаноле с получением липидного раствора на основе этанола. Водный раствор, содержащий иллюстративную mRNA, кодирующую белок CFTR, в цитратном буфере, объединяли с липидным раствором на основе этанола, выделяли и подвергали диализу до конечного состава, содержащего 10% (вес/об.) трегалозы в воде для инъекции, доведенный до концентрации mRNA 0,6 мг/мл. Для введения субъектам-людям конечный состав разливали в одноразовые флаконы. Номинальный объем заполнения каждого флакона составлял 3,2 мл.

[0262] Все три биоразлагаемых компонента влияли на характеристики конечного лекарственного продукта. Первым компонентом был ионизируемый липид, сложный эфир холестерина, содержащий имидазол (ICE). Это обеспечивало положительно заряженную среду при низком pH, что способствует эффективной инкапсуляции отрицательно заряженной mRNA. Он также может играть ключевую роль во взаимодействии с клеточной поверхностью, обеспечивая поглощение клетками. Вторым компонентом LNP был 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE). DOPE представляет собой цвиттерионный липид, который, как сообщается, обладает фузогенными свойствами для увеличения поглощения и высвобождения нагрузки лекарственного средства. Конечным компонентом был пегилированный (*т. е.*, PEG-модифицированный) липид, известный как 1,2-димиристоил-sn-глицерол, метоксиполиэтиленгликоль (DMG-PEG-2K). Добавление этого пегилированного липида обеспечивает контроль над размером частиц и стабильностью наночастицы и может обеспечивать улучшенные свойства проникновения через слизистую оболочку для поглощения легкими. Номинальное соотношение зарядов азота/фосфора (N/P) LNP составляло 4, а диапазон среднего размера частиц для mRNA, инкапсулированной в LNP, составлял 40-60 нм.

Пример 2. Введение дозы композиции mRNA CFTR/липосома

[0263] В этих исследованиях оценивали композицию mRNA CFTR/липосома на модели крыс Sprague-Dawley. Никаких побочных эффектов на центральную нервную систему (ЦНС), сердечно-сосудистую (CV) систему или дыхание не наблюдали.

Оценивания ЦНС

[0264] Нейроповеденческие оценивания проводили на 6 самцах/группа до введения дозы и в день 1 (через 4 и 24 часа после введения дозы). Температуру, влажность, уровень шума и освещенность в каждом помещении измеряли и записывали, чтобы гарантировать, что изменения условий окружающей среды были минимальными в ходе всех оцениваний. Не наблюдали никаких эффектов в отношении нейроповедения, связанных с лечением загруженными mRNA hCFTR липосомами на основе ICE или контролем в виде среды-носителя липосом на основе ICE при ингаляционных дозах до 6,70 мг/кг загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE.

Сердечно-сосудистые оценивания

[0265] Самцам крыс Sprague-Dawley ($n = 5/\text{группа}$), которым ранее были имплантированы телеметрические устройства, вводили через нос только ингаляцию с загруженными mRNA hCFTR липосомами на основе ICE до 6 часов при целевых дозах 0 (контроль в виде 0,9% солевого раствора) или 0,7, 3,75 или 6,4 мг/кг загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE или контроля в виде среды-носителя липосом на основе ICE (не содержащих mRNA LNP, суспендированных в растворе, содержащем 10% трегалозы) (с обеспечением доз, составляющих 0, 0,86, 3,52, 6,02 или 0 мг/кг соответственно). Для целевых доз, составляющих 0,7 и 3,75 мг/кг, после окончания воздействия вводили воздух, чтобы общее время воздействия было эквивалентным для всех доз. После каждого дня введения дозы следовал минимум 7-дневный период вымывания. Всех животных возвращали в колонию после завершения всех оцениваний.

[0266] Телеметрические параметры включают сердечно-сосудистые параметры (систолическое, диастолическое, среднее артериальное давление, пульсовое давление, частоту сердечных сокращений и электрокардиографические параметры [PR, QRS, QT, QTc]), активность и температуру тела. Другими параметрами, оцениваемыми в ходе исследования, были жизнеспособность, клинические наблюдения и масса тела. Средние концентрации в аэрозоле и оцениваемые общие доставляемые дозы загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE и среды-носителя липосом на основе ICE (общий липид) описаны в **таблице 3**.

Таблица 3. Средние концентрации в аэрозоле загруженных mRNA hCFTR липосом и липосом и оцениваемые общие доставляемые дозы

Концентрация в аэрозоле загруженных mRNA hCFTR липосом (мкг/л)		Доставляемая доза загруженных mRNA hCFTR липосом (мг/кг)	
Обработка	Достигнуто	Продолжительность воздействия (минуты)	Среднее достигнутое ^a
Контроль	0	360	0
Среда-носитель	0	360	0
Низкая	30,5	40	0,86
Средняя	23,7	210	3,52
Высокая	23,7	360	6,02

^a Общее среднее для каждого отдельного животного для каждой экспериментальной группы. Эта доза отражает общую доставляемую дозу mRNA hCFTR.

[0267] В дополнение к этому исследованию на крысах также выполняли подобные сердечно-сосудистые оценивания в виде исследований с повторными дозами на крысах и обезьянах. В этих исследованиях с повторными дозами не наблюдали эффектов, связанных с тестируемым изделием, в отношении каких-либо оцениваемых параметров CV вплоть до самых высоких оцениваемых доз (6,7 мг/кг для крыс и 0,691 мг/кг для обезьян).

Респираторные оценивания

[0268] Респираторные эффекты загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE оценивали как часть исследований с однократной дозой и с повторными дозами на крысах и обезьянах. Увеличение минутного объема наблюдали после ингаляционного введения загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE крысам Sprague Dawley, а также частота дыхания и дыхательный объем во всех группах, получавших дозу до 6,4 мг/кг загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE, а также в контролях в виде 10% трегалозы.

[0269] Не наблюдали никаких эффектов на респираторные параметры, включающие в себя частоту дыхания, дыхательный объем и производный минутный объем после ингаляционного введения загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE крысам Sprague-Dawley при повторных дозах до 6,7 мг/кг или яванским макакам при однократной или повторных дозах до 0,85 мг/кг или 0,691 мг/кг соответственно.

[0270] Существует минимальная токсикологическая проблема в отношении ICE, DOPE и DMG-PEG 2000 как компонентов композиции, разработанной для ингаляционного введения. При оценивании генотоксичности *in silico* предположили, что ICE будет негативно влиять на бактериальную мутагенность. Это согласуется с данными об отрицательной мутагенности/генотоксичности, доступными для имидазола и пропионовой кислоты, 2 компонентов фрагмента имидазолпропионовой кислоты в ICE, и для холестерина. DOPE представляет собой вариант глицерофосфолипида, фосфатидилэтаноламина, который является компонентом легочного сурфактанта. Вероятно, разрушение DOPE пойдет по тому же пути, что и для других глицерофосфолипидов, с окончательным образованием этаноламина и олеиновой кислоты, которые присутствуют в кровотоке у младенцев и взрослых. Предполагается, что DMG PEG 2000 будет иметь низкую токсичность на основании информации об

ожидаемых продуктах метаболического распада PEG 2000 и миристиновой кислоты. Существует минимальная обеспокоенность локальной или системной токсичностью, основанная на данных исследований с PEG различных размеров, в то время как миристиновая кислота является жирной кислотой, которая присутствует в большинстве животных и растительных жиров, а также присутствует в кровотоке у младенцев и взрослых.

Пример 3. Фармакокинетические показатели

[0271] При исследовании в данном примере крысам Sprague-Dawley или обезьянам вводили дозу в течение до 6 часов (для крыс) или до 2 часов (для обезьян) посредством ингаляции загруженными mRNA hCFTR липосомами на основе ICE или липосомами на основе ICE отдельно, а затем умерщвляли через 24 часа для измерения уровней hCFTR в разных тканях. Целевые дозы показаны в таблицах 4-6. Фактические измеряемые дозы составляли 420, 630 и 850 мкг/кг загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE, вводимых обезьянам (что соответствует целевым дозам в названии таблицы 4), 0,77, 4,05 и 6,70 мг/кг загруженных mRNA hCFTR липосом на основе ICE, вводимых крысам (что соответствует целевым дозам в названии таблицы 5), и 0,77, 4,05 и 6,70 мг/кг липосом на основе ICE, вводимых крысам (что соответствует целевым дозам в названии таблицы 6). Подробные результаты распределения в тканях представлены ниже в таблицах 4, 5 и 6.

Таблица 4. Средние концентрации mRNA hCFTR в тканях обезьян и в крови через 24 часа после ингаляции загруженных mRNA hCFTR липосом

Ткань ^a	Самцы				Самки			
	Среда-носитель	Целевая ингаляционная доза			Среда-носитель	Целевая ингаляционная доза		
		500 мкг/кг	750 мкг/кг	1000 мкг/кг		500 мкг/кг	750 мкг/кг	1000 мкг/кг
Головной мозг	BQL	3,91	0,0968	BQL	BQL	2,05	0,110	1,18
Сердце	BQL	BQL	0,165	BQL	BQL	BQL	BQL	0,537
Почка	BQL	BQL	BQL	0,0523	BQL	BQL	BQL	0,231
Гортань	0,166	BQL	5,54	1,87	BQL	5,15	3,37	2,59
Печень	BQL	BQL	0,0670	1,27	BQL	0,917	0,147	8,48
Легкое (средняя величина)	0,110	208	67,2	82,1	0,426	819	1390	1880
Селезенка	BQL	0,420	BQL	BQL	BQL	BQL	0,307	1,85
Яичко	BQL	BQL	BQL	0,0912	--	--	--	--
Яичник	--	--	--	--	BQL	0,596	BQL	0,976

Трахея	BQL	0,176	0,993	1,65	0,0657	1,54	14,4	4,72
Трахеобронхиальный LN	BQL	30,9	0,284	70,3	BQL	0,147	468	5,28
Кровь	0,0501	BQL	0,0433	0,0120	0,0188	0,00351	0,385	0,0121

BQL: ниже уровня количественного определения.

^a Уровни в ткани выражали как 10^6 х копий/г, а уровни в крови - как 10^6 х копий/мл, для выражения уровней в сопоставимых массах, поскольку 1 мл крови весит ~1 г.

Таблица 5. Средние концентрации mRNA hCFTR в тканях крыс и в крови через 24 часа после введения доз загруженных mRNA hCFTR липосом 0,7, 3,75 или 6,4 мг/кг

Ткань	Самцы				Самки			
	Среда- носитель	0,7 мг/кг	3,75 мг/кг	6,4 мг/кг	Среда- носитель	0,7 мг/кг	3,75 мг/кг	6,4 мг/кг
Головной мозг	BLQ	BLQ	BLQ	55,4	BLQ	BLQ	BLQ	32,4
Сердце	BLQ	BLQ	BLQ	17,0	BLQ	BLQ	BLQ	41,1
Почка	BLQ	BLQ	BLQ	0,37	BLQ	BLQ	BLQ	0,95
Гортань	0,20	BLQ	BLQ	4178	BLQ	BLQ	BLQ	1410
Печень	NC	BLQ	BLQ	2,3	BLQ	BLQ	BLQ	9,75
Легкое	0,061	2057	59094	156130	BLQ	1361	33649	180000
Носовая раковина	0,12	BLQ	BLQ	792	BLQ	BLQ	BLQ	1450
Селезенка	BLQ	BLQ	BLQ	3,8	BLQ	BLQ	BLQ	1,09
Яичко	0,08	BLQ	BLQ	9,5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Яичник	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	6,99
Трахея	BLQ	BLQ	BLQ	2980	BLQ	BLQ	BLQ	787
Трахеобронхиальный LN	BLQ	BLQ	BLQ	108	BLQ	BLQ	BLQ	1,48
Кровь	0,076	0,68	14,7	0,20	0,016	0,29	133	1,48

BLQ: ниже уровня количественного определения.

Концентрации в тканях (копии $\times 10^6/\text{г}$)/концентрации в крови (копии $\times 10^6/\text{мл}$), с учетом того, что 1 мл крови весит ≈ 1 г.

Таблица 6. Средние концентрации ICE в тканях крыс (мкг/г) и в крови (мкг/мл) через 24 часа после ингаляционного введения дозы загруженных mRNA hCFTR липосом (дозы 0,7, 3,75 или 6,4 мг/кг)

[illegible]

Гортань	1,57	2,61	BLQ	1,57	BLQ	BLQ	BLQ	1,41
Печень	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Легкое	317	20,3	139	245	293	22,5	147	317
Носовая раковина	0,290	BLQ	BLQ	0,796	BLQ	BLQ	BLQ	0,724
Селезенка	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Яичко	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Яичник	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Трахея	6,27	BLQ	BLQ	3,65	BLQ	BLQ	BLQ	2,40
Трахеобронхиальный LN	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Кровь	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

BLQ: ниже уровня количественного определения.

Концентрации в тканях (копии x 106/г)/концентрации в крови (копии x 106/мл), с учетом того, что 1 мл крови весит ≈1 г.

[0272] Эти данные показывают высокие уровни mRNA в легочной ткани и связанные с ними проблемы с дыхательным трактом, например гортанью, трахеей, трахеобронхиальными лимфатическими узлами и носовыми раковинами с более низкими или фоновыми уровнями в сердце, головном мозге, печени, почке, селезенке, яичке и яичнике, особенно при более низких дозах введения, при этом самая высокая доза показывает распределение mRNA hCFTR в различных тканях. Уровни в легких были высокими и зависимыми от дозы как у крыс, так и у NHP, при этом самые высокие уровни наблюдали при 6,4 мг/кг у крыс.

[0273] Кинетические показатели легочного клиренса mRNA с высокой точностью измеряли у крыс, поскольку можно было умерщвлять больше животных, чем в случае обезьян. **На фигуре 2** показан экспоненциальный спад одного компонента с периодом полувыведения около 2-3 суток. Для NHP были доступны только две точки данных (**фигура 3**) и эти данные согласуются с данными для крыс с учетом различий в дозе.

[0274] Как показано в **таблице 5**, уровни mRNA в легком относительно линейно зависели от дозы. Измерения в легочной ткани, выполненные после 28-суточного периода восстановления в конце 29-суточного исследования, показывали снижение воздействия в приблизительно 100 раз, подобно тому, что наблюдали через 28 дней после исследования с однократной дозой.

[0275] Также исследовали токсикокинетические показатели липосом ICE. Не наблюдали измеримые уровни липосом ICE в цельной крови. Однако измеримые и

зависимые от дозы уровни липосом ICE наблюдали в легочной ткани у крыс (таблица 6).

Пример 4. Активность *in vitro* hCFTR в бронхиальных эпителиальных клетках человека

[0276] Этот пример иллюстрирует исследование, при котором mRNA hCFTR трансфицировали в культивируемые бронхиальные эпителиальные клетки человека, после чего белок, экспрессируемый из трансфицированной mRNA hCFTR, обеспечивал значительное увеличение транспорта хлоридов через бронхиальную эпителиальную мембрану по сравнению с буфером, что тем самым демонстрирует функциональную эффективность трансфицируемой mRNA.

[0277] Изменения в транспорте хлоридов через мембрану бронхиальных эпителиальных клеток измеряли по току короткого замыкания выходной цепи в устройстве Уссинга для фиксации напряжения в эпителии (*т. е.* в камере Уссинга). В частности, с использованием установленной процедуры с камерой Уссинга (Charles River Laboratories) mRNA hCFTR, инкапсулированную в липосоме, содержащей ICE, DOPE и PEG-модифицированный липид, инкубировали в течение 2 или 4 часов на апикальной (слизистой) или базолатеральной (серозной) сторонах или на обеих сторонах бронхиальных эпителиальных клеток человека. Холостой буферный раствор также включали в качестве контроля, например, для оценивания транспорта хлоридов эндогенным CFTR в клетках. Затем измеряли активность хлоридных каналов, индуцированную форсколином, с использованием анализа с камерой Уссинга. После измерения изменения тока, указывающего на транспорт хлоридов через мембрану бронхиальных эпителиальных клеток, к образцам добавляли ингибитор CFTR, чтобы показать, что изменение тока связано с активностью CFTR.

[0278] Как показано на **фигуре 4**, по сравнению с контрольной группой (А. холостой буфер) обработка апикальной (слизистой) эпителиальной поверхности в течение 2 или 4 часов (образцы В и Е, соответственно), а также апикальной и базолатеральной (серозной) эпителиальных поверхностей в течение 2 часов (образец С) с помощью mRNA hCFTR обеспечивала значительное увеличение активности хлоридных каналов. Кроме того, активность хлорида во всех группах ингибировали ингибитором CFTR-172. Результаты этого исследования показывают, что mRNA

hCFTR, доставляемая в липосоме в бронхиальные эпителиальные клетки человека, продуцировала в этих клетках активный белок CFTR. Это также показывает, что активный белок CFTR, продуцируемый mRNA hCFTR, по сравнению с эндогенным белком CFTR обеспечивает значительно увеличенный транспорт хлоридов через клеточные мембраны трансфицированных бронхиальных эпителиальных клеток человека.

Пример 5. Экспрессия белка hCFTR у мышей после однократной дозы композиции mRNA hCFTR/липосома

[0279] Этот пример показывает, что дефицит белка CFTR в клетках легких мышей с нокаутом CFTR (КО) может быть устранен путем легочной доставки композиции mRNA hCFTR/липосома.

[0280] Доставку композиции mRNA hCFTR/липосома в дыхательный тракт мышей CFTR КО обеспечивали путем распыления композиции через небулайзер с вибрирующим ситом. Доза доставляемой композиции была функцией концентрации тестируемого изделия, скорости потока распыляемого материала и продолжительности периода распыления. После введения дозы специфическое для человека антитело, направленное на карбокси-конец hCFTR, использовали для визуализации экспрессии и распределения белка с помощью иммуногистохимии (ИНС).

[0281] Мыши CFTR КО получали однократное ингаляционное введение композиции в течение периодов распыления, составляющих 30, 95 или 240 минут. Контрольная группа получала 240-минутное распыление только с буфером. Через 2 или 24 часа после введения животных умерщвляли и выделяли легочную ткань для ИНС (фигуры 5 и 6). Наблюдали зависимость от дозы экспрессию белка hCFTR с минимальным окрашиванием в отношении hCFTR, присутствующим после 30-минутного периода распыления в обеих временных точках. Повышенное окрашивание наблюдали в 90- и 240-минутные периоды распыления. Кроме того, усиление окрашивания также наблюдали между временными точками 2 и 24 часа. Введение композиции mRNA hCFTR/липосома приводило к широкому распределению белка hCFTR в легком в том числе в бронхиальном эпителии и альвеолах как верхних, так и нижних дыхательных путей.

Пример 6. Распределение hCFTR после однократной дозы композиции mRNA hCFTR/липосома у отличных от человека приматов

[0282] Этот пример иллюстрирует, что введение композиции mRNA hCFTR/липосома отличным от человека приматам (NHP) с помощью аэрозоля приводит к широкому распространению mRNA hCFTR в легком и ее ограниченной доставке в гортань, трахею и трахеобронхиальные лимфатические узлы.

[0283] NHP обрабатывали однократным воздействием аэрозоля композиции mRNA CO-hCFTR/липосома. Как показано на **фигуре 7**, иммуногистохимическое (ИНС) окрашивание поперечных срезов легкого демонстрирует зависимое от дозы увеличение интенсивности выявления положительного белка hCFTR. Кроме того, при выявлении и количественном определении mRNA hCFTR в тканях от NHP выявляли обширное распределение в легких обезьян, при этом уровни CO-hCFTR на порядки величины (>200 раз) превышали эндогенный CFTR (**фигура 8**). Кроме того, легкие обезьян, которые были целевыми органами, получали >90% дозы CO-CFTR, попадавшей в дыхательные пути, по сравнению с другими тканями дыхательного тракта, которые тестировали (**фигура 9**).

Пример 7. Системное биораспределение hCFTR после однократной дозы композиции mRNA hCFTR/липосома у отличных от человека приматов

[0284] В этом примере показано, что введение композиции mRNA hCFTR/липосома отличным от человека приматам (NHP) с помощью аэрозоля приводит к минимальному системному воздействию.

[0285] NHP обрабатывали однократным воздействием аэрозоля композиции mRNA CO-hCFTR/липосома. Как показано в **таблице 7**, биораспределение mRNA hCFTR в других органах на порядке величины ниже, чем в легком.

Таблица 7. Биораспределение mRNA hCFTR у отличных от человека приматов после распыления загруженных mRNA hCFTR липосом.

	Самцы	Самки

Пример 8. Лечение субъектов с кистозным фиброзом с помощью композиции mRNA CO-hCFTR/липосома

[0286] Исследование в данном примере предназначено для оценивания композиции mRNA CO-CFTR/липосома у пациентов с кистозным фиброзом.

[0287] Композицию mRNA CO-hCFTR/липосома (композицию CO-hCFTR) вводят путем распыления субъектам с кистозным фиброзом. Концентрация mRNA CO-hCFTR составляет 0,6 мг/мл. Используют небулайзер для введения композиции CO-hCFTR путем распыления при скорости распыления приблизительно 0,3 мл/минута. Композицию CO-hCFTR будут вводить субъектам при следующих 3 уровнях дозы: 8,0, 16,0 или 24,0 мг mRNA CO-hCFTR (уровни номинальной дозы) либо однократно, либо один раз в неделю в течение пяти недель. Другим субъектам будут вводить дозу плацебо-контроля.

[0288] Чтобы получить лечение с введением композиции CO-hCFTR, пациенты должны иметь подтвержденный диагноз CF, определяемый всеми следующими критериями: значение хлорида в поте пота ≥ 60 ммоль/л при количественном ионтофореze пилокарпина (зафиксированное в медицинской карте пациента), подтвержденная вызывающая заболевание мутация CFTR (генотип подтвержден во время скринингового визита) и хроническое синусно-пульмональное заболевание и/или желудочно-кишечные/пищевые аномалии, указывающие на заболевание CF, клинически стабильное заболевание CF, например, $FEV_1 \geq 50\%$ и $\leq 90\%$ прогнозируемой нормы для возраста, пола и роста при скрининге, сатурация кислородом в состоянии покоя $\geq 92\%$ в воздухе помещения (пульсоксиметрия) и индекс массы тела $\geq 17,5$ кг/м² и масса ≥ 40 кг. Субъекты, получающие комбинированное лекарственное средство лумакафтор/ивакафтор (ORKAMBI), будут продолжать принимать его в течение всего исследования, предпочтительно в стабильной дозе.

[0289] Процедуры и тесты, которые будут проводиться как для скрининга субъектов, так и во время исследования для оценивания биологической активности композиции mRNA CO-CFTR/липосома, включают жизненно важные показатели, пульсоксиметрию, физическое обследование, спирометрию, клинические лабораторные тесты (химические исследования сыворотки крови, гематология, коагуляция, анализ мочи, CRP), ECG, рентгенографию грудной клетки, пересмотренный опросник кистозного фиброза (CFQ-R), сывороточный тест на беременность, отчет о АЕ и

сопутствующих лекарственных препаратах, измерение массы, забор крови для анализов CO-mRNA hCFTR и ICE, а также забор крови для анализов иммунного ответа. Субъекты, которым вводили 24,0 мг mRNA CO-hCFTR один раз в неделю в течение пяти недель, дополнительно проходили бронхоскопию.

[0290] Бронхиальные эпителиальные клетки, полученные во время бронхоскопий, будут подготовлены для количественного определения экзогенной mRNA CO-hCFTR и эндогенной mRNA CFTR с помощью qPCR, а также для качественного оценивания белка CFTR с помощью анализа вестерн-блоттинга.

[0291] Кроме того, во время бронхоскопии будут выполнены измерения разности потенциалов нижних дыхательных путей для оценивания активности хлоридных каналов CFTR в бронхиальном эпителии. Измерения разности потенциалов будут проводиться на выходе язычка левого легкого, как описано Dransfield *et al.* (Dransfield *et al.*, Chest. (2013) 144:498-506). Будут регистрировать стабильный потенциал со средним значением 10-секундного интервала оценки после перфузии каждого раствора. Активность CFTR будут оценивать по изменению разности потенциалов после перфузии изопроterenолом, не содержащим хлорид.

[0292] Будут заполнять пересмотренный опросник кистозного фиброза (CFQ-R; версию для подростков и взрослых [пациентов в возрасте 14 лет и старше]), чтобы получить как исходный балл, так и баллы во время исследования для сравнения. Результаты исследования респираторного домена CFQ-R будут представлять наибольший интерес; минимальное отклонение от исходного уровня, представляющее клинически важное улучшение в респираторном домене, определили как ≥ 4 (Quittner *et al.*, Chest. (2009) 135:1610-8).

Пример 9. Совместная локализация CFTR с мембранным белком в бронхиальных клетках верхних дыхательных путей

[0293] Данный пример демонстрирует экспрессию белка CFTR в легком и совместную локализацию с мембранными плотными соединениями (ZO-1) после введения кодон-оптимизированной mRNA CFTR человека.

[0294] *Протокол исследования совместной локализации.* Способ исследования иммуногистохимии и совместной локализации, описанный в этом абзаце, является общим для примеров 9, 10 и 11. Доставка в легкие mRNA CFTR у отличных от

человека приматов сопровождалась иммуногистохимией для выявления экспрессии белка и мембранной совместной локализации в бронхиальных клетках верхних дыхательных путей, эпителиальных клетках нижних дыхательных путей и глубоких альвеолах легкого. Отличных от человека приматов в данном исследовании группировали в пять категорий и им вводили следующее: (1) контроль, 10% трегалоза; (2) контроль, среда-носитель LNP; (3) низкая доза CO-hCFTR, 500 мкг/кг, (4) средняя доза CO-hCFTR, 750 мкг/кг, (5) высокая доза CO-hCFTR, 1000 мкг/кг. Состав mRNA-LNP или контроля (без mRNA) вводили ежедневно. Соответственно, животных подвергали в течение 60 минут обработке композицией, превращенной в аэрозоль (группа 3, низкая доза, 500 мкг/кг), 90 минут обработке аэрозолем (группа 4, средняя доза, 750 мкг/кг) или 120 минут обработке аэрозолем (группа 5, высокая доза) как описано в таблице 4. В конце исследования животных умерщвляли и собирали ткани для иммуногистохимии, чтобы выявить экспрессию и локализацию белка CFTR человека в легких. Для иммуногистохимического выявления кодон-оптимизированного белка CFTR человека срезы легкого инкубировали в течение ночи при 4°C с разбавлением 1:250 каждого из мышинных моноклональных антител к CFTR (MAB 25031, R&D Systems) и кроличьего антитела к ZO1 (Ab214228, Abcam), или с антителом к CFTR отдельно и антителом к ZO1 отдельно. После инкубации в течение ночи срезы блокировали первым блокирующим средством, содержащим перекись водорода, инкубировали со вторичным антителом (антителом к мышинному DyLight 594 для антитела к CFTR и антителом к антителу кролика DyLight 488) с последующим вторым блокированием в растворе, содержащем 3% сыворотки крови лошади и 3% BSA, и подвергали конфокальной микроскопии на предмет совместной локализации. DyLight 594 излучает красный сигнал, а DyLight 488 излучает зеленый, и после совместной локализации двух сигналов (и, следовательно, белков, каждый из которых связывается), оптическое совмещение дает желтый сигнал.

[0295] Как показано на **фигуре 10**, белок CFTR, транслируемый с введенной mRNA CFTR, экспрессируется в верхнем дыхательном тракте в бронхиальных эпителиальных клетках. В иллюстративном исследовании полученный из mRNA CFTR белок проявлял зависимость от дозы экспрессии и совместно локализовался с эндогенным белком мембранного плотного соединения ZO1 в мембране эпителиальных клеток верхних бронхов. На **фигуре 10А** представлены типичные микроскопические изображения бронхиальных эпителиальных клеток от контрольного животного,

получавшего 10% трегалозу отдельно, визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 10B** представлены типичные микроскопические изображения бронхиальных эпителиальных клеток от животного, получавшего mRNA CFTR в низкой дозе (500 мкг/кг), визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 10C** представлены типичные микроскопические изображения бронхиальных эпителиальных клеток от животного, получавшего mRNA CFTR в высокой дозе (1000 мкг/кг), визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). Как показано на фигуре, экспрессия CFTR была зависимой от дозы, то есть сигнал иммуноокрашивания был сильнее при более высокой дозе (изображение слева на **фигуре 10C**), чем при низкой дозе (изображение слева на **фигуре 10B**). Также, как видно из расположения сигналов CFTR и ZO1, CFTR и ZO1 экспрессируются в мембране эпителиальных клеток. Два белка совместно локализовались, давая усиленный сигнал, который был желтым при визуальном наблюдении (изображение справа на **фигурах 10B и 10C**). На **фигуре 10A** не наблюдали красного сигнала, соответствующего CFTR, что указывает на специфичность окрашивания. Также объединенный оптический сигнал не был усилен и был монохроматическим только для сигнала ZO-1.

Пример 10. Совместная локализация CFTR с мембранным белком в эпителиальных клетках нижних дыхательных путей

[0296] Для успешного терапевтического эффекта введенная mRNA CFTR должна быть доставлена в нижнюю часть легкого. Как показано на **фигуре 11**, белок CFTR, транслируемый с введенной mRNA CFTR, экспрессировался в эпителиальных клетках нижней части дыхательного тракта. Полученный из mRNA CFTR белок проявлял зависимость от дозы экспрессии и совместно локализовался с эндогенным белком мембранного плотного соединения ZO1 в мембране эпителиальных клеток нижних дыхательных путей. На **фигуре 11A** показаны типичные микроскопические изображения среза ткани мембраны эпителиальных клеток нижних дыхательных путей от контрольного животного, получавшего 10% трегалозу отдельно, визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического

совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 11B** показаны типичные микроскопические изображения среза ткани мембраны эпителиальных клеток нижних дыхательных путей от животного, получавшего mRNA CFTR в низкой дозе (500 мкг/кг), визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 11C** показаны типичные микроскопические изображения среза ткани нижних дыхательных путей от животного, получавшего mRNA CFTR в высокой дозе (1000 мкг/кг), визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). Интенсивность экспрессии CFTR была выше при высокой дозе (изображение слева на **фигуре 11C**) по сравнению с низкой дозой (изображение слева на **фигуре 11B**). Совмещенное изображение на **фигуре 11C** было желтым, что указывает на совместную локализацию белков, тогда как на **фигуре 11A** не было сигнала для CFTR (слева), как ожидалось от контроля.

Пример 11. Экспрессия белка, полученного из mRNA CFTR, в альвеолах легкого

[0297] mRNA CFTR успешно поглощалась альвеолярными клетками глубокой части легкого. Как показано на **фигуре 12**, белок CFTR, транслируемый из введенной mRNA CFTR, экспрессировался в мембранах альвеолярных клеток и совместно локализовался с эндогенным белком плотного соединения мембраны ZO1 в мембране альвеолярных клеток. На **фигуре 12A** показаны типичные микроскопические изображения среза ткани мембраны эпителиальных клеток нижних дыхательных путей от контрольного животного, получавшего 10% трегалозу отдельно, визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 12B** показаны типичные микроскопические изображения среза ткани мембраны эпителиальных клеток нижних дыхательных путей от животного, получавшего mRNA CFTR в низкой дозе (500 мкг/кг), визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). На **фигуре 12C** показаны типичные микроскопические изображения среза ткани нижних дыхательных путей от животного, получавшего mRNA CFTR в высокой дозе (1000 мкг/кг), визуализированные для окрашивания CFTR (слева), окрашивания ZO1 (в центре) и оптического совмещения окрашивания CFTR и ZO1 (справа). Интенсивность

экспрессии CFTR была выше при высокой дозе (изображение слева на **фигуре 12C**) по сравнению с низкой дозой (изображение слева на **фигуре 12B**). Совмещенное изображение на **фигуре 12C** было желтым, что указывает на совместную локализацию белков, тогда как на **фигуре 12A** не было сигнала для CFTR (слева), как ожидалось от контроля.

Пример 12. Исследование характеристики размера частиц с определением единовременной выпускаемой дозы и скорости выхода (небулайзер VMT 1)

[0298] В исследованиях, описанных в примерах 12-15, оценивали распыляемые частицы композиции mRNA CFTR/липосома, как описано в примере 1. Композицию распыляли с использованием трех устройств небулайзера VMT 1, коммерчески доступного небулайзера VMT, и полученный аэрозоль исследовали в трех повторностях для определения следующих параметров:

- медианный диаметр объема (VMD),
- фракция мелких частиц (FPF), в частности, процентное содержание аэрозоля с размером частиц
 - <5,0 мкм,
 - <3,3 мкм,
 - <2,0 мкм,
- ширина.

[0299] Выполняли одновременные гравиметрические измерения (заполнение 8 мл) с использованием непрерывной экстракции 15 л/минута. Каждый распылитель анализировали в трех повторностях для определения:

- эффективности доставки (испускаемая масса за всю обработку в процентах от массы заполнения [%]),
- выпускаемой массы за первую минуту распыления (потеря гравиметрической массы [мг/минута]),
- расхода выпускаемой массы за всю обработку (суммарная скорость выхода [мг дозируемого раствора/минута]),

- суммарной испускаемой массы (доставленная доза за всю обработку [мг]),
- остаточного раствора лекарственного средства (мг и мкл эквивалента дозируемого раствора),
- времени лечения (время до окончания образования аэрозоля [с]).

[0300] Результаты демонстрируют, что композиция mRNA CFTR/липосома, описанная в примере 1, может быть доставлена из небулайзера VMT 1 со средним медианным диаметром объема (VMD) 4,35 мкм ($n = 9$, стандартное отклонение 0,46 мкм) и средним временем обработки 38 минут 49 секунд (стандартное отклонение 12 минут 35 секунд) для заполнения 8 мл. Удельный вес композиции был определен как 1,03 г/мл. Краткое описание данных представлено в таблице 8.

[0301] Поскольку VMD образуемых частиц составляет <5 мкм, большая часть распыляемой композиции способна проникать в нижние дыхательные пути пациента и, следовательно, достигать значительной части соответствующей популяции эпителиальных клеток. При концентрации mRNA CO-hCFTR 0,6 мг/мл за одно заполнение в 8 мл теоретически можно ввести суммарную дозу 4,2 мг менее чем за 40 минут. Таким образом, время лечения достаточно короткое, чтобы можно было вводить композицию mRNA CO-hCFTR/липосома по настоящему изобретению в амбулаторных условиях или дома с помощью коммерчески доступного небулайзера с вибрирующим ситом.

Таблица 8. Краткое описание результатов характеристики размера частиц с определением единовременной испускаемой дозы и скорости выхода (небулайзер VMT 1)

		Среднее	SD	%RSD
VMD (мкм)		4.35	0,46	10,49
Фракция мелких частиц	$<5,0$ мкм	59,55%	6,47%	10,86
	$<3,3$ мкм	32,56%	6,76%	20,78
	$<2,0$ мкм	9,92%	4,44%	44,73%
Ширина		1,51	0,11	7,07
Эффективность доставки		98,3%	0,31%	0,32

Испускаемая масса за первую минуту распыления (мг)	218,5	88,65	40,58
Расход испускаемой массы за всю обработку (мг раствора/минута)	232,8	80,21	34,45
Суммарная испускаемая масса (мг)	8165,5	28,88	0,35
Остаточная масса (мг раствора)	139,2	26,04	18,71
Остаточный объем (мл)	135,30	25,32	18,71
Время лечения (с)	2328,67	754,64	32,41

Сокращения: мг = миллиграмм(миллиграммы); мкм = микрометр(микрометры); мин. = минута(минуты); мл = миллилитр(миллилитры); с = секунда(секунды); RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение; VMD = медианный диаметр объема.

Пример 13. Исследование в отношении характеристики аэродинамического размера частиц с помощью импактора следующего поколения (NGI) при 15 л/минута (небулайзер VMT 1)

[0302] Аэрозоль из каждого из трех устройств небулайзера VMT 1, как описано в примере 12, исследовали в трех повторностях с использованием импактора следующего поколения (NGI), охлажденного до 5°C, с экстракцией 15 л/минута для определения следующих параметров:

- массовый медианный аэродинамический диаметр (MMAD) – средний размер частиц аэрозоля,
- фракция мелких частиц (FPF), в частности, процентное содержание аэрозоля <5,0 мкм,
- доставляемая доза в импактор (количество композиции, собранной в импакторе),
- геометрическое стандартное отклонение (GSD) – безразмерная величина, указывающая на изменчивость размера частиц аэрозоля,
- баланс массы.

[0303] Для каждого анализа распыляли 1 мл композиции. Краткое описание результатов представлено в таблице 9.

[0304] Средний размер частиц распыляемой композиции находится в диапазоне от приблизительно 4,35 мкм до приблизительно 5,58 мкм при измерении VMD и MMAD соответственно. Таким образом, эти два способа измерения медианного размера частиц композиции в целом согласуются.

Таблица 9. Результаты в отношении MMAD, GSD, FPF, баланса массы и доставляемой дозы (небулайзер VMT 1)

	Среднее	SD	%RSD
MMAD (мкм)	5,58	0,36	6,52
GSD	1,72	0,05	2,90
FPF (%<5,0 мкм)	40,94	4,82	11,78
Баланс массы (%)	100,46	6,20	6,17
Доставляемая доза в импактор	542,72	38,38	7,07

* Суммарное количество лекарственного средства, доставляемого в тестовый аппарат NGI (элемент соединения, горловина и чаши NGI).

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; GSD = геометрическое стандартное отклонение; мкг = микрограмм(микрограммы);

мкм = микрометр(микрометры); MMAD = массовый медианный аэродинамический диаметр; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Пример 14. Исследование доставляемой дозы при паттернах дыхания взрослого и ребенка (небулайзер VMT 1)

[0305] Чтобы охарактеризовать выход аэрозоля для композиции mRNA CFTR/липосома, описанной в примере 1, во время дыхания, исследовали три устройства небулайзера VMT 1, каждый в трех повторностях, с использованием двух паттернов дыхания. Использовали следующие паттерны дыхания:

- взрослый
 - дыхательный объем 500 мл,
 - соотношение вдох/выдох (I/E) = 1:1,

- 15 вдохов в минуту;
- ребенок
- дыхательный объем 155 мл,
- соотношение вдох/выдох (I/E) = 1:2,
- 25 вдохов в минуту;

[0306] Для каждого анализа распыляли 1 мл композиции. С использованием результатов определения фракции мелких частиц (FPF, % <5,0 мкм) посредством тестирования NGI рассчитывали ряд параметров. В таблице 10 приведены время лечения и остаток в небулайзере. В таблице 11 приведены доставляемая доза, респираторная доставляемая доза и скорости. В таблице 12 приведены выпускаемые дозы и скорости. В таблице 13 приведены респираторные выпускаемые дозы и скорости. В таблице 14 и таблице 15 приведены эффективность в виде процента номинальной дозы.

[0307] Эти исследования демонстрируют, что приблизительно 25%-40% суммарной распыляемой композиции (39,6% и 26,3% для взрослого и ребенка соответственно) будет доставляться пациенту при распылении. Такую потерю следует учитывать при введении пациентам дозы композиции mRNA CFTR/липосома.

Таблица 10. Время лечения и остаток в небулайзере. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 1)

		Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Время лечения (секунды)		201,1	45,8	22,8	210,6	49,9	23,7
Остаток в небулайзере – анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR)	124,6	23,8	19,1	187,0	44,0	23,5
	(мкл эквивалента раствора)	207,6	39,6	19,1	311,6	73,3	23,5
Остаток в небулайзере гравиметрический (мг раствора)		146,0	31,6	21,7	162,7	35,5	21,8

Сокращения: мг = миллиграмм(миллиграммы); мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 11. Доставляемая доза, респираторная доставляемая доза и скорости. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 1)

		Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Доставляемая доза	(мкг mRNA CFTR)	237,9	17,9	7,5	157,8	14,7	9,3
	(мкл эквивалента раствора)	396,6	29,8	7,5	262,9	24,5	9,3
Скорость доставляемой дозы	(мкг mRNA CFTR/минута)	74,2	16,9	22,7	46,4	7,7	16,5
	(мкл эквивалента раствора/минута)	123,7	28,1	22,7	77,4	12,8	16,5
Респираторная доставляемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута)	(мкг mRNA CFTR)	97,2	12,3	12,6	65,0	12,2	18,8
	(мкл эквивалента раствора)	162,1	20,4	12,6	108,3	20,4	18,8
Скорость респираторной доставляемой дозы (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута)	(мкг mRNA CFTR/минута)	29,8	4,8	16,0	18,8	2,5	13,2
	(мкл эквивалента раствора/минута)	49,7	7,9	16,0	31,3	4,1	13,2

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; с = секунда(секунды); SD = стандартное отклонение.

Таблица 12. Испускаемые дозы и скорости. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 1)

		Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Испускаемая доза - анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR)	476,3	26,2	5,5	412,1	46,5	11,3
	(мкл эквивалента)	793,9	43,7	5,5	686,8	77,5	11,3
Испускаемая доза - гравиметрическая	(мг раствора)	855,4	36,8	4,3	835,7	39,2	4,7
Скорость выпускаемой дозы - анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR/минута)	146,8	23,8	16,2	120,7	16,7	13,9
	(мкл эквивалента раствора/мину)	244,7	39,7	16,2	201,1	27,9	13,9
Скорость выпускаемой дозы	(мг раствора/минута)	264,2	44,8	17,0	248,4	51,6	20,8

Сокращения: мг = миллиграмм(миллиграммы); мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); мин. = минута(минуты); RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 13. Респирабельные испускаемые дозы и скорости. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 1)

		Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Респирабельная испускаемая доза (в соответствии с FPF (%<5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) - анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR)	196,0	33,8	17,2	170,5	38,6	22,6
	(мкл эквивалента раствора)	326,7	56,4	17,2	284,1	64,3	22,6
Респирабельная испускаемая доза - гравиметрическая	(мг раствора)	351,7	56,2	16,0	342,8	49,9	14,6
Скорость респирабельной испускаемой дозы (в соответствии с FPF (%<5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) - анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR/минута)	59,3	6,4	10,7	49,1	6,4	13,1
	(мкл эквивалента раствора/минута)	98,9	10,6	10,7	81,8	10,7	13,1
Скорость респирабельной испускаемой дозы - гравиметрическая	(мг раствора/минута)	106,6	11,7	11,0	100,2	16,1	16,1

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 14. Эффективность в виде процента номинальной дозы. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 1)

	Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
	Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Испускаемая доза (%)	79,3	4,0	5,0	68,8	7,5	10,9
Респирабельная испускаемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) (%)	32,6	5,5	16,8	28,4	6,4	22,4
Доставляемая доза (%)	39,6	3,1	7,9	26,3	2,3	8,9
Респирабельная доставляемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) (%)	16,2	2,0	12,4	10,8	2,0	18,6

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 15. Эффективность в виде процента номинальной дозы (гравиметрической). Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 1)

	Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
	Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Испускаемая доза (%)	85,4	3,2	3,7	83,7	3,6	4,3

Респирабельная испускаемая доза (в соответствии с FPF (%<5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) (%)	35,1	5,4	15,5	34,3	4,9	14,4
--	------	-----	------	------	-----	------

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Пример 15. Исследование целостности mRNA после распыления композиции (VMT небулайзер 1)

[0308] Для определения целостности mRNA в распыляемой композиции mRNA CFTR/липосома, получаемой в ходе распыления, использовали три устройства небулайзера VMT 1 для каждого распыления 8,0 мл композиции. Композицию распыляли в холодную ловушку для получения трех образцов. Также создавали три контрольных образца следующим образом.

- Контроль 1: композиция в оттаявшем виде.
- Контроль 2: композиция, содержащаяся в камере для лекарственного средства небулайзера на протяжении средней длительности времени, необходимого для распыления 8 мл.
- Контроль 3: композиция, содержащаяся в стеклянной емкости холодной ловушки на протяжении средней длительности времени, необходимого для распыления 8 мл.

[0309] Для каждого анализа распыляли 8 мл композиции. Образцы хранили замороженными при температуре не выше чем -70°C до проведения анализа целостности mRNA. Композицию разделяли на составные части и полученные растворы mRNA CFTR анализировали путем капиллярного электрофореза. Количественно определяли процент площади, попадающий в диапазон от 4000 до 6000 нуклеотидов, для оценивания целостности mRNA. Были сделаны следующие наблюдения.

- Для всех трех вышеупомянутых контролей целостность mRNA находилась в диапазоне от 53,9% до 71,3%,

- для всех образцов распыляемой композиции целостность mRNA находилась в диапазоне от 61,2% до 70,2%.

[0310] Эти данные демонстрируют, что на целостность mRNA композиции mRNBA CFTR/липосома не влияет распыление, что тем самым поддерживает применение распылителя с вибрирующим ситом для введения композиции.

Пример 16. Исследование характеристики размера частиц с определением единовременной испускаемой дозы и скорости выхода (небулайзер VMT 2)

[0311] В исследованиях, описанных в примерах 16-19, оценивали распыляемые частицы композиции mRNA CFTR/липосома, как описано в примере 1. Композицию распыляли с использованием трех устройств небулайзера VMT 2, коммерчески доступного небулайзера VMT, и полученный аэрозоль исследовали в трех повторностях для определения следующих параметров:

- медианный диаметр объема (VMD),
- фракция мелких частиц (FPF), в частности, процентное содержание аэрозоля с размером частиц

о <5,0 мкм,

о <3,3 мкм,

о <2,0 мкм,

- ширина.

[0312] Выполняли одновременные гравиметрические измерения (заполнение 6 мл) с использованием непрерывной экстракции 15 л/минута. Каждый распылитель анализировали в трех повторностях для определения:

- эффективности доставки (испускаемая масса за всю обработку в процентах от массы заполнения [%]),
- испускаемой массы за первую минуту распыления (потеря гравиметрической массы [мг/минута]),
- расхода испускаемой массы за всю обработку (суммарная скорость выхода [мг дозируемого раствора/минута]),

- суммарной испускаемой массы (доставленная доза за всю обработку [мг]),
- остаточного раствора лекарственного средства (мг и мкл эквивалента дозируемого раствора),
- времени лечения (время до окончания образования аэрозоля [с]).

[0313] Краткое описание данных представлено в таблице 16 ниже.

[0314] Результаты демонстрируют, что композиция может быть доставлена из небулайзера VMT 2 со средним медианным диаметром объема (VMD) 4,55 мкм ($n = 9$, стандартное отклонение 0,56 мкм) и временем лечения 22 минуты 4 секунды (стандартное отклонение 2 минуты 48 секунды) для заполнения 6 мл.

[0315] Поскольку VMD образуемых частиц составляет <5 мкм, большая часть композиции способна проникать в нижние дыхательные пути пациента и, следовательно, достигать значительной части соответствующей популяции эпителиальных клеток. При концентрации mRNA CO-hCFTR 0,6 мг/мл за одно заполнение в 6 мл теоретически можно ввести суммарную дозу 3,6 мг менее чем за 25 минут. Таким образом, время лечения достаточно короткое, чтобы можно было вводить композицию mRNA CO-hCFTR/липосома по настоящему изобретению в амбулаторных условиях или дома с помощью коммерчески доступного небулайзера с вибрирующим ситом.

Таблица 16. Краткое описание результатов характеристики размера частиц с определением единовременной испускаемой дозы и скорости выхода (небулайзер VMT 2)

		Среднее	SD	%RSD
VMD (мкм)		4,55	0,56	12,24
Фракция мелких частиц	$<5,0$ мкм	57,48%	9,68%	16,84
	$<3,3$ мкм	30,61%	6,68%	21,81
	$<2,0$ мкм	8,62%	1,87%	21,73%
Ширина		1,49	0,13	8,43
Эффективность доставки		96,48%	0,61%	0,63

Испускаемая масса за первую минуту распыления (мг)	271,0	42,74	15,77
Расход испускаемой массы за всю обработку (мг раствора/минута)	276,6	35,21	12,73
Суммарная испускаемая масса (мг)	6016,0	49,88	0,83
Остаточная масса (мг раствора)	219,2	37,72	17,21
Остаточный объем (мл)	213,12	36,67	17,21
Время лечения (с)	1324,11	168,18	12,70

Сокращения: мг = миллиграмм(миллиграммы); мкм = микрометр(микрометры); мин. = минута(минуты); мл = миллилитр(миллилитры); с = секунда(секунды); RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение; VMD = медианный диаметр объема.

Пример 17. Исследование в отношении характеристики аэродинамического размера частиц с помощью импактора следующего поколения (NGI) при 15 л/минута (небулайзер VMT 2)

[0316] Аэрозоль из каждого из трех устройств небулайзера VMT 2, как описано в примере 16, исследовали в трех повторностях с использованием импактора следующего поколения (NGI), охлажденного до 5°C, с экстракцией 15 л/минута для определения следующих параметров:

- массовый медианный аэродинамический диаметр (MMAD) – средний размер частиц аэрозоля,
- фракция мелких частиц (FPF), в частности, процентное содержание аэрозоля <5,0 мкм,
- доставляемая доза в импактор (количество композиции, собранной в импакторе),
- геометрическое стандартное отклонение (GSD) – безразмерная величина, указывающая на изменчивость размера частиц аэрозоля,
- баланс массы.

[0317] Для каждого анализа распыляли 1 мл композиции. Краткое описание результатов представлено в таблице 17 ниже.

Таблица 17. Результаты в отношении MMAD, GSD, FPF, баланса массы и доставляемой дозы (небулайзер VMT 2)

	Среднее	SD	%RSD
MMAD (мкм)	5,76	0,24	4,18
GSD	1,86	0,06	3,02
FPF (%<5,0 мкм)	39,35	2,80	7,11
Баланс массы (%)	98,62	6,34	6,43
Доставляемая доза в импактор	466,86	53,50	11,46

* Суммарное количество лекарственного средства, доставляемого в тестовый аппарат NGI (элемент соединения, горловина и чаши NGI). Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; GSD = геометрическое стандартное отклонение; мкг = микрограмм(микрограммы); мкм = микрометр(микрометры); MMAD = массовый медианный аэродинамический диаметр; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Пример 18. Исследование доставляемой дозы при паттернах дыхания взрослого и ребенка (небулайзер VMT 2)

[0318] Чтобы охарактеризовать выход аэрозоля композиции mRNA CFTR/липосома, описанной в примере 1, во время дыхания, исследовали три устройства небулайзера VMT 2 в трех повторностях с использованием двух паттернов дыхания для характеристики выхода аэрозоля композиции при определенных паттернах дыхания. Использовали следующие паттерны дыхания:

- взрослый
 - дыхательный объем 500 мл,
 - соотношение вдох/выдох (I/E) = 1:1,
 - 15 вдохов в минуту;
- ребенок
 - дыхательный объем 155 мл,
 - соотношение вдох/выдох (I/E) = 1:2,

- 25 вдохов в минуту;

[0319] Для каждого анализа распыляли 1 мл композиции. С использованием результатов определения фракции мелких частиц (FPF, % <5,0 мкм) посредством тестирования NGI рассчитывали ряд параметров.

[0320] В таблице 18 приведены время лечения и остаток в небулайзере.

[0321] В таблице 19 приведены доставляемая доза, респираторная доставляемая доза и скорости. В таблице 20 приведены выпускаемые дозы и скорости.

[0322] В таблице 21 приведены респираторные выпускаемые дозы и скорости.

[0323] В таблице 22 и таблице 23 приведены эффективность в виде процента номинальной дозы.

[0324] Данные исследования демонстрируют, что приблизительно 25%-42% суммарной распыляемой композиции будет доставлено пациенту при распылении (41,5% и 25,0% для взрослого и ребенка соответственно). Такую потерю следует учитывать при введении пациентам дозы композиции mRNA CFTR/липосома.

Таблица 18. Время лечения и остаток в небулайзере. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 2)

		Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Время лечения (секунды)		241,1	30,3	12,6	256,7	62,7	24,4
Остаток в небулайзере – анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR)	91,7	45,4	49,5	94,0	36,6	38,9
	(мкл эквивалента раствора)	152,9	75,7	49,5	156,6	60,9	38,9
Остаток в небулайзере гравиметрический (мг раствора)		97,4	49,2	50,5	99,0	48,0	48,5

Сокращения: мг = миллиграмм(миллиграммы); мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 19. Доставляемая доза, респираторная доставляемая доза и скорости. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 2)

Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD

Доставляемая доза	(мкг mRNA CFTR)	249,9	48,7	19,5	148,5	31,5	21,2
	(мкл эквивалента раствора)	416,4	81,2	19,5	247,6	52,5	21,2
Скорость доставляемой дозы	(мкг mRNA CFTR/минута)	62,4	10,0	16,0	35,6	8,0	22,4
	(мкл эквивалента раствора/минута)	103,9	16,6	16,0	59,3	13,3	22,4
Респирабельная доставляемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута)	(мкг mRNA CFTR)	98,9	24,5	24,7	58,8	15,3	26,0
	(мкл эквивалента раствора)	164,9	40,8	24,7	98,0	25,5	26,0
Скорость респирабельной доставляемой дозы (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута)	(мкг mRNA CFTR/минута)	24,5	4,4	17,8	13,9	2,5	18,2
	(мкл эквивалента раствора/минута)	40,9	7,3	17,8	23,1	4,2	18,2

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; с = секунда(секунды); SD = стандартное отклонение.

Таблица 20. Испускаемые дозы и скорости. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 2)

	Паттерн дыхания взрослого	Паттерн дыхания ребенка
--	---------------------------	-------------------------

		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Испускаемая доза - анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR)	509,6	45,7	9,0	499,8	38,4	7,7
	(мкл эквивалента)	849,3	76,2	9,0	833,0	63,9	7,7
Испускаемая доза - гравиметрич	(мг раствора)	904,7	51,5	5,7	890,6	52,2	5,9
Скорость выпускаемой дозы - анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR/минута)	128,1	15,5	12,1	121,7	25,1	20,6
	(мкл эквивалента раствора/мину	213,5	25,8	12,1	202,8	41,9	20,6
Скорость выпускаемой дозы - та)	(мг раствора/мину	227,5	23,7	10,4	217,2	44,6	20,6

Сокращения: мг = миллиграмм(миллиграммы); мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); мин. = минута(минуты); RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 21. Респирабельные выпускаемые дозы и скорости. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 2)

		Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
		Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Респирабельная выпускаемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) -	(мкг mRNA CFTR)	201,1	29,0	14,4	197,3	26,6	13,5
	(мкл эквивалента раствора)	335,2	48,3	14,4	328,8	44,4	13,5

анализ RiboGreen							
Респирабельная испускаемая доза – гравиметрическая	(мг раствора)	356,7	41,3	11,6	351,2	41,1	11,7
Скорость респирабельной испускаемой дозы (в соответствии с FPF (% <5,0 мкм) с помощью NGI при 15 л/минута) – анализ RiboGreen	(мкг mRNA CFTR/минута)	50,3	6,0	11,9	47,4	7,7	16,2
	(мкл эквивалента раствора/минута)	83,8	10,0	11,9	79,0	12,8	16,2
Скорость респирабельной испускаемой дозы – гравиметрическая	(мг раствора/минута)	89,2	8,2	9,2	84,5	13,3	15,7

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мг=миллиграмм(миллиграммы); мкг = микрограмм(микрограммы); мкл = микролитр(микролитры); мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 22. Эффективность в виде процента номинальной дозы. Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 2)

	Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
	Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Испускаемая доза (%)	84,7	7,5	8,9	84,2	6,2	7,4
Респирабельная испускаемая доза (в соответствии с (% <5,0	33,5	4,8	14,3	33,2	4,4	13,3
Доставляемая доза (%)	41,5	7,9	19,1	25,0	5,2	20,7
Респирабельная доставляемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0	16,4	4,0	24,4	9,9	2,5	25,6

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Таблица 23. Эффективность в виде процента номинальной дозы (гравиметрической). Распыление 1 мл композиции при двух паттернах дыхания (небулайзер VMT 2)

	Паттерн дыхания взрослого			Паттерн дыхания ребенка		
	Среднее	SD	%RSD	Среднее	SD	%RSD
Испускаемая доза (%)	90,3	4,9	5,5	90,0	4,9	5,4
Респирабельная испускаемая доза (в соответствии с FPF (% <5,0	35,6	4,1	11,5	35,5	4,1	11,5

Сокращения: FPF = фракция мелких частиц; мкм = микрометр(микрометры); л = литр(литры); мин. = минута(минуты); NGI = импактор следующего поколения; RSD = относительное стандартное отклонение; SD = стандартное отклонение.

Пример 19. Исследование целостности mRNA после распыления композиции (VMT небулайзер 2)

[0325] Для определения целостности mRNA в распыляемой композиции mRNA CFTR/липосома, полученной в ходе распыления, использовали три устройства небулайзера VMT 2 для каждого распыления 6,0 мл композиции для анализа целостности mRNA после распыления. Композицию распыляли в холодную ловушку для получения трех образцов. Также создавали три контрольных образца следующим образом.

- Контроль 1: композиция в оттаявшем виде.
- Контроль 2: композиция, содержащаяся в камере для лекарственного средства небулайзера на протяжении средней длительности времени, необходимого для распыления 6 мл.
- Контроль 3: композиция, содержащаяся в стеклянной емкости холодной ловушки на протяжении средней длительности времени, необходимого для распыления 6 мл.

[0326] Для каждого анализа распыляли 6 мл композиции. Образцы хранили замороженными при не выше чем -70°C до проведения анализа целостности mRNA. Композицию разделяли на составные части и полученные растворы mRNA CFTR анализировали путем капиллярного электрофореза. Количественно определяли процент площади, попадающий в диапазон от 4000 до 6000 нуклеотидов, для оценивания целостности mRNA. Были сделаны следующие наблюдения.

- Для всех трех вышеупомянутых контролей целостность mRNA находилась в диапазоне от 49,7% до 72,7%,
- Для всех распыляемых образцов композиции целостность mRNA находилась в диапазоне от 60,8% до 67,3%.

[0327] Эти данные демонстрируют, что на целостность mRNA композиции mRNA CFTR/липосома не влияет распыление, что тем самым поддерживает применение распылителя с вибрирующим ситом для введения композиции.

[0328] Данные, представленные в примерах 16-19, аналогичны данным, представленным в примерах 12-15, демонстрируя, что подобные результаты достигаются при распылении композиции mRNA CFTR/липосома с использованием

двух разных коммерчески доступных небулайзеров с вибрирующим ситом (небулайзера VMT 1 и небулайзера VMT 2).

Пример 20. Исследования, касающиеся разбавителей в составах

[0329] Чтобы исследовать преимущества различных разбавителей для составов LNP, описанных в данном документе, готовили составы LNP из **таблицы 24**.

Таблица 24. Содержащие mRNA LNP

Состав	LNP	Факторы состава			
		Липидные компоненты	Молярное соотношение липидов	Груз	Лиопротектор
Пример 8	LNP1	DlInKC2-DMA:DOPE:CHOL:DMG-PEG2000	50:25:20:5	mRNA FFL (mRNA1)	10% сахарозы
Пример 9	LNP1	DlInKC2-DMA:DOPE:CHOL:DMG-PEG2000	50:25:20:5	mRNA EPO (mRNA2)	10% сахарозы
Пример 10	LNP2	DlInKC2-DMA:DOPE:CHOL:DMG-PEG2000	50:25:20:5	mRNA EPO (mRNA2)	10% сахарозы
A	LNP3	ICE:DOPE:DMG-PEG2000	60:35:5	mRNA CFTR (mRNA3)	10% сахарозы
B	LNP3	ICE:DOPE:DMG-PEG2000	60:35:5	mRNA CFTR (mRNA3)	10% трегалозы
C	LNP3	ICE:DOPE:DMG-PEG2000	60:35:5	mRNA CFTR (mRNA3) + гистидин	10% трегалозы
D	LNP3	ICE:DOPE:DMG-PEG2000	60:35:5	mRNA CFTR (mRNA3)	10% глюкозы
E	LNP4	ML2:DOPE:CHOL:DMG-PEG2000	40:30:20:10	ASS1 mRNA (mRNA4)	10% глюкозы

[0330] Составы примера 8, примера 9 и примера 10 соответственно, соответствуют составам примеров 8-10 в публикации международной заявки № WO/2012/170889, которая тем самым включена посредством ссылки. Составы A-E готовили согласно протоколу из **таблицы 25**.

Таблица 25. Протокол получения составов А-Е

Фаза	Тип	Заданное значение (°C)	Скорость изменения температуры (°C/минута)	Время (минуты)	Время (часы)	Суммарное время (часы)	Давление (миллиторр)
Загрузка		5	0	0	0	0	атм.
Заморозка	Выдерживание	5	0	60	1	1	атм.
Заморозка	Скорость	-5	0,3	33	0,6	1,6	атм.
Заморозка	Выдерживание	-5	0	30	0,5	2,1	атм.
Заморозка	Скорость	-25	0,3	67	1,1	3,2	атм.
Заморозка	Выдерживание	-25	0	30	0,5	3,7	атм.
Заморозка	Скорость	-50	0,3	83	1,4	5,1	атм.
Заморозка	Выдерживание	-50	0	180	3	8,1	атм.
Заморозка	Скорость	-32	0,3	60	1	9,1	атм.
Заморозка	Выдерживание	-32	0	60	1	10,1	атм.
Первичная сушка	Выдерживание	-32	0	3600	60	70,1	50
Вторичная сушка	Скорость	4	0,05	720	12	82,1	50
Вторичная сушка	Выдерживание	4	0	360	6	88,1	50
Хранение	Выдерживание	4	0	NA	NA	NA	1000

Физические свойства mRNA-LNP

[0331] Физические свойства свежих (нелиофилизированных) липосом и лиофилизированных составов mRNA-LNP сравнивали в соответствии со способами, приведенными в примере 6 публикации международной заявки № WO/2012/170889.

Стабильность оценивали путем сравнения среднего размера частиц (Z_{ave}), их однородности по размеру (на что указывает индекс полидисперсности, PDI) и уровней инкапсулирования mRNA до и после лиофилизации. Данные этих тестов представлены на фигурах 13-15.

[0332] На каждой из фигур 13-15 показаны минимальные изменения физических свойств mRNA-LNP после их лиофилизации и восстановления при использовании сахарозы или трегалозы в качестве лиопротектора. Например, применение сахарозы или трегалозы в качестве лиопротектора для составов А и В (оба из которых содержат LNP3 и mRNA 3) привело к увеличению размера на 8,9% и 3,3% соответственно, после лиофилизации и восстановления.

[0333] Сравнение данных для состава А (сахароза в качестве лиопротектора, протокол лиофилизации представлен в таблице 25 выше) с данными примера 8, примера 9 и примера 10 (сахароза в качестве лиопротектора, протокол лиофилизации приведен в таблице 3 публикации международной заявки № WO/2012/170889) показывает, что подобным образом стабильные лиофилизированные композиции mRNA-LNP могут быть получены с использованием обоих протоколов лиофилизации.

эффективность *in vivo* и *in vitro* лиофилизированных mRNA-LNP

[0334] Использовали мышей CD-1 дикого типа для оценивания эффективности *in vivo* состава mRNA-LNP, содержащего трегалозу в качестве лиопротектора, как до лиофилизации, так и после лиофилизации и восстановления. Экспрессию белка ASS1 из mRNA ASS1 (mRNA 4) в LNP, содержащей ML2: DOPE:CHOL:DMG-PEG2000 (LNP4), измеряли после однократного IV введения состава.

[0335] Во втором эксперименте клетки, у которых отсутствует нормальная экспрессия CFTR в анализе с камерой Уссинга, использовали для оценивания эффективности mRNA CFTR (mRNA 3), инкапсулированной в LNP, содержащей ICE:DOPE:DMG-PEG2000 (LNP 3) в составе, содержащем трегалозу, как до лиофилизации, так и после лиофилизации и восстановления.

[0336] На фигурах 16A и 16B, на которых показаны соответствующие результаты этих двух исследований, показано, что такие композиции mRNA-LNP могут быть успешно доставлены в целевые клетки и экспрессированы после лиофилизации и восстановления. В частности, на фигуре 16B показано, что активность состава mRNA

CFTR/LNP после лиофилизации и восстановления оставалась практически неизменной по сравнению с таковой до лиофилизации, даже после периода хранения в течение трех месяцев при температурах домашнего холодильника (-20°C). Таким образом, данные показывают, что трегалоза может быть особенно подходящей в качестве лиопротектора для поддержания эффективности *in vivo* составов mRNA/LNP во время хранения.

Пример 21. Безопасность и переносимость однократной дозы ингаляционного терапевтического средства на основе mRNA CFTR у взрослых пациентов с CF

[0337] Не все люди с CF отвечают на средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR, которое доступно или находится в стадии разработки. Проводили клиническое исследование, в котором биосинтетическую mRNA, кодирующую CFTR, инкапсулированную в липидные наночастицы, доставляли с помощью аэрозоля взрослым пациентам с CF. Эта форма лечения может служить терапевтическим режимом, не зависящим от мутаций.

[0338] Одна из целей этого исследования заключалась в оценивании безопасности и переносимости однократной дозы ингаляционной инкапсулированной в липид mRNA CFTR или плацебо у 12 взрослых пациентов с CF, наблюдаемых в течение по меньшей мере 1 месяца после введения дозы. С этой целью взрослых пациентов с CF с мутациями класса I и/или II и исходными значениями FEV1 от 50 до 90% рандомизировали 3:1 для получения однократной дозы 8, 16 или 24 мг инкапсулированной в липид mRNA CFTR или плацебо в двойном слепом исследовании. Все дозы вводили с помощью ручного небулайзера в условиях клиники и за пациентами наблюдали в течение по меньшей мере 1 месяца после введения дозы до завершения стадии слепого исследования и анализа. Концентрация mRNA CO-hCFTR составляла 0,6 мг/мл. Использовали небулайзер для введения композиции CO-hCFTR путем распыления при скорости распыления приблизительно 0,3 мл/минута.

[0339] Анализ пациентов показал, что из 12 включенных пациентов 8 были гомозиготными по F508del, 3 были гетерозиготными по F508del, а 1 не имел мутации F508del. Из 8 гомозиготных по F508del 7 получали средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR (5 ивакафтором/люмакафтором, 2 тезакафтором/люмакафтором). Один субъект характеризовался генотипом, который не подходил ни для одного из одобренных в настоящее время модуляторов или разрабатываемых тройных комбинированных терапевтических средств. Среднее (SD)

исходное значение FEV1 составляло 66,3 (14,1)% от прогнозируемого. Продолжительность распыления находилась в диапазоне от 45 минут до 2 часов 25 минут в зависимости от дозы и сразу же хорошо переносилось. Получавшие дозу 8, 16 и 24 мг группы завершали получение дозы. Все повышения доз были одобрены Комитетом по рассмотрению безопасности и выполнялись в соответствии с планом. Оценивания исследования предусматривали сбор данных по нежелательным явлениям (АЕ), рентгенограммам грудной клетки, спирометрии и клиническим лабораторным исследованиям, о которых будет сообщено после демаскирования.

[0340] Таким образом, двенадцать субъектов получали однократную дозу инкапсулированной в липид mRNA или плацебо в первом исследовании на людях распыляемого терапевтического средства на основе mRNA при CF. Подробные результаты не слепого исследования в отношении безопасности, а также данные о FEV1 ожидаются в ближайшее время. Параллельно продолжают введение дозы в получающей многократные дозы группе (5 еженедельных распылений).

ЭКВИВАЛЕНТЫ

Специалистам в данной области известно или они смогут установить, используя не более чем рутинный эксперимент, многочисленные эквиваленты конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения, описанного в данном документе. Объем настоящего изобретения не предназначен для ограничения приведенным выше описанием, а определяется следующей формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

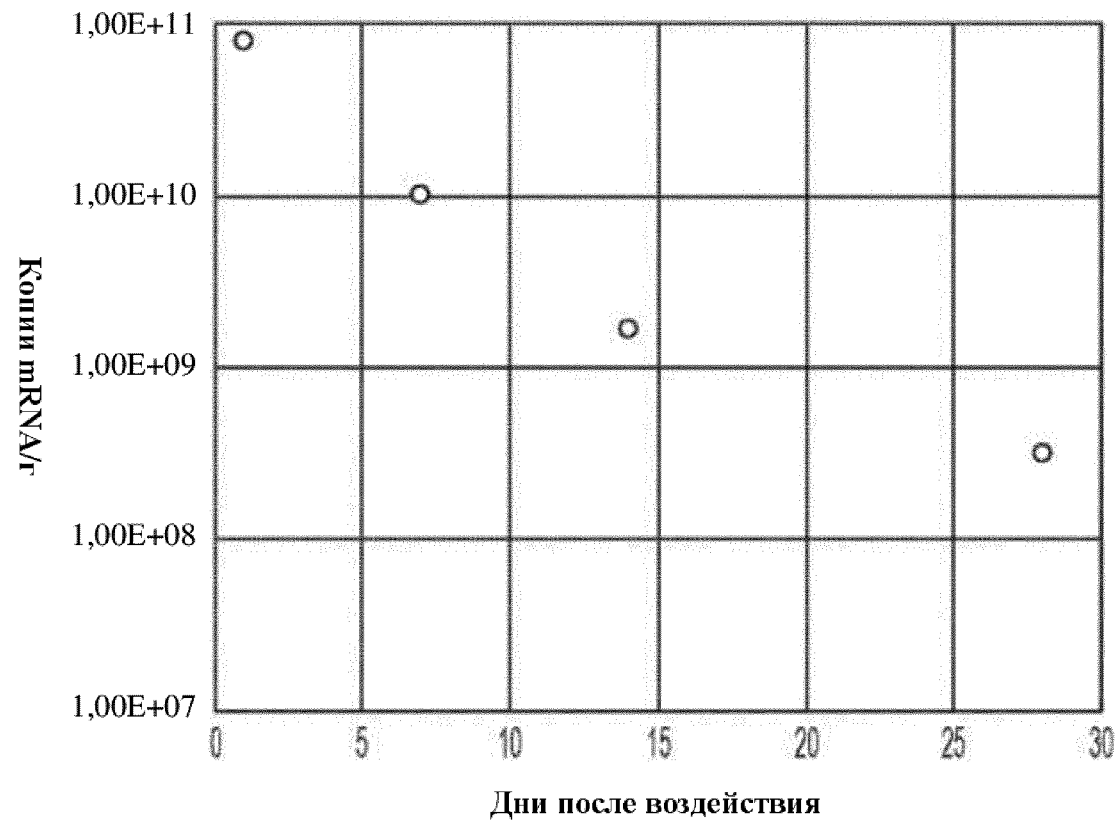
1. Способ лечения кистозного фиброза (CF) у субъекта-человека, включающий введение композиции, содержащей mRNA, кодирующую белок, представляющий собой трансмембранный регулятор проводимости, связанный с кистозным фиброзом (CFTR), при концентрации, составляющей 0,5 мг/мл или больше, субъекту-человеку, где стадия введения включает следующее: (i) композицию превращают в аэрозоль с использованием небулайзера, и (ii) номинальную дозу mRNA вводят субъекту-человеку с помощью небулайзера на протяжении периода времени, составляющего по меньшей мере 30 минут, при скорости распыления, составляющей по меньшей мере 0,2 мл/минута.
2. Способ по п. 1, где концентрация mRNA, кодирующей белок CFTR, находится в диапазоне от 0,5 мг/мл до 0,8 мг/мл, при этом необязательно концентрация составляет 0,6 мг/мл.
3. Способ по п. 1 или п. 2, где по меньшей мере 25%, по меньшей мере 35% или по меньшей мере 40% номинальной дозы доставляют в легкие субъекта-человека.
4. Способ по любому из предыдущих пунктов, где период, на протяжении которого вводят превращенную в аэрозоль композицию, превышает 35 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа или 3 часа.
5. Способ по п. 4, где период, на протяжении которого вводят превращенную в аэрозоль композицию, составляет от 35 минут до 4,5 часа, *например*, от 1,5 часа до 2 часов или от 2,5 часа до 4 часов.
6. Способ по любому из предыдущих пунктов, где номинальная доза превышает 5 мг.
7. Способ по п. 6, где номинальная доза составляет от 4 мг до 40 мг, при этом необязательно номинальная доза составляет от 6 мг до 30 мг, *например*, 8 мг, 16 мг или 24 мг.
8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где скорость распыления находится в диапазоне от 0,2 мл/минута до 0,5 мл/минута.
9. Способ по любому из предыдущих пунктов, где объем композиции, которую превращают в аэрозоль в ходе одной процедуры лечения, находится в диапазоне от 13,0 мл до 42,0 мл.

10. Способ по п. 9, где объем композиции, которую превращают в аэрозоль, не превышает 20 мл в ходе одной процедуры лечения.
11. Способ по любому из предыдущих пунктов, где медианный размер капли в превращенной в аэрозоль композиции составляет от 4 до 6 мкм.
12. Способ по любому из предыдущих пунктов, где по меньшей мере часть mRNA, кодирующей белок CFTR, представлена в виде комплекса с наночастицами или инкапсулирована в наночастицы.
13. Способ по п. 12, где наночастицы представляют собой липосомы, и по меньшей мере 80% mRNA, кодирующей белок CFTR, инкапсулировано в липосому.
14. Способ по п. 13, где липосома характеризуется размером, составляющим менее чем приблизительно 100 нм.
15. Способ по п. 14, где липосома характеризуется размером, находящимся в диапазоне от 40 нм до 60 нм.
16. Способ по любому из пп. 11-15, где липосома содержит один или несколько катионных липидов, один или несколько липидов, отличных от катионных, и один или несколько PEG-модифицированных липидов.
17. Способ по п. 16, где липосома содержит не более трех отдельных липидных компонентов.
18. Способ по п. 17, где один отдельный липидный компонент представляет собой катионный липид на основе стерина.
19. Способ по п. 17 или п. 18, где не более трех отдельных липидных компонентов представляют собой катионный липид, липид, отличный от катионного, и PEG-модифицированный липид.
20. Способ по п. 19, где катионный липид представляет собой сложный эфир холестерина, содержащий имидазол (ICE), липид, отличный от катионного, представляет собой 1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE), а PEG-модифицированный липид представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицерол, метоксиполиэтиленгликоль (DMG-PEG-2K).
21. Способ по п. 20, где ICE и DOPE представлены в молярном соотношении >1:1.

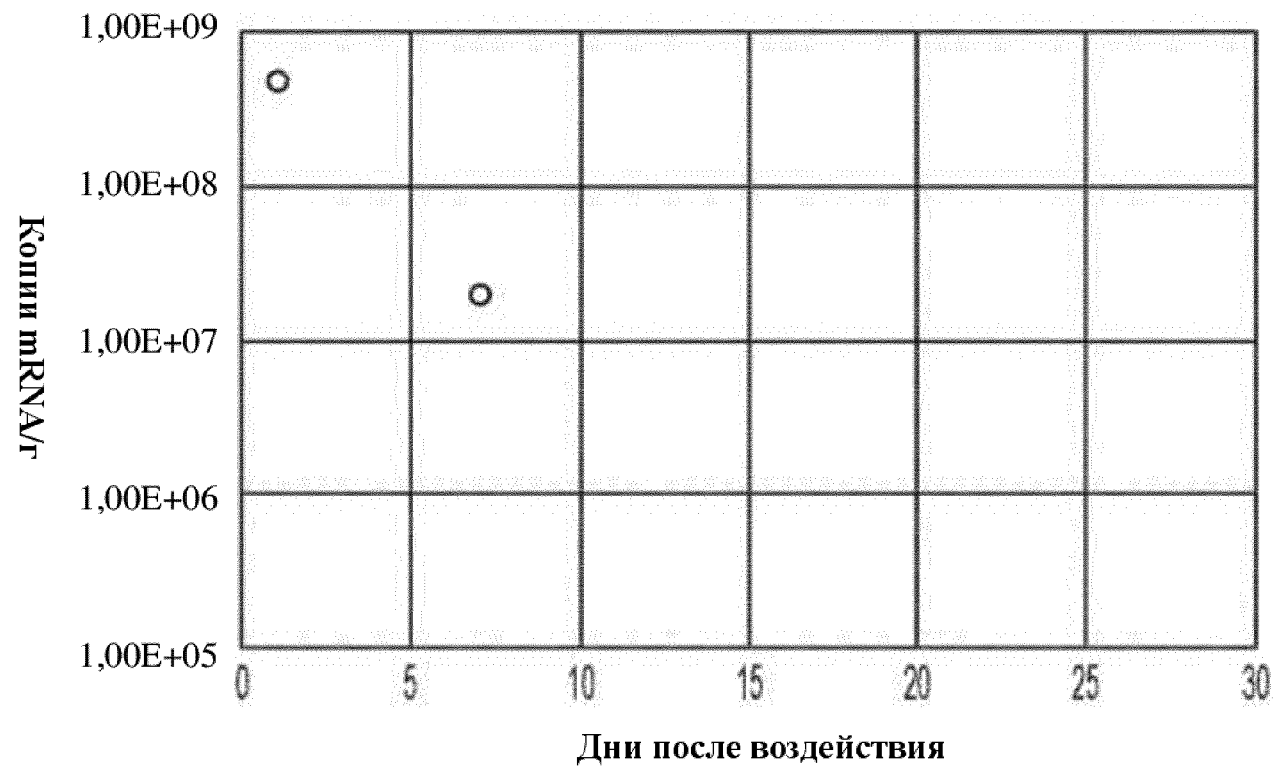
22. Способ по п. 20, где ICE и DMG-PEG-2K представлены в молярном соотношении >10:1.
23. Способ по п. 20, где DOPE и DMG-PEG-2K представлены в молярном соотношении >5:1.
24. Способ по любому из предыдущих пунктов, где mRNA имеет поли-А-хвост со средней длиной, составляющей по меньшей мере 100 оснований.
25. Способ по любому из предыдущих пунктов, где mRNA имеет поли-А-хвост со средней длиной, составляющей по меньшей мере 200 оснований.
26. Способ по п. 24 или п. 25, где длина поли-А-хвоста составляет от 400 до 700 оснований.
27. Способ по любому из предыдущих пунктов, где mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 95% или на по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO: 1.
28. Способ по п. 27, где mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая идентична SEQ ID NO: 1.
29. Способ по любому из предыдущих пунктов, где mRNA, кодирующая белок CFTR, дополнительно содержит последовательность 5'-нетранслируемой области (UTR) под SEQ ID NO: 3.
30. Способ по любому из предыдущих пунктов, где mRNA, кодирующая белок CFTR, дополнительно содержит последовательность 3'-нетранслируемой области (UTR) под SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 5.
31. Способ по любому из предыдущих пунктов, где mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, или на по меньшей мере 91%, или на по меньшей мере 92%, или на по меньшей мере 93%, или на по меньшей мере 94%, или на по меньшей мере 95%, или на по меньшей мере 96%, или на по меньшей мере 97%, или на по меньшей мере 98%, или на по меньшей мере 99%, или на 100% идентична любой последовательности под SEQ ID NO: 6 - SEQ ID NO: 27.
32. Способ по п. 31, где mRNA, кодирующая белок CFTR, содержит полинуклеотидную последовательность, которая идентична SEQ ID NO: 6.

33. Способ по любому из предыдущих пунктов, где композицию предоставляют в лиофилизированной форме и восстанавливают в водном растворе перед распылением.
34. Способ по любому из предыдущих пунктов, где композиция содержит трегалозу.
35. Способ по п. 34, где концентрация трегалозы составляет 10% (вес/об.).
36. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъекту-человеку вводят композицию по меньшей мере один раз в неделю на протяжении периода, составляющего по меньшей мере шесть месяцев.
37. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъект-человек получает средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR.
38. Способ по п. 37, где средство сопутствующей терапии на основе модулятора CFTR выбрано из ивакафтора, ивакафтора/лумакафтора или тезакафтора/лумакафтора.
39. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъект-человек имеет мутацию F508del.
40. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъекта-человека отбирают для лечения на основании присутствия мутации F508del.
41. Способ по п. 39, где субъект-человек имеет гетерозиготную или гомозиготную мутацию F508del.
42. Способ по любому из пп. 1-38, где субъект не имеет мутацию F508del.
43. Способ по п. 42, где субъекта отбирают для лечения на основании отсутствия мутации F508del.
44. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта-человека объем форсированного выдоха за одну секунду (FEV1) составляет от приблизительно 50% до 90% прогнозируемой нормы.
45. Способ по п. 42, где у субъекта-человека FEV1 составляет от приблизительно 60% до 70% предсказанной прогнозируемой нормы.

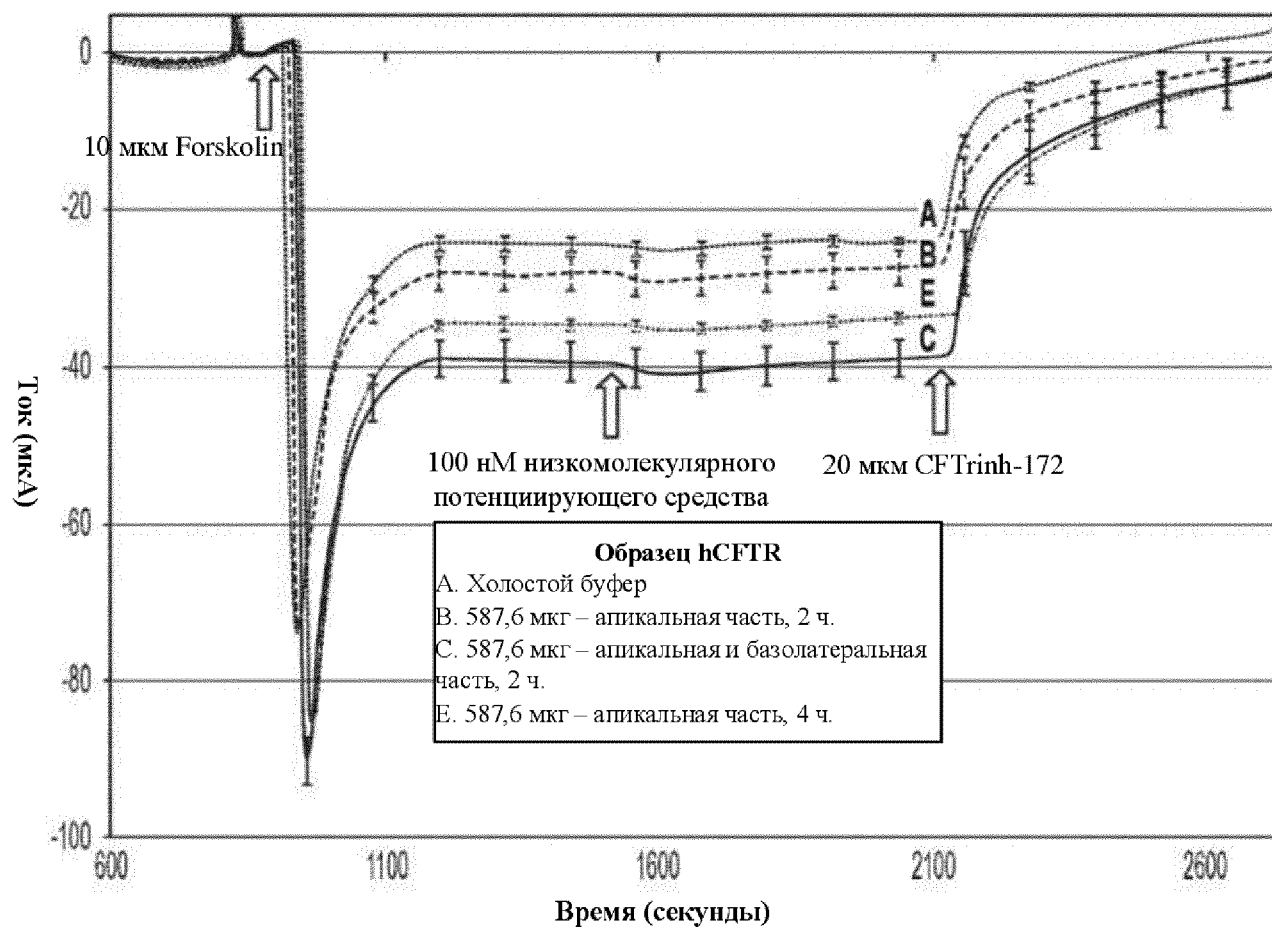
ФИГ. 1



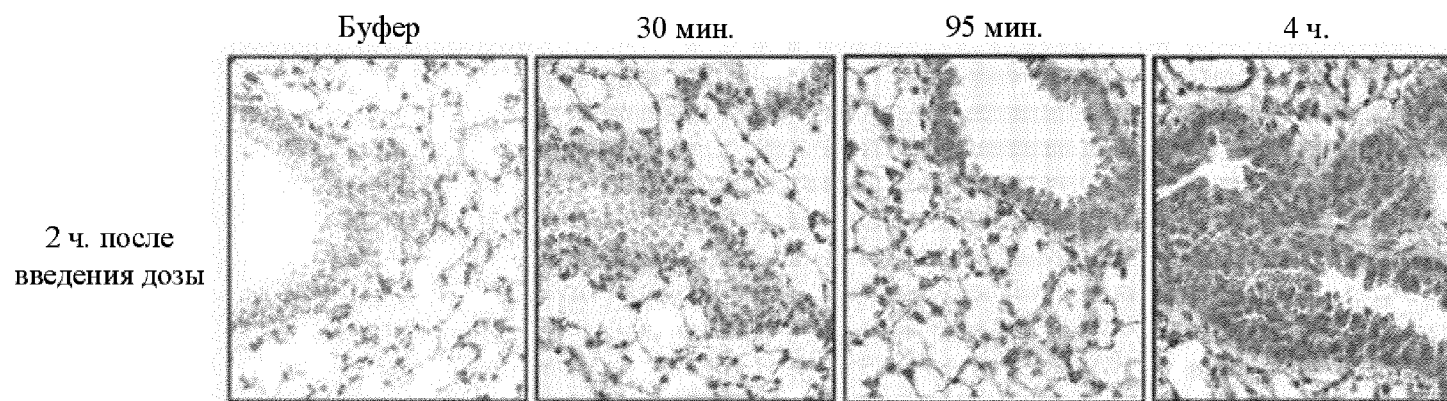
ФИГ. 2



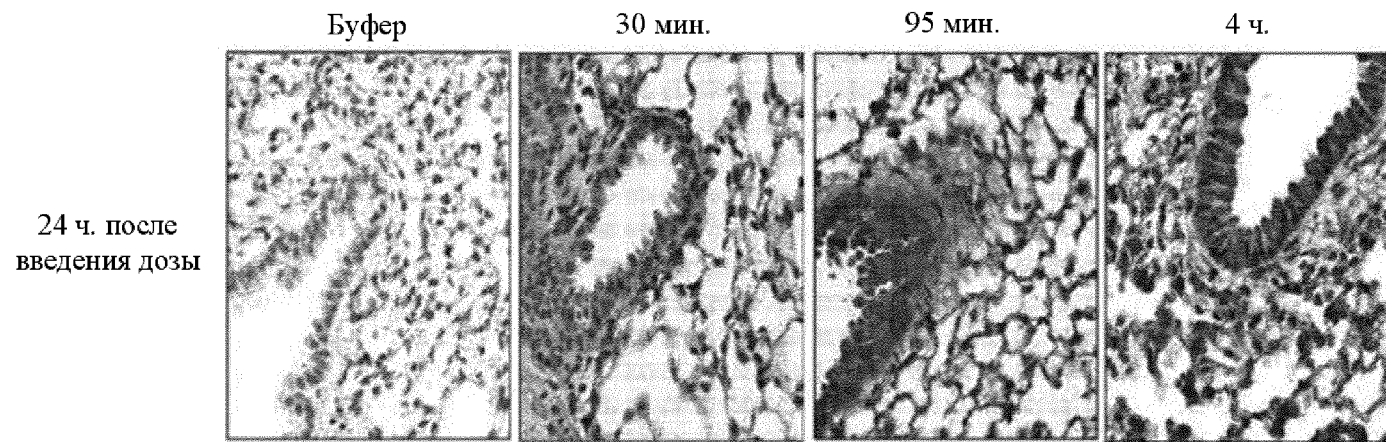
ФИГ. 3



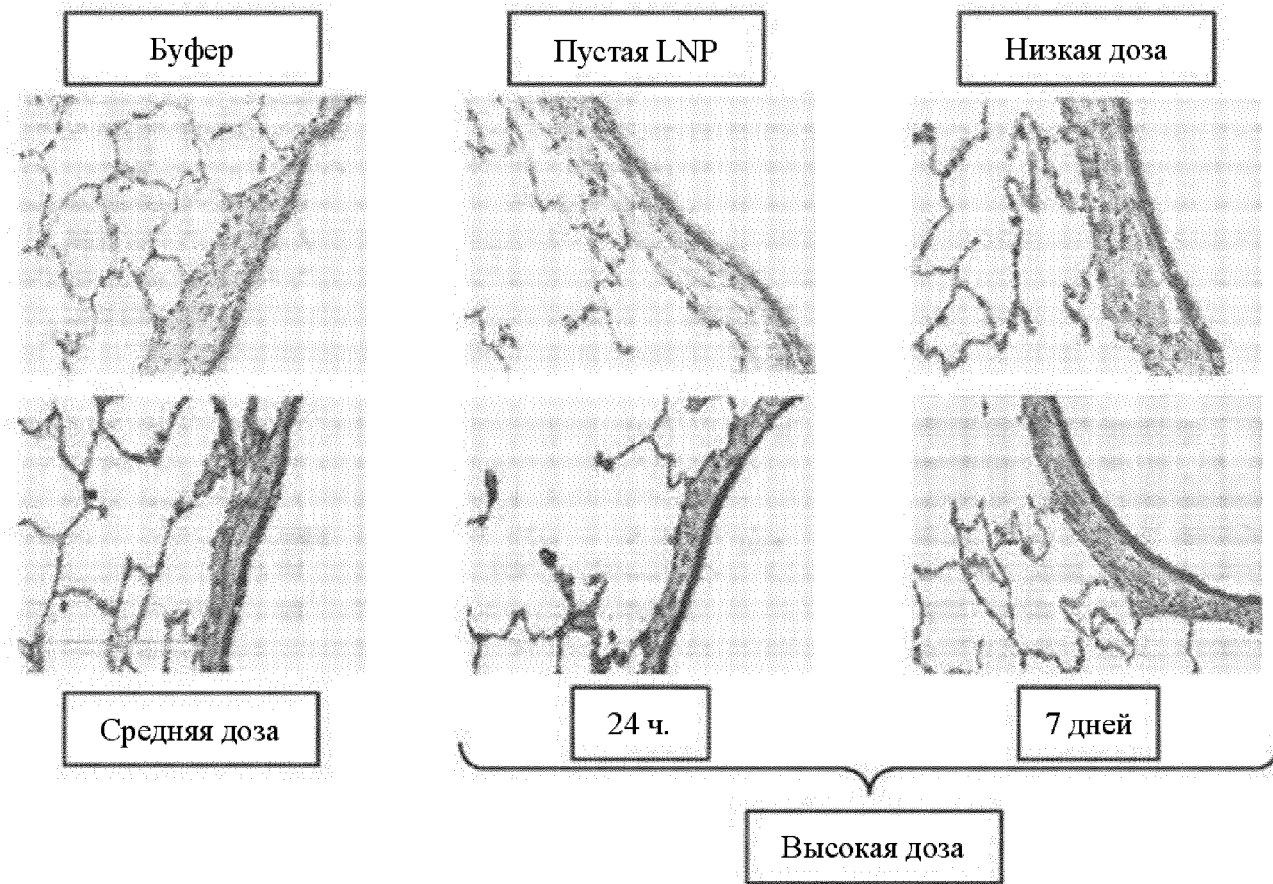
ФИГ. 4



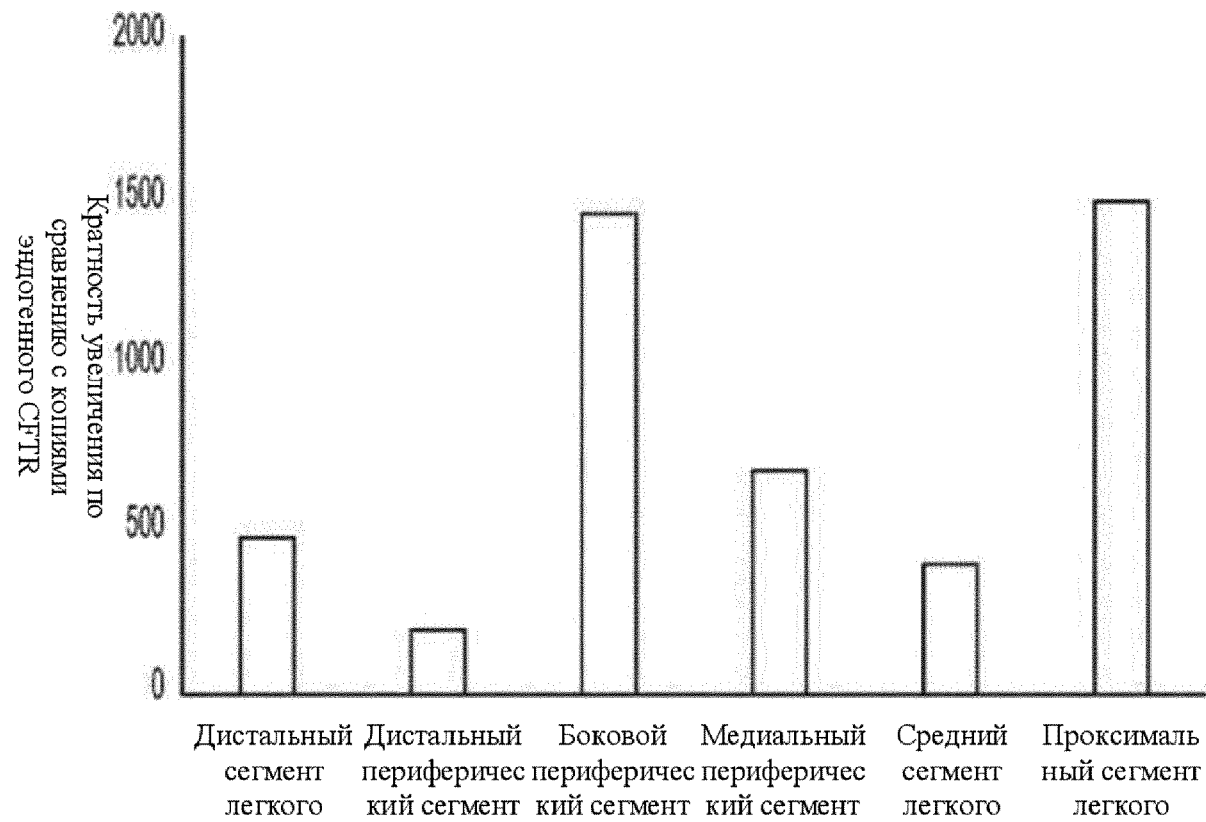
ФИГ. 5



ФИГ. 6

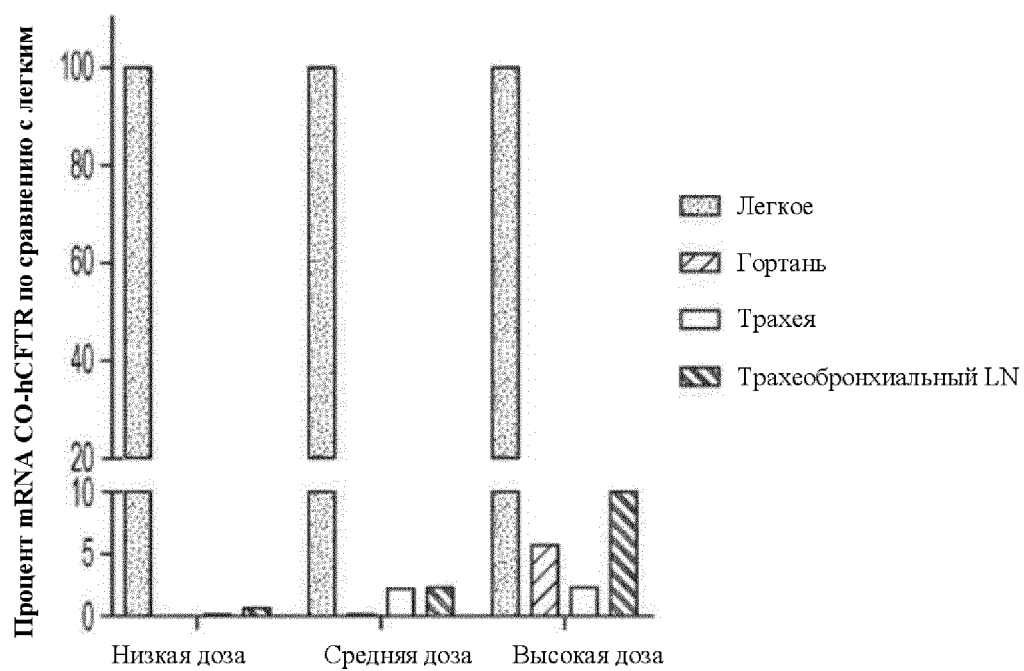


ФИГ. 7



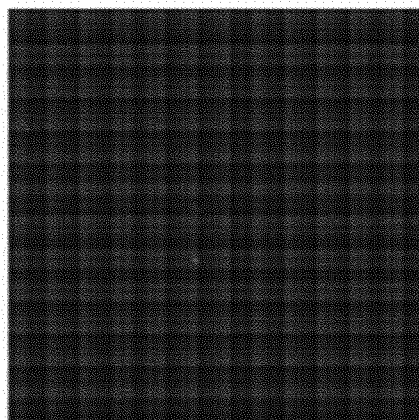
ФИГ. 8

9/22

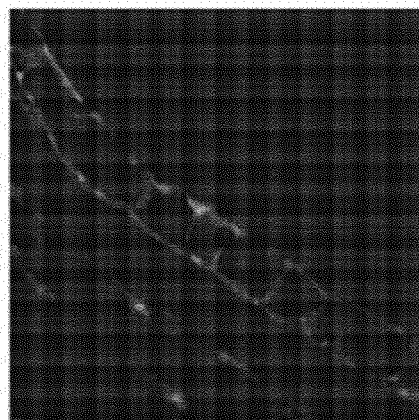


ФИГ. 9

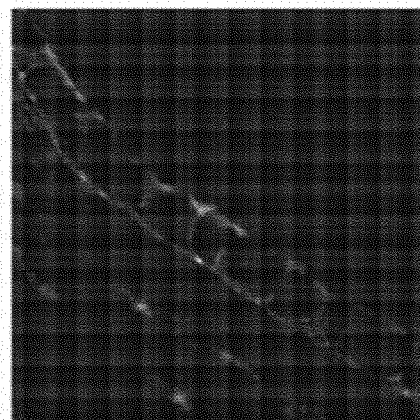
Бронхиальные эпителиальные клетки
верхних дыхательных путей
Группа 1, 10% трегалоза



CFTR



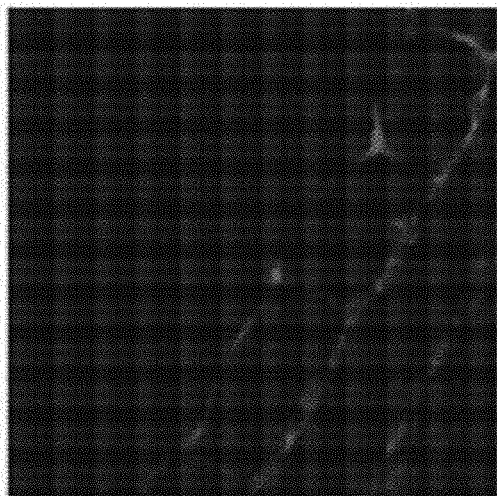
ZO1



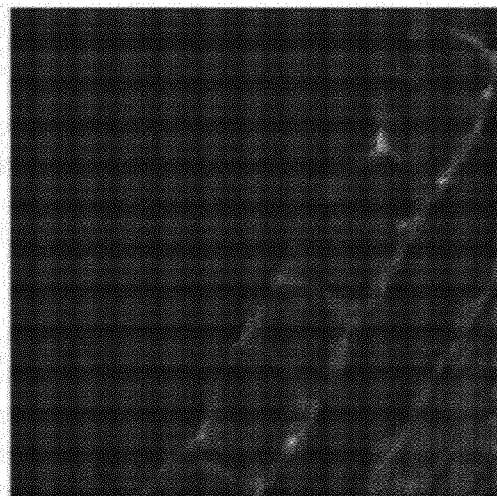
Совмещенное

ФИГ. 10А

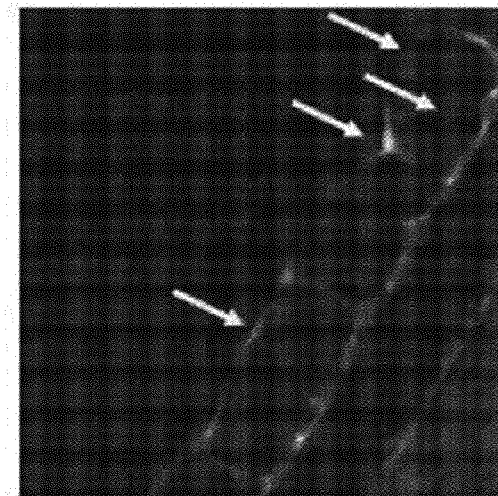
Бронхиальные эпителиальные
клетки верхних дыхательных путей
Группа 3, mRNA CFTR 500 мкг/кг
60-минутное воздействие



CFTR



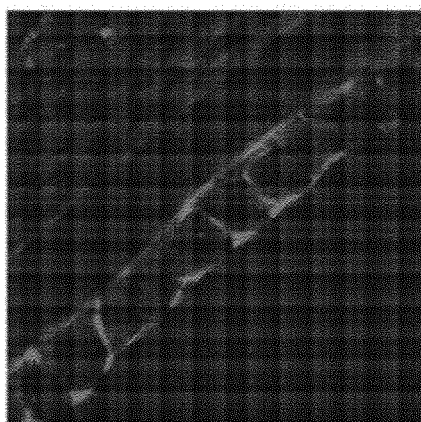
ZO1



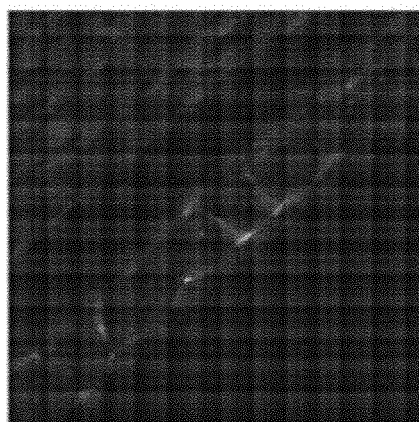
Совмещенное

ФИГ. 10В

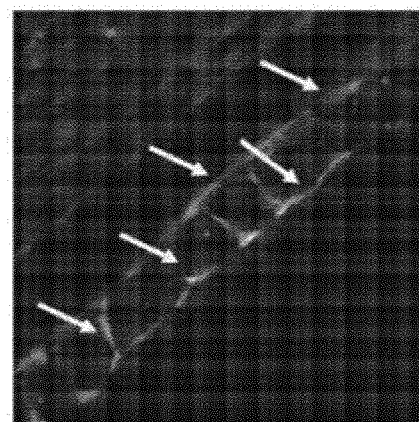
Бронхиальные эпителиальные клетки
верхних дыхательных путей
Группа 5, mRNA CFTR 1000 мкг/кг
120-минутное воздействие



CFTR



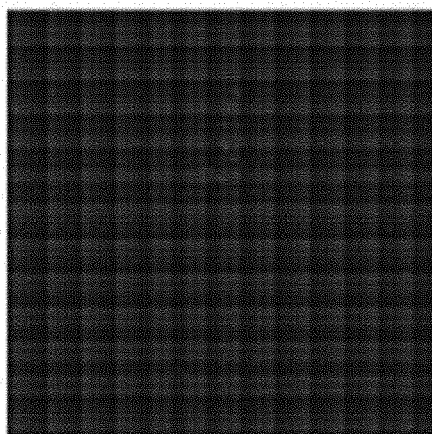
ZO1



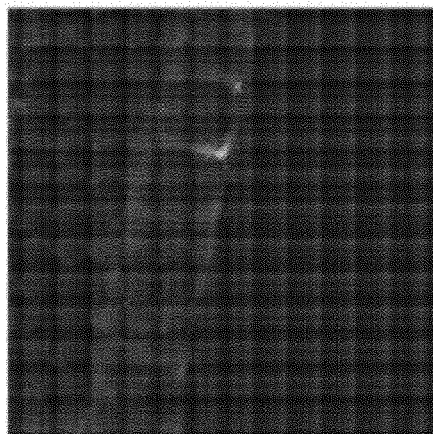
Совмещенное

ФИГ. 10С

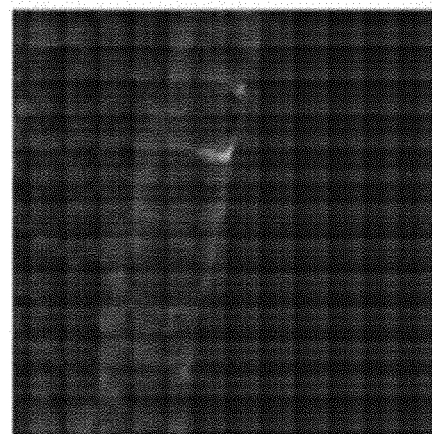
Бронхиальные эпителиальные
клетки нижних дыхательных путей
Группа 1, 10% трегалоза



CFTR



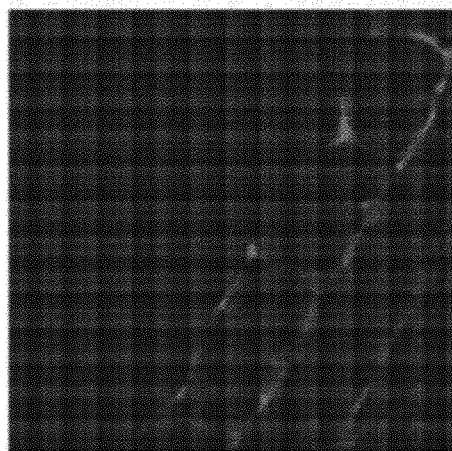
ZO1



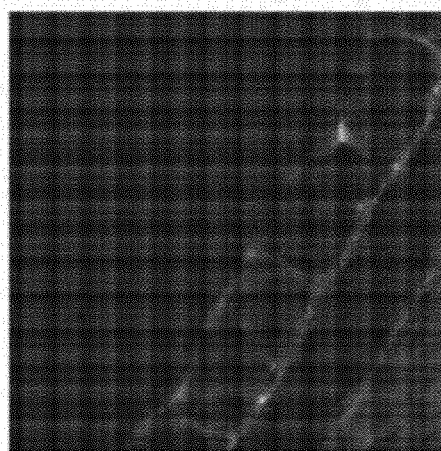
Совмещенное

ФИГ. 11А

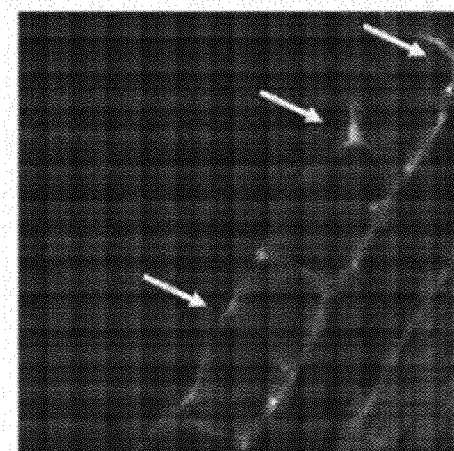
Бронхиальные эпителиальные
клетки нижних дыхательных путей
Группа 3, mRNA CFTR 500 мкг/кг
60-минутное воздействие



CFTR



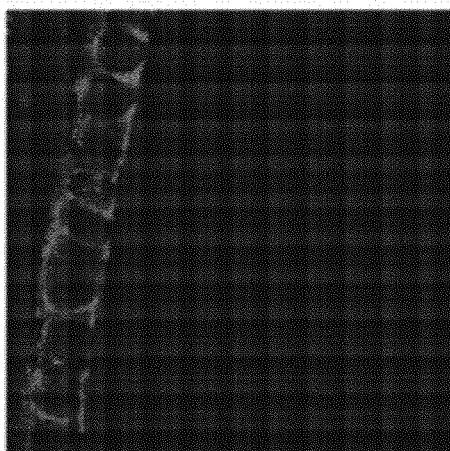
ZO1



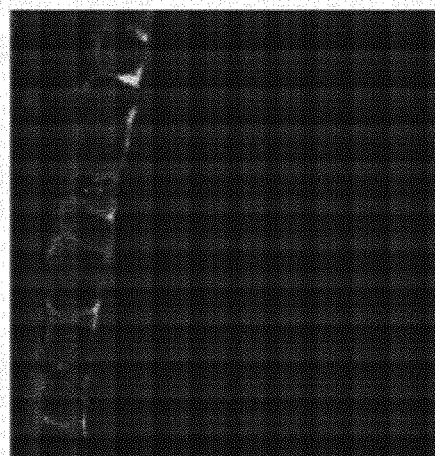
Совмещенное

ФИГ. 11В

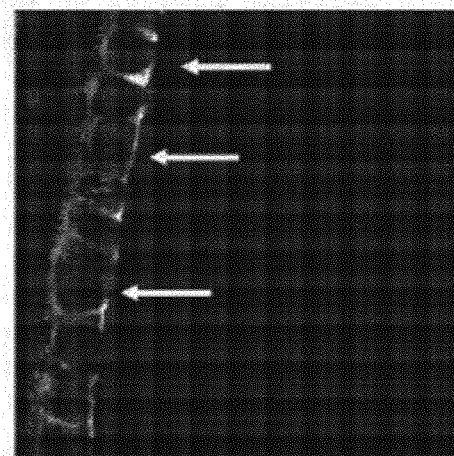
Бронхиальные эпителиальные
клетки нижних дыхательных путей
Группа 5, mRNA CFTR 500 мкг/кг
120-минутное воздействие



CFTR

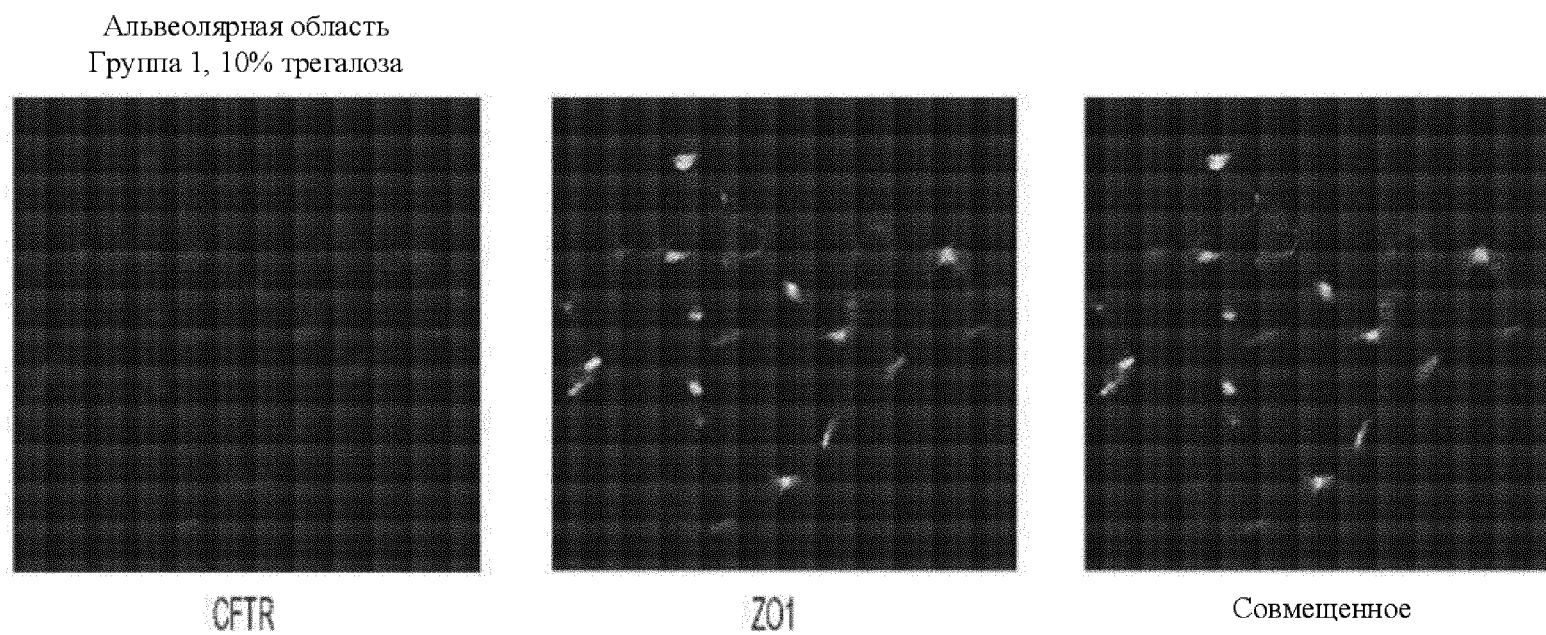


ZO1



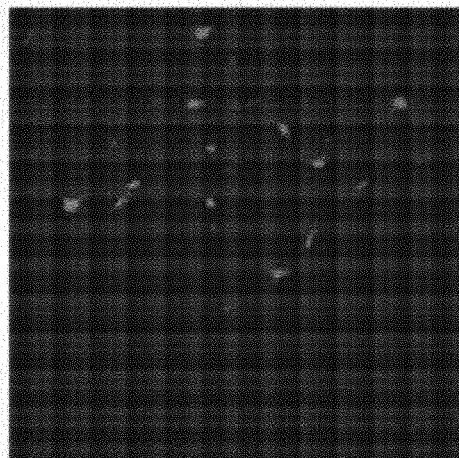
Совмещенное

ФИГ. 11С

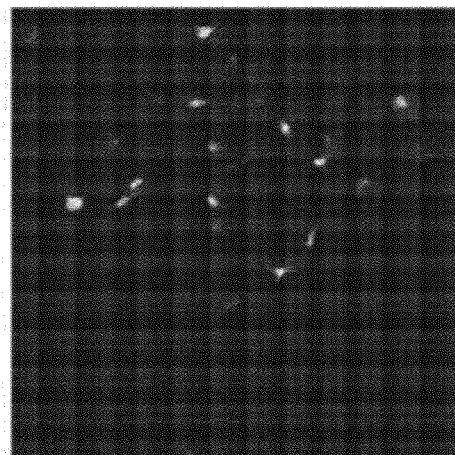


ФИГ. 12А

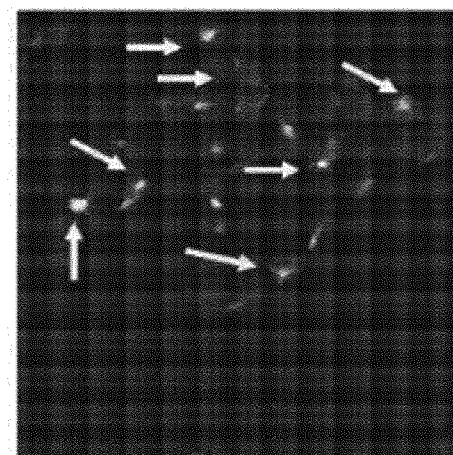
Альвеолярная область
Группа 3, mRNA CFTR 500 мкг/кг
60-минутное воздействие



CFTR



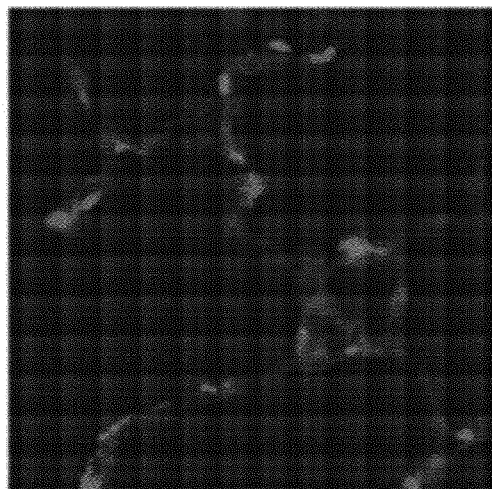
ZO1



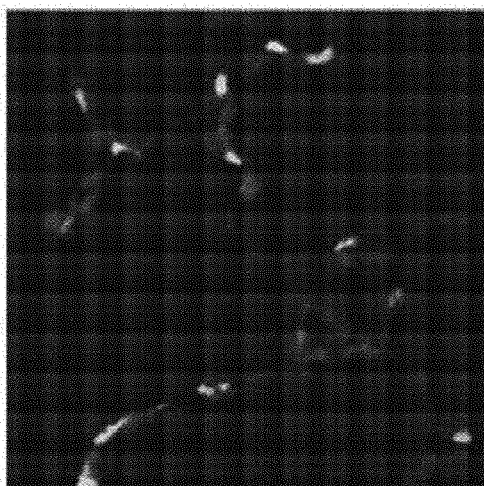
Совмещенное

ФИГ. 12В

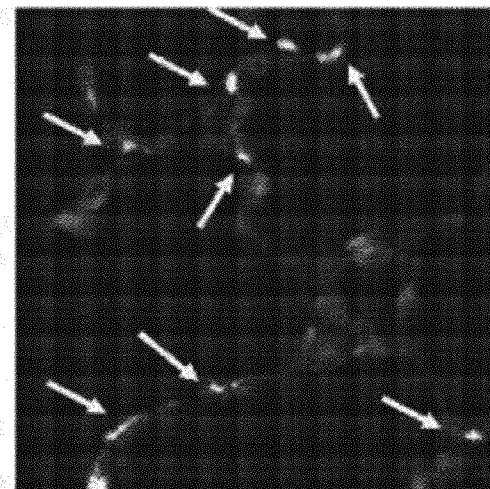
Альвеолярная область
Группа 5, mRNA CFTR 1000 мкг/кг
120-минутное воздействие



CFTR



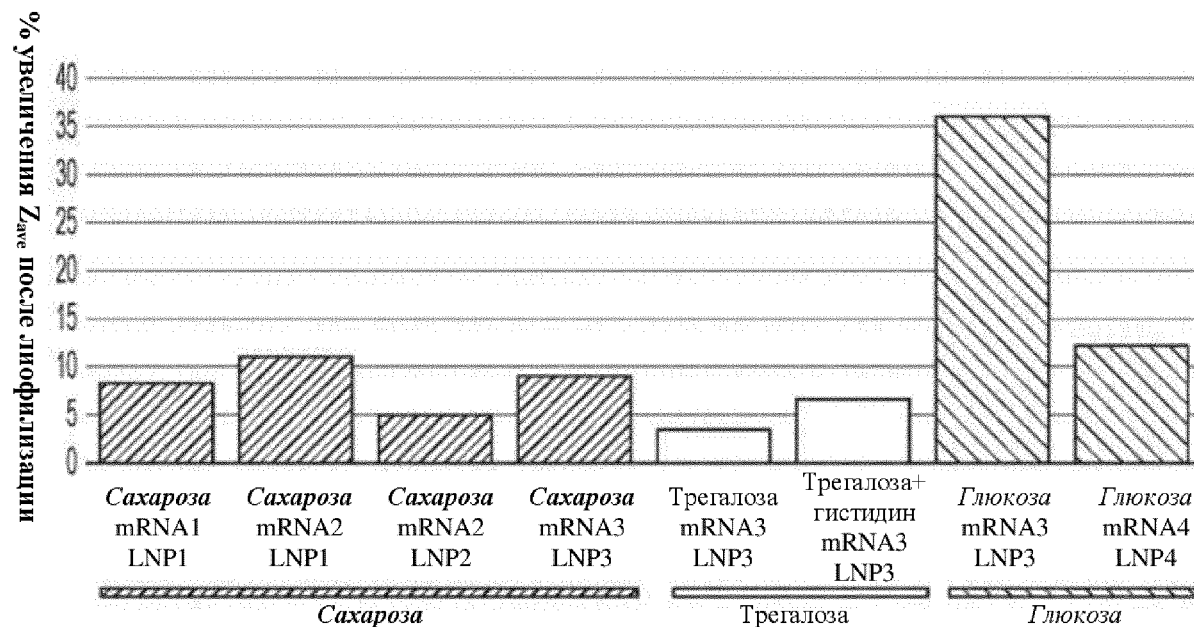
ZO1



Совмещенное

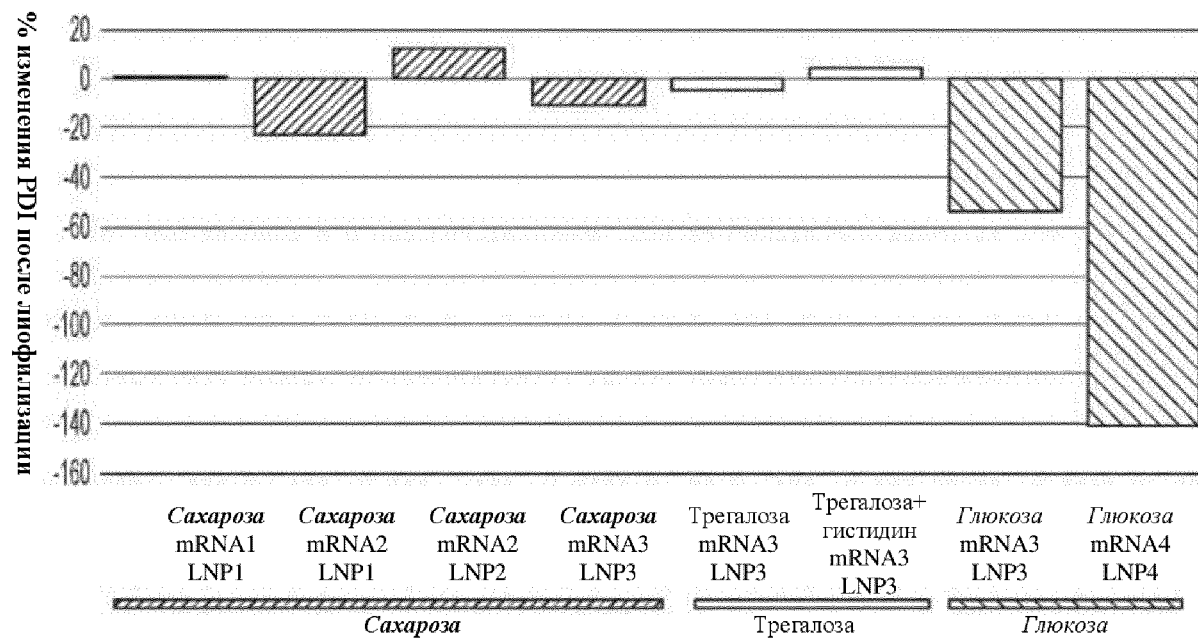
ФИГ. 12С

19/22



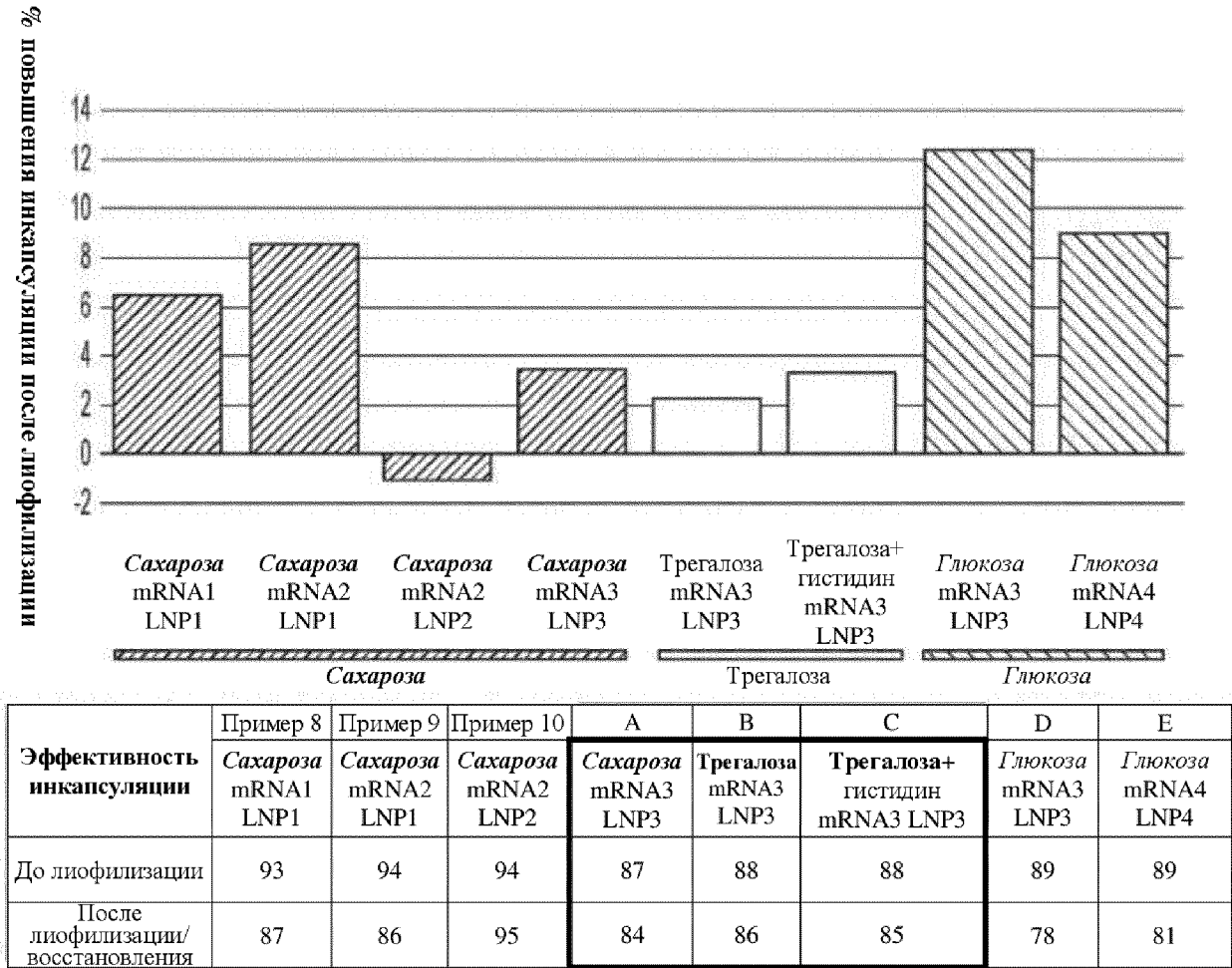
Z _{ave} (нм)	Пример 8	Пример 9	Пример 10	A	B	C	D	E
	Сахароза mRNA1 LNP1	Сахароза mRNA2 LNP1	Сахароза mRNA2 LNP2	Сахароза mRNA3 LNP3	Трегалоза mRNA3 LNP3	Трегалоза+ гистидин mRNA3 LNP3	Глюкоза mRNA3 LNP3	Глюкоза mRNA4 LNP4
До лиофилизации	89,11	85,9	85,9	56	60	60	72	90
После лиофилизации/восстановления	96,41	95,4	90,04	61	62	64	98	101

ФИГ. 13



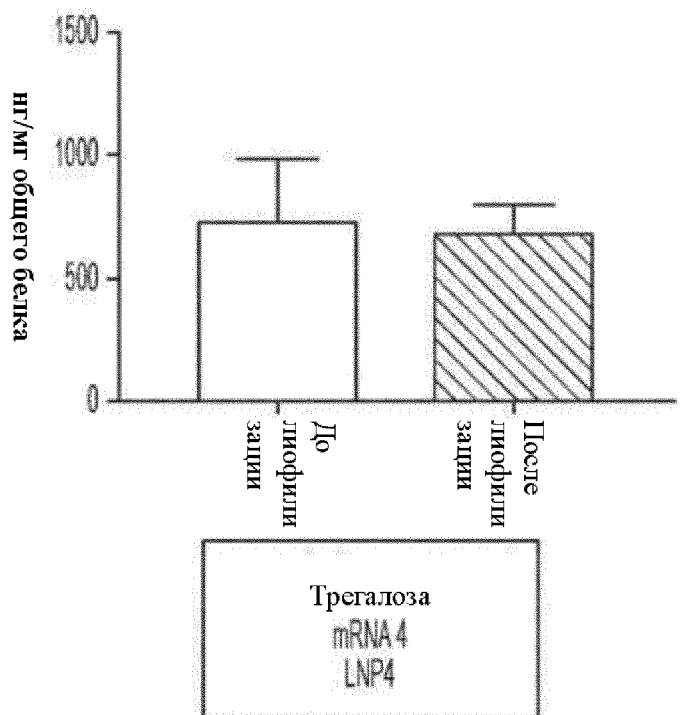
PDI	Пример 8	Пример 9	Пример 10	A	B	C	D	E
	Сахароза mRNA1 LNP1	Сахароза mRNA2 LNP1	Сахароза mRNA2 LNP2	Сахароза mRNA3 LNP3	Трегалоза mRNA3 LNP3	Трегалоза+ гистидин mRNA3 LNP3	Глюкоза mRNA3 LNP3	Глюкоза mRNA4 LNP4
До лиофилизации	0,205	0,188	0,188	0,182	0,21	0,21	0,22	0,22
После лиофилизации/восстановления	0,204	0,231	0,165	0,2	0,22	0,2	0,34	0,53

ФИГ. 14

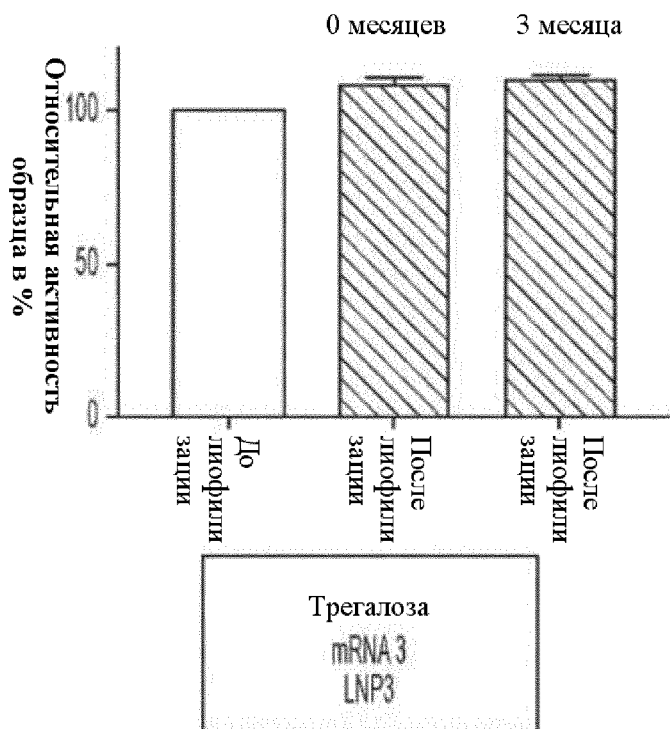


ФИГ. 15

22/22



ФИГ. 16А



ФИГ. 16В