



(51) МПК
C12N 15/87 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013108694/10, 25.07.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.07.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
30.07.2010 US 61/369,549;
30.07.2010 EP 10007992.0

(43) Дата публикации заявки: 10.09.2014 Бюл. № 25

(45) Опубликовано: 20.02.2016 Бюл. № 5

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2009030481 A1, 12.03.2009. WO 2009030254 A1, 12.03.2009. WO 2001004135 A2, 18.01.2001. US 0006689757 B1, 10.02.2004. WO 1999053961 A1, 28.10.1999. WO 2009053700 A1, 30.04.2009. US 20100061932 A1, 11.03.2010. RU 2322257 C2, 20.04.2008.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 28.02.2013

(86) Заявка РСТ:
EP 2011/003719 (25.07.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/013326 (02.02.2012)Адрес для переписки:
105082, Москва, Спартаковский пер., д. 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, "ЕВРОМАРКПАТ"

(72) Автор(ы):

БАУМХОФ Патрик (DE),
ФОСС Зёнке (DE),
КРАМПС Томас (DE),
КАЛЛЕН Карл-Йозеф (DE)(73) Патентообладатель(и):
КУРЕВАК ГМБХ (DE)

RU 2 575 603 C2

RU

2 575 603

C2

(54) ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ПОПЕРЕЧНО СШИТЫХ ДИСУЛЬФИДНЫМИ СВЯЗЯМИ КАТИОННЫХ КОМПОНЕНТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ТРАНСФЕКЦИИ И ИММУНОСТИМУЛЯЦИИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, а именно к комплексу, для применения в способе адьюванной терапии у нуждающегося в таком лечении пациента, а также к вакцине, которая включает данный комплекс. Комплекс содержит полимерный носитель, образованный из поперечно сшитых дисульфидными связями катионных компонентов, где поперечно сшитыми дисульфидными связями катионными

компонентами являются катионные пептиды, причем указанные дисульфидные связи образованы остатками цистеина, входящими в состав катионных пептидов, которые локализованы вблизи терминальных концов катионных пептидов, и карго молекулу, представляющую собой по меньшей мере одну одноцепочечную молекулу РНК. Предложенное изобретение позволяет осуществлять

R U 2 5 7 5 6 0 3 C 2

R U 2 5 7 5 6 0 3 C 2

эффективную трансфекцию клеток нуклеиновыми кислотами как *in vivo*, так и *in vitro*, и предназначено для индукции врожденного и/или

адаптивного иммунного ответа. 2 н. и 8 з.п. ф-лы, 15 ил., 1 табл., 1 пр.

RUSSIAN FEDERATION



(19) RU⁽¹¹⁾ 2 575 603⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.
C12N 15/87 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2013108694/10, 25.07.2011

(24) Effective date for property rights:
25.07.2011

Priority:

(30) Convention priority:
30.07.2010 US 61/369,549;
30.07.2010 EP 10007992.0

(43) Application published: 10.09.2014 Bull. № 25

(45) Date of publication: 20.02.2016 Bull. № 5

(85) Commencement of national phase: 28.02.2013

(86) PCT application:
EP 2011/003719 (25.07.2011)

(87) PCT publication:
WO 2012/013326 (02.02.2012)

Mail address:

105082, Moskva, Spartakovskij per., d. 2, str. 1,
sektsija 1, ehtazh 3, "EVROMARKPAT"

(72) Inventor(s):
BAUMKhOF Patrik (DE),
FOSS Zenke (DE),
KRAMPS Tomas (DE),
KALLEN Karl-Jozef (DE)

(73) Proprietor(s):
KUREVAK GMBKh (DE)

R U
2 5 7 5 6 0 3
C 2

(54) OBTAINING OF COMPLEXES OF NUCLEIC ACIDS AND CATIONIC COMPONENTS CROSS SEWED BY DISULFIDE BONDS INTENDED FOR TRANSFECTION AND IMMUNOSTIMULATION

(57) Abstract:

FIELD: biotechnologies.

SUBSTANCE: complex contains the polymeric carrier formed by the cationic components which are cross sewed by disulfide bonds where the cationic components cross sewed by disulfide bonds are cationic peptides, and the named disulfide bonds are formed by the cysteine residues which are comprised by cationic peptides localized near the terminal ends of cationic

peptides, and the cargo molecule which at least one one-chained molecule of RNA.

EFFECT: invention allows to perform efficient transfection of cells by nucleic acids both in vivo, and in vitro, and is intended for induction of congenital or adaptive immune response.

10 cl, 15 dwg, 1 tbl, 1 ex

Настоящее изобретение относится к комплексу, включающему полимерный носитель и карго-молекулу (переносимую молекулу), в котором в качестве карго-молекулы используют по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту (молекула) и в качестве полимерного носителя (предпочтительно нетоксичного и неиммуногенного) поперечно 5 спитые дисульфидными связями катионные компоненты. Предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, позволяет осуществлять эффективную трансфекцию клетки нуклеиновыми кислотами *in vivo* и *in vitro* и/или индукцию (врожденного (неспецифического) и/или адаптивного) иммунного ответа, предпочтительно в зависимости от нуклеиновой кислоты, подлежащей транспортировке 10 в качестве карго-молекулы. В настоящем изобретении предложены также фармацевтические композиции, прежде всего вакцины, которые содержат предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу и необязательно антиген, а также применение предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, и необязательно антиген, для 15 трансфекции клетки, ткани или организма для целей (генной) терапии, указанной в настоящем описании, и/или в качестве иммуностимулирующего средства или адьюванта, например, для вызывания иммунного ответа при лечении или профилактике указанных заболеваний. И, наконец, изобретение относится к наборам, которые содержат предлагаемый в изобретении комплекс, включающий полимерный носитель и карго- 20 молекулу, предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию и/или предлагаемую в изобретении вакцину или любые их компоненты в одной или нескольких частях набора.

В настоящее время при многих болезнях требуется введение адьювантов для 25 вызывания врожденного иммунного ответа и необязательно для поддержания адаптивного иммунного ответа, прежде всего при вакцинациях. При некоторых (но не обязательно при всех) этих болезнях дополнительно или в качестве альтернативы требуется осуществлять введение лекарственных средств, основой которых являются пептиды, белки и нуклеиновые кислоты, например, требуется осуществлять трансфекцию клеток или тканей нуклеиновыми кислотами. Эти требования, как правило, представляют 30 собой различные аспекты лечения указанных болезней, и для их выполнения, как правило, трудно использовать только один подход. По этой причине в настоящее время при существующем уровне техники, как правило, для решения указанных проблем применяют различные подходы.

В указанном выше контексте вакцинацию, как правило, рассматривают в качестве 35 одного из наиболее эффективных и экономичных путей предупреждения или лечения болезней. Однако при создании вакцин возникает несколько трудно разрешимых проблем: вакцины часто неэффективны для очень молодых или очень старых индивидуумов; некоторые вакцины требуется вводить несколько раз и их защитное действие снижается с течением времени, что требует бесстарных обработок, а для 40 некоторых болезней, таких как ВИЧ, существует срочная необходимость в разработке эффективных вакцин. В целом, считается, что многие из указанных вакцин следует усовершенствовать или улучшать так, чтобы они могли вызывать более сильный или более продолжительный иммунный ответ.

Таким образом, основной актуальной проблемой является создание новых 45 эффективных и безопасных адьювантов для целей вакцинации, которые обеспечивают индукцию и поддержание адаптивного иммунного ответа путем инициации или бустинга параллельного врожденного иммунного ответа.

К адьювантам, как правило, относят соединения, которые могут повышать и/или

модулировать присущую антигену иммуногенность. Для снижения отрицательных побочных действий новые вакцины имеют более оптимальный (точный) состав, что часто приводит к уменьшению иммуногенности по сравнению с известными ранее вакцинами на основе целых клеток или вирусов. Таким образом, адьюванты требуются

5 для придания и новым вакцинам способности вызывать сильные и продолжительные иммунные ответы, при этом дополнительным преимуществом является то, что в этом случае требуется меньшее количество антигена или меньшее число инъекций. В настоящее время очевидно, что адаптивный иммунный ответ главным образом зависит от уровня и специфичности начальных сигналов опасности, воспринимаемых клетками

10 врожденной иммунной системы после заражения или вакцинации (Guy B., Nat Rev Microbiol 5(7), 2007, cc.505-517.). В частности, для нового поколения вакцин-кандидатов, которые во все большей степени состоят из высокоочищенных рекомбинантных белков и которые, хотя они являются малоопасными, обладают слабой иммуногенностью, значительно возрастает потребность в эффективных адьювантах.

15 К сожалению, в настоящее время доступно лишь небольшое количество лицензированных адьювантов. Наиболее известными являются квасцы, которые, как известно, представляют собой безопасный, но при этом очень слабый адьювант. Разработано много других адьювантов, например, предусматривается введение патогенов, CpG-нуклеотидов и т.д. Однако большая часть этих новых или

20 «сконструированных» адьювантов все еще не удовлетворяют указанным выше требованиям, поскольку возникает много новых проблем, которые следует учитывать и решать. Эти проблемы представляют собой, среди прочего, новые и повторно возникающие инфекционные болезни, необходимость повторных введений, угрозу пандемии гриппа и т.д.

25 Кроме того, новые мишени для вакцин, как правило, более сложно обнаруживать и - вследствие их специфически приспособленных иммунных ответов - требуются более сильные адьюванты для обеспечения успеха в борьбе с ними. Кроме того, все еще существует значительное количество важных патогенов, для которых еще не созданы эффективные вакцины. Они представляют собой очень важные будущие мишени. Для

30 того чтобы иметь возможность создавать вакцины против указанных мишеней необходимы более сильные адьюванты. Такие новые адьюванты должны обладать такими преимуществами, как способность вызывать более гетерологичные гуморальные иммунные ответы, перекрывающие широкое разнообразие патогенов, индукция сильных функциональных гуморальных иммунных ответов, гарантирующих уничтожение или

35 нейтрализацию патогенов, и индукция более эффективных Т-клеточных ответов для непосредственного или опосредованного уничтожения патогенов, прежде всего индукция цитотоксических Т-клеток, которые являются частью иммунного Th1-ответа. Кроме того, адьюванты могут быть необходимы для достижения более прагматичных воздействий, таких как снижение дозы антигена и возможность избежать конкуренции

40 антигенов при использовании комбинированных вакцин. Кроме того, в связи со старением популяции, у которой возрастает чувствительность к инфекционным болезням, могут требоваться новые адьюванты для преодоления естественного связанного с возрастом ослабления иммунных ответов (O'Hagan D. T. и E. De Gregorio, Drug Discov Today 14(11-12), 2009, cc.541-551).

45 В обзоре O'Hagan (2009; выше) обобщены некоторые причины настоятельной необходимости в новых эффективных адьювантах, например, требование к снижению дозы антигена в вакцинах, необходимость в расширении диапазона иммунного ответа и гетерологичной активности, возможность создавать комплексные комбинации вакцин

и для преодоления антигенной конкуренции, для преодоления ограниченного иммунного ответа в некоторых группах популяции, таких как престарелые люди, маленькие дети и младенцы, пациенты с хроническими заболеваниями и ослабленным иммунитетом, для повышения ответа эффекторных Т-клеток и титров антител, для более быстрой 5 индукции защитных ответов, а также для увеличения продолжительности ответа путем усиления ответов В- и Т-клеток памяти.

Обобщая вышесказанное, очевидно, что требуются новые эффективные и безопасные иммуностимулирующие агенты или адьюванты, которые предпочтительно могут эффективно индуцировать врожденный иммунный ответ, прежде всего индуцировать 10 антивирусный цитокин IFN-альфа; которые также предпочтительно могут эффективно поддерживать адаптивный иммунный ответ; являются безопасными, т.е. не ассоциированы с какими-либо долговременными воздействиями; которые хорошо переносятся, которые можно получать путем простого синтеза; для хранения которых не требуются дорогостоящие условия (в частности, которые легко поддаются 15 лиофилизации); для создания которых требуются простые и не дорогостоящие компоненты; которые являются биоразложимыми; которые совместимы со многими различными видами антигенов вакцин; которые могут обеспечивать совместное введение антигена и иммунного потенциатора, и т.д.

Как уже указано выше, действие адьювантов или иммуностимулирующих агентов, 20 как правило, основано на их способности индуцировать врожденный иммунный ответ. Врожденная иммунная система образует доминантную систему защиты хозяина у большинства организмов и включает барьеры, такие как гуморальные и химические барьеры, включая, например, воспаление, систему комплемента и клеточные барьеры. Основой врожденной иммунной системы, как правило, является небольшое количество 25 рецепторов, которые называют паттернраспознающими рецепторами. Они распознают консервативные молекулярные структуры (паттерны), отличая тем самым чужеродные организмы типа вирусов, бактерий, грибов и паразитов, от клеток хозяина. Указанные ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны (PAMP) включают вирусные нуклеиновые кислоты, компоненты оболочек бактерий и грибов, флагеллярные белки 30 и т.д. Первое подробно изученное семейство паттернраспознающих рецепторов (PAMP-рецепторы) представляло собой семейство Толл-подобных рецепторов (TLR). TLR представляют собой трансмембранные белки, которые распознают лиганды внеклеточной окружающей среды или полости эндосом. После связывания с лигандом они трансдуцируют сигнал через цитоплазматические белки-адаптеры, что приводит 35 к запуску защитного ответа хозяина и влечет за собой производство антимикробных пептидов, провоспалительных хемокинов и цитокинов, антивирусных цитокинов и т.д. (см., например, Meylan E., J. Tschoopp и др., Nature 442(7098), 2006, cc.39-44). Другие важные компоненты иммунной системы представляют собой, например, эндосомальные TLR, цитоплазматические рецепторы, интерфероны типа I и цитоплазматические 40 рецепторы. Таким образом, в контексте настоящего описания иммуностимулирующие агенты или адьюванты рассматриваются предпочтительно как индукторы врожденного иммунного ответа, которые активируют паттернраспознающие рецепторы (PAMP-рецепторы). При этом возникает каскад сигналов, который может приводить, например, к высвобождению цитокинов (например, IFN-альфа), поддерживая врожденный 45 иммунный ответ. Таким образом, предпочтительной особенностью иммуностимулирующего агента или адьюванта является способность связываться с указанными рецепторами и активировать такие PAMP-рецепторы. В идеальном варианте агент или адьюvant дополнительно поддерживает адаптивный иммунный ответ,

например, сдвигая иммунный ответ таким образом, что активируется предпочтительный класс Th-клеток. В зависимости от заболевания или нарушения, подлежащего лечению, может быть предпочтительным сдвиг в сторону основанного на Th1 иммунного ответа, или в других случаях может оказаться предпочтительным сдвиг в сторону Th2-иммунного ответа.

Из существующего уровня техники известны некоторые перспективные адьюванты-кандидаты, которые удовлетворяют, по меньшей мере некоторым, но не всем из вышеперечисленных требуемых характеристик.

Например, из числа вышеуказанных разработанных новых адьювантов некоторые

нуклеиновые кислоты типа олигонуклеотидов CpG-ДНК или isРНК (иммуностимулирующая РНК), могут оказаться перспективными кандидатами в качестве новых иммуностимулирующих агентов или адьювантов, поскольку они обеспечивают терапевтическую или профилактическую индукцию врожденного иммунного ответа. В целом, такие адьюванты, основой которых являются нуклеиновые кислоты, как правило, должны эффективно достигать места действия, обеспечивая индукцию эффективного иммунного ответа без ненужного снижения адьювантной активности и в некоторых случаях без необходимости увеличения вводимого объема выше уровней, переносимых при системном введении.

Одним из подходов к решению этой задачи может быть трансфекция клеток, которые

являются частью врожденной иммунной системы (например, дендритные клетки, плазматоидные дендритные клетки (рDC)), иммуностимулирующими нуклеиновыми кислотами, которые являются лигандами РАМР-рецепторов (например, Толл-подобных рецепторов (TLR)), и это может приводить к иммуностимуляции нуклеиновой кислотой-лигандом. Другие подходы могут представлять собой непосредственную трансфекцию адьювантами на основе нуклеиновых кислот. Однако недостатком (снижающим эффективность) всех этих подходов, как правило, является неэффективное введение нуклеиновой кислоты и, как следствие, снижение адьювантной активности, в частности при местном применении.

Так, в настоящее время основным недостатком указанных подходов, основанных

на применении адьювантов, которые представляют собой нуклеиновые кислоты, является их ограниченная способность проникать через плазматическую мембрану клеток млекопитающих, что приводит к плохому доступу в клетки и несоответствующей терапевтической эффективности. К настоящему времени это препятствие представляет собой основную проблему для применения трансфекции нуклеиновыми кислотами, например, при разработке биомедицинских подходов, и следовательно с точки зрения коммерческого успеха многих биофармацевтических средств (см., например, Foerg C. и Merkle H.P., J Pharm Sci 97, 2008, cc.144-162).

Трансфекция клеток или тканей нуклеиновыми кислотами или генами к настоящему времени изучена в контексте применения для целей трансфекции *in vitro* и в контексте генотерапевтических подходов. Однако к настоящему времени отсутствуют эффективные и безопасные адьюванты, при применении которых используют указанные методики введения генов, в частности отсутствуют лицензированные адьюванты. Это, вероятно, обусловлено комплексными требованиями к адьювантам в целом в сочетании с требованиями к стабильности, которые необходимо выполнять в случае адьювантов на основе нуклеиновых кислот.

Тем не менее трансфекция нуклеиновыми кислотами или генами клеток или тканей для вызвания (врожденного и/или адаптивного) иммунного ответа, по-видимому, представляет собой перспективный подход к получению новых адьювантов.

Однако многие такие подходы основаны на применении трансфекции нуклеиновыми кислотами или генами клеток или тканей без индукции врожденного иммунного ответа. Существуют даже некоторые терапевтические подходы, в которых строго требуется избегать врожденного иммунного ответа. Даже в тех редких случаях, когда вакцинацию осуществляют для индукции адаптивного антигенспецифического иммунного ответа с использованием введения нуклеиновых кислот, например, противоопухолевая вакцинация с использованием ДНК или мРНК, которые кодируют антигены, индукцию адаптивного иммунного ответа, как правило, осуществляют в виде активной иммунизации против кодируемого антигена, но не в виде сопутствующей адьювантной терапии, и поэтому требуется дополнительное введение отдельного адьюванта для индукции врожденного иммунного ответа.

Хотя в данной области известно много методов трансфекции, перенос или встраивание нуклеиновых кислот или генов в клетки индивидуума в настоящее время все еще представляет собой основную проблему, которая еще не имеет удовлетворительного решения. Для решения этой сложной задачи в последнее десятилетие разработано широкое разнообразие методов. Они включают трансфекцию с использованием фосфата кальция, катионных липидов, катионных полимеров и липосом. Другими методами, применяемыми для трансфекции, являются электропорация и вирусная трансдукция.

Однако, как известно специалисту в данной области, системы для переноса или инсерции нуклеиновых кислот или генов должны удовлетворять некоторым требованиям при их применении *in vivo*, которые включают эффективное введение нуклеиновых кислот в клетки индивидуума, обеспечивая высокую функциональность, защиту нуклеиновой кислоты от повсеместно присутствующих нуклеаз, высвобождение нуклеиновой кислоты в клетку, отсутствие проблем с позиций безопасности, возможность промышленного получения в предназначенной для продажи форме и стабильность при хранении в экономичных условиях (например, поддающиеся лиофилизации). Эти требования должны быть добавлены к комплексу требований, предъявляемых к адьювантам, в частности, если они находятся в форме указанных выше нуклеиновых кислот.

Некоторые успешно применяемые в настоящее время стратегии переноса или инсерции нуклеиновых кислот или генов, доступные в настоящее время, основаны на применении вирусных векторов, таких как аденоовириусы, аденоассоциированные вирусы, ретровириусы и вирусы герпеса. Вирусные векторы могут опосредовать высокоэффективный перенос генов и обеспечивают возможность длительной генной экспрессии. Однако острый иммунный ответ («цитокиновый штурм»), иммуногенность и инсерционный мутагенез, которые обнаружены в клинических испытаниях средств генной терапии, приводят к серьезным опасениям в отношении безопасности при использовании некоторых обычно применяемых вирусных векторов.

Другое решение проблемы переноса или инсерции нуклеиновых кислот или генов может быть связано с применением невирусных векторов. Хотя невирусные векторы не являются столь же эффективными как вирусные векторы, разработан целый ряд невирусных векторов в качестве безопасной альтернативы. Методы невирусного введения нуклеиновых кислот осуществляют с использованием физических (введение нуклеиновой кислоты без носителя) и химических подходов (введение нуклеиновой кислоты, основанное на использовании синтетического вектора). Физические подходы, как правило, включают игольную инъекцию, электропорацию, применение генной пушки, облучение ультразвуком и гидродинамическое введение, применение физического усилия, обеспечивающего проникновение через клеточную мембрану и облегчающего

внутриклеточный перенос гена. В химических подходах, как правило, применяют синтетические или встречающиеся в естественных условиях соединения (например, катионные липиды, катионные полимеры, гибридные липид-полимерные системы) в качестве носителей для введения нуклеиновой кислоты в клетки. Хотя достигнут

5 значительный прогресс с позиций науки и путей применения различных невирусных систем введения нуклеиновых кислот, большинство невирусных подходов все еще являются намного менее эффективными по сравнению с подходами, основанными на применении вирусных векторов, прежде всего для введения *in vivo* генов (см., например, Gao X., Kim K. и Liu D., AAPS J 9, 2007, E 92-104).

10 Указанные агенты для трансфекции, которые перечислены выше, как правило, успешно применяли только в реакциях *in vitro*. Однако для применения нуклеиновых кислот *in vivo*, они должны удовлетворять дополнительным требованиям. Например, комплексы между нуклеиновыми кислотами и агентами для трансфекции должны обладать стабильностью в физиологических соляных растворах с позиций агломерации.

15 Кроме того, такие комплексы, как правило, не должны взаимодействовать с компонентами системы комплемента хозяина и в результате сами не должны обладать иммуногенностью в качестве носителя, который сам не должен индуцировать адаптивный иммунный ответ у индивидуума. Кроме того, комплекс должен защищать нуклеиновую кислоту от преждевременного внутриклеточного расщепления повсеместно

20 присутствующими нуклеазами.

В данной области известно и доступно много реагентов для трансфекции, прежде всего катионных липидов, которые обладают очень высокой трансфицирующей активностью в культуре клеток. Однако большинство этих реагентов для трансфекции не осуществляют свою функцию в достаточной степени в сыворотке, и только немногие 25 из них обладают активностью *in vivo*. Резкое изменение размера, поверхностного заряда и состава липидов происходят в том случае, когда липоплексы подвергаются воздействию намного большего количества отрицательно заряженных и часто амфипатических белков и полисахаридов, которые присутствуют в крови, слизи, заполненной жидкостью эпителиальной выстилке или тканевом матриксе. После 30 введения *in vivo* липоплексы имеют тенденцию к взаимодействию с отрицательно заряженными компонентами крови и формируют крупные агрегаты, которые могут абсорбироваться на поверхности циркулирующих эритроцитов, улавливаться толстым слоем слизи или образовывать эмболы в микрососудистой сети, что препятствует достижению ими требуемых клеток-мишеней в отдаленной области. Некоторые даже 35 подвергаются распаду после их интродукции в кровоток (см., например, Gao X., Kim K. и Liu D., AAPS J 9, 2007, E 92-104).

Одним из наиболее перспективных подходов является применение катионных полимеров. Оказалось, что катионные полимеры являются эффективными в отношении трансфекции нуклеиновыми кислотами, поскольку они могут образовывать тесно 40 связанные комплексы и конденсируют отрицательно заряженную нуклеиновую кислоту. Так, целый ряд катионных полимеров используется в качестве носителей для введения генов *in vitro* и *in vivo*. Они включают полиэтиленимин (ПЭИ), полиамидоамин и дендримеры полипропиламина, полигалламин, катионный декстран, хитозан, катионные белки и катионные пептиды. Хотя большинство катионных полимеров 45 обладают способностью конденсировать ДНК в небольшие частицы и облегчают проникновение в клетку посредством эндоцитоза благодаря взаимодействию типа заряд-заряд с анионными сайтами на клеточных поверхностях, они очень резко различаются по их трансфицирующей активность и токсичности.

Из существующего уровня техники известен только один подход, в котором продемонстрировано иммуностимулирующее действие РНК в комплексе с короткими катионными пептидами (Fotin-Mleczek и др., WO 2009/030481). Указанные композиции, вероятно, эффективно индуцируют производство цитокинов в иммунокомпетентных клетках. К сожалению Fotin-Mleczek с соавторами не оценивали индукцию этими комплексами предпочтительного антивирусного цитокина IFN- α . Кроме того, эти комплексы не обладали стабильностью в процессе лиофилизации.

В вышеуказанном контексте для катионных полимеров характерно повышение трансферирующей эффективности с увеличением молекулярной массы. Однако увеличение молекулярной массы приводит также к повышению токсичности катионного полимера. В вышеуказанном контексте (высокомолекулярный) ПЭИ, по-видимому, является наиболее активным и наиболее изученным полимером для трансфекции нуклеиновыми кислотами, в частности, для целей введения генов. К сожалению, ему свойственны некоторые недостатки, связанные с его бионеразложимой природой и токсичностью. Кроме того, хотя полиплексы, сформированные с использованием высокомолекулярных полимеров, отличаются улучшенной стабильностью в физиологических условиях, имеются данные, свидетельствующие о том, что такие полимеры могут препятствовать распаковке вектора. Для преодоления указанного отрицательного воздействия Read с соавторами (см. Read M.L. и др., J Gene Med. 5, 2003, cc.232-245; и Read M.L. и др., Nucleic Acids Res, 33, 2005, с.86) разработали новый тип синтетического вектора на основе линейного способного к восстановлению поликатиона (RPC), полученного путем окислительной поликонденсации пептида Cys-Lys₁₀-Cys.

Этот пептид Cys-Lys₁₀-Cys может расщепляться внутриклеточным окружением, что облегчает высвобождение нуклеиновых кислот. В этом контексте Read с соавторами (2003, выше) продемонстрировали, что подиндексы, сформированные с использованием указанных RPC, дестабилизировались в восстанавливающих условиях, что позволяло эффективно высвобождать ДНК и мРНК. Однако оценка трансферирующей эффективности *in vitro* (Read и др., 2003, выше) продемонстрировала также, что величины отношения N/P (отношение количества атомов азота к количеству атомов фосфора), находящиеся на уровне 2, являются неудовлетворительными и для повышения трансферирующей эффективности необходимы более высокие величины отношения N/P. Кроме того, Read с соавторами (2003, выше) обнаружили, что для повышения трансферирующей эффективности до соответствующего уровня дополнительно необходимы хлорохин или катионный липид DOTAP. Поэтому Read с соавторами (2005, выше) включили гистидиновые остатки в RPC, которые как известно, обладают способностью забуферивать эндосомы, и продемонстрировали, что такие богатые гистидином RPC могут расщепляться во внутриклеточном восстанавливающем окружении. Такой подход позволил осуществлять эффективное введение в цитоплазму широкого спектра нуклеиновых кислот, включая молекулы плазмидной ДНК, мРНК и siРНК, без необходимости применения обладающего литическим действием на эндосомы агента хлорохина.

К сожалению ни в исследовании Read с соавторами (2003, выше), ни в исследовании Read с соавторами (2005, выше) не был изучен вопрос о возможности непосредственного применения RPC *in vivo*. В исследовании, выполненном указанными авторами в 2005 г., трансфекции осуществляли в отсутствии сыворотки, для того, чтобы избежать маскирующего действия остатков гистидина на повышенный перенос генов, которое может возникать в результате связывания сывороточных белков с полиплексами, что ограничивает поглощение клетками. Однако, в проведенных ранее экспериментах было

установлено, что на трансфекции свойства богатых гистидином содержащих RPC полиплексов может влиять присутствие сывороточных белков, так было обнаружено снижение на 50% GFP-позитивных клеток в присутствии 10% FCS. Для применения *in vivo* Read с соавторами (2005, выше) предложили модификации с помощью

- 5 гидрофильного полимера поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламида]. К сожалению, это не привело к предотвращению агрегации полиплексов и связывания поликатионных комплексов с сывороточными белками. Кроме того, образовывались сильные катионные заряженные комплексы (положительный дзета-потенциал) при образовании комплексов с нуклеиновой кислотой из-за значительного избытка катионного полимера, что
- 10 характеризовалось высокой величиной отношения N/P. Таким образом, указанные комплексы только ограничивали применение *in vivo* вследствие их выраженной тенденции к индуцируемой солями агломерации и взаимодействий с компонентами сыворотки (опсонизация). Кроме того, эти (положительно заряженные) комплексы могут приводить к активации комплемента при их применении в области генной терапии.
- 15 Установлено также, что для этих комплексов на основе положительно заряженных RPC характерна плохая трансляция нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, при местном введении в кожу.

Используя подход, аналогичный описанному у Read с соавторами, McKenzie с соавторами (McKenzie D.L., Kwok K.Y. и др., *J Biol Chem* 275(14), 2000, cc.9970-9977 и 20 McKenzie D.L., Smiley E. и др., *Bioconjug Chem* 11(6), 2000, cc.901-909) создавали поперечно сшивающие пептиды в качестве агентов для введения генов путем встраивания нескольких остатков цистеина в короткие синтетические пептиды. В описанных экспериментах авторы оценивали оптимальное образование комплексов с ДНК и в результате им удалось продемонстрировать, что для получения полностью сформированных 25 конденсатов связанный с пептидом ДНК необходима величина отношения N/P, составляющая по меньшей мере 2. Таким образом, по-видимому, оптимальная конденсация ДНК происходит только в положительно заряженных комплексах. В отличие от этого подхода указанные авторы предложили создавать отрицательно заряженные комплексы для введения генов *in vivo*, поскольку в предыдущих 30 исследованиях было установлено, что внутривенное введение электроположительных конденсатов ДНК приводит к быстрой опсонизации и неспециальному биораспределению в легкое и печень (Collard W.T., Evers D.L., McKenzie D.L. и Rice K.G., *Carbohydr. Res.* 323, 2000, cc.176-184). Для этой цели McKenzie с соавторами (2000; выше) предложили дериватизацию носителей полиэтиленгликолем и обеспечивающими 35 направленный перенос лигандами. Следует отметить, что подход McKenzie и др. (2000, выше) представляет собой дополнительный объект патента (US 6770740 B1), в котором описана, в частности, трансфекция с использованием кодирующих нуклеиновых кислот, антисмысловых нуклеиновых кислот и рибозимов.

Таким образом, применение *in vivo* нуклеиновых кислот все еще остается, по- 40 видимому, одной из наиболее сложных проблем, поскольку белки плазмы с анионными зарядами могут неспецифически связываться с положительно заряженными комплексами и быстро их удалять, например, через ретикулоэндотелиальную систему. Опсонизация и активация системы комплемента катионными комплексами представляют собой дополнительный физиологический феномен, который может принимать участие в 45 снижении эффективности *in vivo* введенных катионных комплексов. Это относится прежде всего к введению лекарственных средств на основе нуклеиновых кислот, например, при трансфекции нуклеиновыми кислотами клеток или тканей, в частности, если требуется экспрессия кодируемого белка или пептида или транскрипция РНК

трансфектированной нуклеиновой кислоты.

Обобщая вышесказанное, очевидно, что при существующем уровне техники отсутствуют пригодные средства и методы, которые, с одной стороны, позволяют создавать эффективные и безопасные адьюванты для целей вакцинации, и которые, с другой стороны, кроме того, можно применять для введения *in vivo* нуклеиновых кислот, в частности, для «компактинга» (уплотнение, конденсация) и стабилизации нуклеиновой кислоты для осуществления трансфекции нуклеиновыми кислотами *in vivo* без проявления отрицательных побочных действий, указанных выше. Более конкретно, в этом контексте в данной области не известны средства или методы, которые, с одной стороны, являются достаточно стабильными для переноса представляющей собой карго-молекулу нуклеиновой кислоты к мишени до ее метаболического расщепления, и которые, с другой стороны, могут выделяться из ткани до их накопления и достижения токсических уровней. Кроме того, не известны средства или методы, которые в дополнение к вышеуказанным требованиям, индуцируют требуемый набор цитокинов, прежде всего антивирусный цитокин IFN- α .

Таким образом, в основу настоящего изобретения положена задача разработать средства или способы, направленные на решение указанных проблем.

Положенная в основу настоящего изобретения задача решается с помощью объектов настоящего изобретения, предпочтительно с помощью объектов, представленных в прилагаемой формуле изобретения.

Таким образом, согласно первому варианту осуществления изобретения задача,ложенная в основу настоящего изобретения, решается с помощью комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, который включает

а) (в качестве носителя) полимерный носитель, состоящий из поперечно сшитых дисульфидными связями катионных компонентов, и
б) (в качестве карго) по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту (молекула), который предназначен предпочтительно для применения в качестве лекарственного средства, более предпочтительно для применения в качестве иммуностимулирующего агента или адьюванта, например, для лечения указанного в настоящем описании заболевания.

В другом варианте задача,ложенная в основу настоящего изобретения, решается с помощью комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, который включает

а) полимерный носитель, состоящий из поперечно сшитых дисульфидными связями катионных компонентов (в качестве носителя), и
б) по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту (молекула) (в качестве карго), который предназначен предпочтительно для применения в качестве лекарственного средства, более предпочтительно для применения в качестве иммуностимулирующего агента или адьюванта, например, для лечения указанного в настоящем описании заболевания.

Подразумевается, что понятие «иммуностимулирующий агент (иммуностимулятор)», как правило, не относится к агентам, например, антигенам (вне зависимости от их химической структуры), которые вызывают адаптивный/цитотоксический иммунный ответ, например, «гуморальный» или «клеточный» иммунный ответ, другими словами, вызывает иммунные ответы (и тем самым придает иммунитет), которые характеризуются специфическим ответом на структурные свойства антигена, распознаваемого как чужеродный иммунокомпетентными клетками. Скорее, под «иммуностимулирующим агентом», как правило, подразумеваются агенты/соединения/комpleksы, которые сами

не запускают какой-либо адаптивный/цитотоксический иммунный ответ, но которые могут только повышать указанный адаптивный/цитотоксический иммунный ответ неспецифическим образом, например, путем активации «PAMP»-рецепторов, и тем самым запускать высвобождение цитокинов, которые поддерживают фактически

5 существующий адаптивный/цитотоксический иммунный ответ. Таким образом, никакая иммуностимуляция агентами (например, антигенами), которые сами вызывают адаптивный и/или цитотоксический иммунный ответ (которые сами прямо или косвенно придают иммунитет), как правило, исключается из объема, охватываемого понятием «иммуностимулирующий агент».

10 Подразумевается также, что под понятие «адьювант» не подпадают агенты, которые сами придают иммунитет. Таким образом, они не придают иммунитет сами по себе, но помогают иммунной системе различными путями усиливать антигенспецифический иммунный ответ, например, способствуя презентации антигена иммунной системе. Таким образом, адьювант предпочтительно может, например, модулировать

15 антигенспецифический иммунный ответ, например, сдвигая доминирующий антигенспецифический иммунный ответ по Th1-типу в сторону преобладания антигенспецифического ответа по Th2-типу, или наоборот. Таким образом, понятие «иммуностимулирующий агент» и «адьювант» в контексте настоящего изобретения, как правило, относятся к агентам, соединениям или комплексам, которые сами не могут

20 придавать иммунитет, но исключительно поддерживают иммунный ответ неспецифическим образом (в противоположность антигенспецифическому иммунному ответу) с помощью действий, которые модулируют антигенспецифический (адаптивный клеточный и/или гуморальный иммунный ответ) неспецифическими путями, например, с помощью экспрессии/секреции цитокинов, улучшая презентацию антигенов, сдвигая

25 природу «плечей» иммунного ответа и т.д. Таким образом, любые агенты, которые сами вызывают иммунитет, как правило, не подпадают под понятия «адьювант» или «иммуностимулирующий агент».

Предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, позволяет получать эффективные и безопасные адьюванты для целей 30 вакцинации и носители для трансфекции с целью применения либо в области вакцинации, либо адьювантной терапии, либо генной терапии. Целесообразно применять предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, для введения *in vivo* нуклеиновых кислот, в частности для уплотнения и стабилизации нукleinовой кислоты для применения в трансфекции нуклеиновыми

35 кислотами без обсужденных выше отрицательных побочных действий высокомолекулярных полимеров, таких как отсутствие или плохая биоразложимость, или даже высокая токсичность, агломерированные, низкая трансферирующая активность *in vivo* и т.д. Предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, обеспечивает также эффективный перенос нуклеиновых кислот *in*

40 *vivo*, прежде всего внутрикожным или внутримышечным путями, в том числе, стабильность в сыворотке, стабильность в солевых условиях, эффективное поглощение, он не активирует комплемент, способствует высвобождению нуклеиновых кислот и т.д. Указанный предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, когда его применяют в качестве адьюванта, поддерживает

45 также индукцию и адаптивный иммунный ответ, путем параллельной инициации или бустинга врожденного иммунного ответа. Кроме того, предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, обладает очень высокой стабильностью при хранении, прежде всего в процессе лиофилизации.

Предлагаемый в изобретении указанный выше комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, включает в качестве одного из компонентов полимерный носитель, образованный путем поперечного сшивания дисульфидными связями катионных компонентов. Понятие «катионный компонент», как правило, относится к

- 5 заряженной молекуле, которая является положительно заряженной (катион) при значении pH примерно от 1 до 9, предпочтительно при значении pH, равном или ниже 9, равном или ниже 8, равном или ниже 7, наиболее предпочтительно при физиологических значениях pH, например, составляющих примерно 7,3-7,4. Таким образом, согласно настоящему изобретению катионный пептид, белок или полимер
- 10 является положительно заряженным в физиологических условиях, прежде всего в физиологических солевых условиях клетки *in vivo*. Понятие «катионные» может относиться также к «поликатионным» компонентам.

В этом контексте катионные компоненты, которые образуют основу полимерного носителя предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, полученного с помощью поперечного сшивания дисульфидными связями, как правило, выбирают из любого приемлемого катионного или поликатионного пептида, белка или полимера, пригодного для указанной цели, прежде всего любого катионного или поликатионного пептида, белка или полимера, который может образовывать комплекс с нукleinовой кислотой, предлагаемой в настоящем изобретении, и при этом предпочтительно конденсирует нукleinовую кислоту. Катионный или поликатионный пептид, белок или полимер предпочтительно представляет собой линейную молекулу, однако можно применять также разветвленные катионные или поликатионные пептиды, белки или полимеры.

Каждый катионный или поликатионный белок, пептид или полимер полимерного носителя содержит по меньшей мере одну -SH-группу, наиболее предпочтительно по меньшей мере один остаток цистеина или любую химическую группу, несущую -SH-группу, которая может образовывать дисульфидную связь при конденсации по меньшей мере с одним дополнительным катионным или поликатионным белком, пептидом или полимером, представляющим собой катионный компонент указанного выше полимерного носителя.

Каждый катионный или поликатионный белок, пептид или полимер или любой дополнительный компонент полимерного носителя предпочтительно связан с соседним (ими) компонентом(ами) (катионные белки, пептиды, полимеры или другие компоненты) посредством дисульфидной поперечной связи. Предпочтительно дисульфидная поперечная связь представляет собой (обратимую) дисульфидную связь (-S-S-) между по меньшей мере одним катионным или поликатионным белком, пептидом или полимером и по меньшей мере одним дополнительным катионным или поликатионным белком, пептидом или полимером или другим компонентом полимерного носителя. Дисульфидная поперечная связь, как правило, образуется в результате конденсации -SH-групп компонентов полимерного носителя, прежде всего, катионных компонентов. Указанная -SH-группа может представлять собой часть структуры катионного или поликатионного белка, пептида или полимера или любого дополнительного компонента полимерного носителя до образования дисульфидной поперечной связи или ее можно добавлять перед образованием дисульфидной поперечной связи путем описанной ниже модификации. В этом контексте атомы серы, примыкающие к одному компоненту полимерного носителя, необходимые для образования дисульфидной связи, могут быть частью самого компонента, например, могут быть получены из -SH-группы, как указано в настоящем описании, или могут быть получены модификацией компонента, в

результате чего он приобретает -SH-группу. Эти -SH-группы, как правило, предоставляются каждым из компонентов, например, из цистеина или любой другой (модифицированной) аминокислоты или входящим в состав компонента соединением, которое несет -SH-группу. В случае, когда катионный компонент или любой другой 5 компонент полимерного носителя представляет собой пептид или белок, то предпочтительно, чтобы -SH-группа предоставлялась по меньшей мере одним цистеиновым остатком. В альтернативном варианте полимерный носитель может быть соответствующим образом модифицирован -SH-группой, предпочтительно путем химической реакции, с помощью соединения, несущего -SH-группу, таким образом, 10 чтобы каждый из компонентов полимерного носителя нес по меньшей мере одну -SH-группу. Такое соединение, несущее -SH-группу, может представлять собой, например, (дополнительный) цистеин или любую другую (модифицированную) аминокислоту или входящее в состав компонента полимерного носителя соединение, которое содержит -SH-группу. Указанное соединение может представлять собой также не содержащее 15 аминогруппу соединение или фрагмент, которое/который содержит или позволяет интродуцировать -SH-группу в компонент, указанный в настоящем описании. Такие не содержащие аминогруппу соединения можно присоединять к компоненту полимерного носителя, предлагаемого в настоящем изобретении, посредством химических реакций или связывания соединений, например, путем связывания 3- 20 тиопропионовой кислоты или 2-иминотиолана (реагент Траута), путем образования амида (например, карбоновые кислоты, сульфоновые кислоты, амины и т.д.), путем присоединения с помощью реакции Михаэля (например, малеинimidные фрагменты, α,β -ненасыщенные карбонилы и т.д.), путем клик-химии (например, азиды или алкины), путем алкен/алкинового метатезиса (например, алкены или алкины), путем образования 25 имина или гидразона (альдегиды или кетоны, гидразины, гидрозиламины, амины), путем реакций комплексообразования (авидин, биотин, белок G) или применения компонентов, которые позволяют осуществлять реакции замещения S_n -типа (например, галогеналканы, тиолы, спирты, амины, гидразины, гидразилины, эфиры сульфоновых 30 кислот, соли оксифосфония), или других химических остатков, которые можно применять для присоединения других компонентов. В некоторых случаях -SH-группу можно маскировать защитными группами в процессе химического присоединения к компоненту. Указанные защитные группы известны в данной области и их можно удалять после химического сочетания. В каждом случае -SH-группа, например, цистеина или любой другой 35 (модифицированной) аминокислоты или любого другого соединения, может присутствовать на концах или внутри в любом положении компонента полимерного носителя. Как указано в настоящем описании, каждый из компонентов полимерного носителя, как правило, несет по меньшей мере одну -SH-группу, но может содержать также две, три, четыре, пять или даже большее количество -SH-групп. В дополнение к связыванию катионных компонентов -SH-группу можно применять для присоединения 40 дополнительных компонентов полимерного носителя, указанного в настоящем описании, прежде всего компонента, представляющего собой аминокислоту, например, эпитопы антигенов, антигены, антитела, обеспечивающие проникновение в клетку пептиды (например, TAT), лиганды и т.д.

Как указано выше, полимерный носитель предлагаемого в изобретении полимерного 45 носителя карго-молекулы получают из поперечно сшитых дисульфидными связями катионных (или поликатионных) компонентов.

Согласно первому варианту по меньшей мере один катионный (или поликатионный) компонент полимерного носителя можно выбирать из катионных или поликатионных

пептидов или белков. Такие катионные или поликатионные пептиды или белки предпочтительно состоят примерно из 3-100 аминокислот, предпочтительно примерно из 3-50 аминокислот, более предпочтительно примерно из 3-25 аминокислот, например, примерно из 3-10; 5-20; 5-15; 8-15, 16 или 17; 10-15, 16, 17, 18, 19 или 20; или 15-25

5 аминокислот. В альтернативном или дополнительном варианте указанные катионные или поликатионные пептиды или белки могут иметь молекулярную массу от примерно 0,01 до примерно 100 кДа, в том числе иметь молекулярную массу от примерно 0,5 до примерно 100 кДа, предпочтительно от примерно 10 до примерно 50 кДа, еще более предпочтительно от примерно 10 до примерно 30 кДа.

10 В конкретном варианте в том случае, когда катионный компонент полимерного носителя содержит катионный или поликатионный пептид или белок, то катионные свойства катионного или поликатионного пептида или белка или всего полимерного носителя, если полимерный носитель полностью состоит из катионных или поликатионных пептидов или белков, могут определяться составом катионных

15 аминокислот. Предпочтительно на долю катионных аминокислот в катионном или поликатионном пептиде или белке и/или в полимерном носителе приходится по меньшей мере 10%, 20% или 30%, предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, 60% или 70%, но предпочтительно также по меньшей мере 80%, 90%, или даже 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или примерно от 10% до 90%, более предпочтительно примерно от 15% до 75%, еще более предпочтительно примерно от 20% до 50%, например 20, 30, 40 или 50%, или их содержание может находиться в диапазоне, ограниченном любыми двумя из вышеуказанных значений, при условии, что содержание всех аминокислот, например,

20 катионных, липофильных, гидрофильных, ароматических и других видов аминокислот, в катионном или поликатионном пептиде или белке или во всем полимерном носителе, если полимерный носитель полностью состоит из катионных или поликатионных пептидов или белков, составляет 100%.

25 В этом контексте катионные аминокислоты предпочтительно представляют собой встречающиеся в естественных условиях аминокислоты Arg (аргинин), Lys (лизин), His (гистидин) и Orn (орнитин). Однако в более широком смысле любую (не встречающуюся в естественных условиях) аминокислоту, несущую катионный заряд в боковой цепи, можно также применять при осуществлении изобретения. Однако предпочтительными являются те катионные аминокислоты, боковые цепи которых являются положительно заряженными при физиологических значениях pH. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения эти аминокислоты представляют собой Arg, Lys и Orn.

30 Предпочтительно указанные катионные или поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, которые содержат или дополнительно модифицированы так, что они содержат, по меньшей мере одну -SH-группу, выбирают из ряда, включающего (но, не ограничиваясь только ими) такие катионные пептиды или белки, как протамин, нуклеолин, спермин или спермидин, олиго- или поли-L-лизин (PLL), основные полипептиды, олиго- или поли-аргинин, обладающие способностью проникать в клетку пептиды (CPP), химерные CPP, такие как транспортан, или MPG-пептиды, ВИЧ-связывающие пептиды. Tat, Tat ВИЧ-1 (ВИЧ), выведенные из Tat пептиды, представители семейства пенетратина, например, пенетратин, выведенные из Antennapedia пептиды (прежде всего, выведенные из Drosophila antennapedia), pAntp, pIsl и т.д., выведенные из антимикробных пептидов CPP, например, буфорин-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, выведенные из hCT пептиды, SAP, MAP, KALA, PpTG20, L-олигомер, FGF, лактоферрин,

гистоны, полученные из VP22 пептиды или аналоги, HSV, VP22 (вирус герпеса простого), MAP, KALA или домены трансдукции белков (PTD), PpT620, богатые пролином пептиды, богатые аргинином пептиды, Рер-1, L-олигомеры, пептид(ы) кальцитонина и т.д.

В альтернативном или дополнительном варианте указанные катионные или

5 поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, которые содержат или дополнительно модифицированы так, что они содержат по меньшей мере одну -SH- группу, выбирают из ряда, включающего (но, не ограничиваясь только ими) следующие катионные пептиды, которые имеют общую формулу (I):

$\{(Arg)_l;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x\};$

10 в которой $1+m+n+o+x=3-100$, и l, m, n или o каждый независимо друг от друга обозначает любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90 и 91-100, при условии, что общее содержание Arg (аргинин), Lys (лизин), His (гистидин) и Orn (орнитин) составляет по меньшей мере 10% от всех аминокислот олигопептида; и Xaa обозначает любую 15 аминокислоту, выбранную из нативных (т.е. встречающихся в естественных условиях) или не встречающихся в естественных условиях аминокислот за исключением Arg, Lys, His или Orn; и x обозначает любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90, при условии, что общее содержание Xaa не превышает 90% от всех аминокислот олигопептида.

20 Любая из аминокислот Arg, Lys, His, Orn и Xaa может находиться в пептиде в любом положении. В этом контексте наиболее предпочтительными являются катионные пептиды или белки, состоящие из 7-30 аминокислот. Еще более предпочтительными пептидами указанной формулы являются олигоаргинины, такие, например, как Arg₇, Arg₈, Arg₉, Arg₁₂, His₃Arg₉, Arg₉His₃, His₃Arg₉His₃, His₆Arg₉His₆, His₃Arg₄His₃, His₆Arg₄ 25 His₆, TyrSer₂Arg₉Ser₂Tyr, (ArgLysHis)₄, Tyr(ArgLysHis)₂Arg, и т.д.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения указанные катионные или поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, которые имеют эмпирическую общую формулу (I), представленную выше, могут 30 содержать (но не ограничиваясь только ими) по меньшей мере одну формулу из следующей подгруппы формул:

Arg₇, Arg₈, Arg₉, Arg₁₀, Arg₁₁, Arg₁₂, Arg₁₃, Arg₁₄, Arg₁₅₋₃₀;

Lys₇, Lys₈, Lys₉, Lys₁₀, Lys₁₁, Lys₁₂, Lys₁₃, Lys₁₄, Lys₁₅₋₃₀;

His₇, His₈, His₉, His₁₀, His₁₁, His₁₂, His₁₃, His₁₄, His₁₅₋₃₀;

35 Orn₇, Orn₈, Orn₉, Orn₁₀, Orn₁₁, Orn₁₂, Orn₁₃, Orn₁₄, Orn₁₅₋₃₀.

Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения указанные катионные или поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, которые имеют эмпирическую общую формулу (I), представленную выше, и которые 40 содержат или дополнительно модифицированы так, что они содержат по меньшей мере одну -SH-группу, можно предпочтительно выбирать по меньшей мере из одной формулы из представленной ниже подгруппы формул (но не ограничиваясь только ими). В приведенных ниже формулах (также как и в эмпирической формуле (I)) не определен конкретно какой-либо порядок аминокислот, но, подразумевается, что в эмпирических 45 формулах отражено только конкретное количество аминокислот, являющихся компонентами соответствующего пептида. Так, например, подразумевается, что эмпирическая формула Arg₍₇₋₂₉₎Lys₁ означает, что пептиды, подпадающие под эту формулу, содержат 7-19 остатков Arg и 1 остаток Lys в любом порядке. Если пептиды

содержат 7 остатков Arg и 1 остаток Lys, то подпадают все варианты, имеющие 7 остатков Arg и 1 остаток Lys. Таким образом, остаток Lys может находиться в любом положении, например, в состоящей из 8 аминокислот последовательности, которая содержит 7 остатков Arg и 1 остаток Lys. Подгруппа предпочтительно включает:

- 5 Arg₍₄₋₂₉₎Lys₁, Arg₍₄₋₂₉₎His₁, Arg₍₄₋₂₉₎Orn₁, Lys₍₄₋₂₉₎His₁, Lys₍₄₋₂₉₎Orn₁, His₍₄₋₂₉₎Orn₁, Arg₍₃₋₂₈₎Lys₂, Arg₍₃₋₂₈₎His₂, Arg₍₃₋₂₈₎Orn₂, Lys₍₃₋₂₈₎His₂, Lys₍₃₋₂₈₎Orn₂, His₍₃₋₂₈₎Orn₂, Arg₍₂₋₂₇₎Lys₃, Arg₍₂₋₂₇₎His₃, Arg₍₂₋₂₇₎Orn₃, Lys₍₂₋₂₇₎His₃, Lys₍₂₋₂₇₎Orn₃, His₍₂₋₂₇₎Orn₃, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₄, Arg₍₁₋₂₆₎His₄, Arg₍₁₋₂₆₎Orn₄, Lys₍₁₋₂₆₎His₄, Lys₍₁₋₂₆₎Orn₄, His₍₁₋₂₆₎Orn₄,
- 10 Arg₍₃₋₂₈₎Lys₁His₁, Arg₍₃₋₂₈₎Lys₁Orn₁, Arg₍₃₋₂₈₎His₁Orn₁, Arg₁Lys₍₃₋₂₈₎His₁, Arg₁Lys₍₃₋₂₈₎Orn₁, Lys₍₃₋₂₈₎HiS₁Orn₁, Arg₁Lys_iHis₍₃₋₂₈₎, Arg₁His₍₃₋₂₈₎Orn₁, Lys₁His₍₃₋₂₈₎Orn₁; Arg₍₂₋₂₇₎Lys₂HiS₁, Arg₍₂₋₂₇₎Lys₁His₂, Arg₍₂₋₂₇₎Lys₂Orn₁, Arg₍₂₋₂₇₎Lys₁Orn₂, Arg₍₂₋₂₇₎His₂Orn₁, Arg₍₂₋₂₇₎His₁Orn₂, Arg₂Lys₍₂₋₂₇₎His₁, Arg₁Lys₍₂₋₂₇₎His₂, Arg₂Lys₍₂₋₂₇₎Orn₁, Arg₁Lys₍₂₋₂₇₎Orn₂, Lys₍₂₋₂₇₎His₂Orn₁, Lys₍₂₋₂₇₎His₁Orn₂, Arg₂Lys₁His₍₂₋₂₇₎, Arg₁Lys₂His₍₂₋₂₇₎, Arg₂His₍₂₋₂₇₎Orn₁, Arg₁His₍₂₋₂₇₎Orn₂, Lys₂His₍₂₋₂₇₎Orn₁, Lys₁His₍₂₋₂₇₎Orn₂;
- 15 Arg₍₁₋₂₆₎Lys₃His₁, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₂His₂, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₁His₃, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₃Orn₁, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₂Orn₂, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₁Orn₃, Arg₍₁₋₂₆₎His₃Orn₁, Arg₍₁₋₂₆₎His₂Orn₂, Arg₍₁₋₂₆₎His₁Orn₃, Arg₃Lys₍₁₋₂₆₎His₁, Arg₂Lys₍₁₋₂₆₎His₂, Arg₁Lys₍₁₋₂₆₎His₃, Arg₃Lys₍₁₋₂₆₎Orn₁, Arg₂Lys₍₁₋₂₆₎Orn₂, Arg₁Lys₍₁₋₂₆₎Orn₃, Lys₍₁₋₂₆₎His₃Orn₁, Lys₍₁₋₂₆₎His₂Orn₂, Lys₍₁₋₂₆₎His₁Orn₃, Arg₃Lys₁His₍₁₋₂₆₎, Arg₂Lys₁His₍₁₋₂₆₎Orn₁, Arg₂His₍₁₋₂₆₎Orn₂, Arg₁His₍₁₋₂₆₎Orn₃, Lys₃His₍₁₋₂₆₎Orn₁, Lys₂His₍₁₋₂₆₎Orn₂, Lys₁His₍₁₋₂₆₎Orn₃;
- 20 25 Arg₍₂₋₂₇₎Lys₁His₁Orn₁, Arg₁Lys₍₂₋₂₇₎His₁Orn₁, Arg₁Lys₁His₍₂₋₂₇₎Orn₁, Arg₁Lys₁His₁Orn₍₂₋₂₇₎;
- 25 Arg₍₁₋₂₆₎Lys₂His₁Orn₁, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₁His₂Orn₁, Arg₍₁₋₂₆₎Lys₁His₁Orn₂, Arg₂Lys₍₁₋₂₆₎His₁Orn₁, Arg₁Lys₍₁₋₂₆₎His₂Orn₁, Arg₁Lys₍₁₋₂₆₎His₁Orn₂, Arg₂Lys₁His₍₁₋₂₆₎Orn₁, Arg₁Lys₂His₍₁₋₂₆₎Orn₁, Arg₁Lys₁His₍₁₋₂₆₎Orn₂, Arg₂Lys₁His₁Orn₍₁₋₂₆₎, Arg₁Lys₂His₁Orn₍₁₋₂₆₎, Arg₁Lys₁His₂Orn₍₁₋₂₆₎
- 30 .

Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения катионные или поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, которые имеют эмпирическую общую формулу (I), представленную выше, и которые содержат или дополнительно модифицированы так, что они содержат по меньшей мере одну -SH-группу, можно выбирать из (но, не ограничиваясь только ими) подгруппы общих формул Arg₇ (обозначают также как R₇), Arg₉ (обозначают также как R₉), Arg₁₂ (обозначают также как R₁₂).

Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения катионные или поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, когда они описываются формулой {(Arg)_l;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x} (формулы (I)), представленной выше, и которые содержат или дополнительно модифицированы так, что они содержат по меньшей мере одну -SH-группу, можно выбирать из подформулы (Ia) (но, не ограничиваясь только ею):

$$^{45} \{(Arg)_l;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa')_x(Cys)_y\} \quad \text{Формула (Ia)},$$

в которой (Arg)_l;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o и x имеют значения, указанные в настоящем описании, Xaa' обозначает любую аминокислоту, выбранную из нативных (т.е.

встречающихся в естественных условиях) или не встречающихся в естественных условиях аминокислот за исключением Arg, Lys, His, Orn или Cys, и у обозначает любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80 и 81-90, при условии, что общее содержание Arg (аргинин), Lys (лизин). His (гистидин) и Orn (орнитин) составляет по меньшей мере 10% от всех аминокислот олигопептида.

Этот вариант осуществления изобретения можно применять к ситуациям, когда катионный или поликатионный пептид или белок полимерного носителя, например, подпадающий по эмпирическую формулу $(\text{Arg})_l;(\text{Lys})_m;(\text{His})_n;(\text{Orn})_o;(\text{Xaa})_x$ (формула I), представленную выше, содержит или модифицирован так, что содержит по меньшей мере один остаток цистеина в качестве -SH-группы, указанной выше, в результате чего указанный катионный или поликатионный пептид в качестве катионного компонента носителя содержит по меньшей мере один остаток цистеина, который может образовывать дисульфидную связь с другими компонентами полимерного носителя.

Согласно другому наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения катионные или поликатионные пептиды или белки полимерного носителя, когда они описываются формулой $\{(\text{Arg})_l;(\text{Lys})_m;(\text{His})_n;(\text{Orn})_o;(\text{Xaa})_x\}$ (формулы I), представленной выше, можно выбирать из подформулы (Ib) (но, не ограничиваясь только ею):

$\text{Cys}_1 \{(\text{Arg})_l;(\text{Lys})_m;(\text{His})_n;(\text{Orn})_o;(\text{Xaa})_x\} \text{Cys}_2$ (формула (Ib)),

в которой эмпирическая формула $\{(\text{Arg})_l;(\text{Lys})_m;(\text{His})_n;(\text{Orn})_o;(\text{Xaa})_x\}$ (формула I) определена в настоящем описании и образует ядро аминокислотной последовательности, соответствующей (полуэмпирической) формуле I, и в которой Cys_1 и Cys_2 представляют собой остатки цистеина, расположенные проксимально или терминально относительно $(\text{Arg})_l;(\text{Lys})_m;(\text{His})_n;(\text{Orn})_o;(\text{Xaa})_x$. Репрезентативные примеры могут содержать любую из вышеуказанных последовательностей, фланкированных двумя остатками Cys, и имеют следующие последовательности:

Cys(Arg₇)Cys, Cys(Arg₈)Cys, Cys(Arg₉)Cys, Cys(Arg₁₀)Cys, Cys(Arg₁₁)Cys, Cys(Arg₁₂)Cys,
30 Cys(Arg₁₃)Cys, Cys(Arg₁₄)Cys, Cys(Arg₁₅)Cys, Cys(Arg₁₆)Cys, Cys(Arg₁₇)Cys, Cys(Arg₁₈)Cys,
Cys(Arg₁₉)Cys, Cys(Arg₂₀)Cys (SEQ ID NO:1-14):

CysArg₇Cys Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:1)
CysArg₈Cys Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:2)
35 CysArg₉Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:3)
CysArg₁₀Cys Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:4),
CysArg₁₁Cys Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:5),
CysArg₁₂Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:
40 6),
CysArg₁₃Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:7),
CysArg₁₄Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:8),
45 CysArg₁₅Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:9),
CysArg₁₆Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:10),

CysArg₁₇Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:11),

⁵ CysArg₁₈Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:12),

CysArg₁₉Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:13),

CysArg₂₀Cys: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (SEQ ID NO:14).

¹⁰ Этот вариант осуществления изобретения можно применять к ситуациям, когда катионный или поликатионный пептид или белок полимерного носителя, например, описываемый эмпирической формулой (Arg)_l;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x (формула (I)), которая представлена выше, модифицирован с помощью по меньшей мере двух остатков цистеина в качестве -SH-групп, как указано выше, в результате чего указанный

¹⁵ катионный или поликатионный пептид, который входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, в качестве катионного компонента, содержит по меньшей мере два остатка (терминальных) цистеина, которые могут образовывать дисульфидную связь с другими компонентами полимерного носителя.

²⁰ Согласно второму варианту по меньшей мере один катионный (или поликатионный) компонент полимерного носителя можно выбирать, например, из любого (непептидного) катионного или поликатионного полимера, пригодного для указанной цели, при условии, что этот (непептидный) катионный или поликатионный полимер содержит или модифицирован так, что содержит по меньшей мере одну -SH-группу, которая пригодна ²⁵ для образования дисульфидной связи, соединяющей катионный или поликатионный полимер с другим компонентом полимерного носителя, указанного выше. Таким образом, согласно настоящему изобретению полимерный носитель может содержать одинаковые или различные катионные или поликатионные полимеры.

³⁰ В конкретном варианте, когда катионный компонент полимерного носителя содержит (непептидный) катионный или поликатионный полимер, то катионные свойства (непептидного) катионного или поликатионного полимера можно определять на основе уровня катионных зарядов по сравнению с общим уровнем зарядов компонентов катионного полимера. Предпочтительно уровень катионных зарядов в катионном полимере при (физиологическом) значении pH, указанном в настоящем описании, ³⁵ составляет по меньшей мере 10%, 20% или 30%, предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, 60% или 70%, но также предпочтительно по меньшей мере 80%, 90% или даже 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или может находиться в диапазоне примерно от ⁴⁰ 10% до 90%, более предпочтительно в диапазоне примерно от 30% до 100%, еще более предпочтительно в диапазоне примерно от 50% до 100%, например, 50, 60, 70, 80%, 90% или 100%, или в диапазоне, границами которого являются любые два из указанных выше значений, при условии, что уровень всех зарядов, например, положительных и отрицательных зарядов при (физиологическом) значении pH, указанном в настоящем описании, во всем катионном полимере составляет 100%.

Предпочтительно (непептидный) катионный компонент полимерного носителя представляет собой катионный или поликатионный полимер, как правило, имеющий молекулярную массу примерно от 0,1 или 0,5 кДа до примерно 100 кДа, предпочтительно

от примерно 1 до примерно 75 кДа, более предпочтительно от примерно 5 до примерно 50 кДа, еще более предпочтительно от примерно 5 до примерно 30 кДа, или молекулярную массу от примерно 10 до примерно 50 кДа, еще более предпочтительно от примерно 10 до примерно 30 кДа. Кроме того, (непептидный) катионный или

5 поликатионный полимер, как правило, несет по меньшей мере одну -SH-группу, которая может образовывать дисульфидную связь при конденсации либо с любыми другими катионными компонентами, либо с другими компонентами полимерного носителя, указанного в настоящем описании.

В вышеуказанном контексте (непептидный) катионный компонент полимерного

10 носителя можно выбирать из группы, включающей акрилаты, модифицированные акрилаты, такие как pDMAEMA (поли(диметиламиноэтилметилакрилат)), хитозаны, азиридины или 2-этил-2-оксазолин (образующий олигоэтиленимины или модифицированные олигоэтиленимины), полимеры, получаемые взаимодействием бисакрилатов с аминами, которые образуют олиго-бета-аминоэфиры или

15 полиамидоамины, или другие полимеры типа сложных полиэфиров, поликарбонатов и т.д. Каждая молекула указанных (непептидных) катионных или поликатионных полимеров, как правило, несет по меньшей мере одну -SH-группу, при этом по меньшей мере одну -SH-группу можно интродуцировать в (непептидный) катионный или поликатионный полимер посредством химических модификаций, например, с

20 использованием иминотиолана, 3-тиопропионовой кислоты, или интродуцировать содержащие -SH-группы аминокислоты, такие как цистеин, или любую другую (модифицированную) аминокислоту. Указанные -SH-группы предпочтительно представляют собой уже описанные выше группы.

Касательно полимерного носителя катионные компоненты, которые образуют

25 основу полимерного носителя посредством дисульфидной поперечной связи, могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. Наиболее предпочтительным является также вариант, в котором полимерный носитель, предлагаемый в настоящем изобретении, содержит смеси катионных пептидов, белков или полимеров и необязательно дополнительных компонентов, указанных в настоящем описании,

30 которые поперечно сшиты дисульфидными связями, указанными в настоящем описании.

В этом контексте предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго молекулу, благодаря его вариабельному полимерному носителю, обладает преимуществом, состоящим в том, что позволяет объединять требуемые свойства различных (коротких) катионных или поликатионных пептидов, белков или

35 полимеров или других компонентов. Полимерный носитель, например, позволяет эффективно «уплотнить» нуклеиновые кислоты для цели эффективной трансфекции нуклеиновыми кислотами, для адьювантной терапии, для генной терапии, для «выключения» генов или других стратегий без потери активности, прежде всего он обеспечивает эффективную трансфекцию нуклеиновой кислотой различных клеточных

40 линий *in vitro*, но прежде всего трансфекцию *in vivo*. Кроме того, полимерный носитель и соответственно предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, не обладает токсичностью для клеток, обеспечивает эффективное высвобождение нуклеиновой кислоты, которая представляет собой карго-

45 молекулу, обладает стабильностью при лиофилизации, и его можно применять в качестве иммуностимулирующего агента или адьюванта. Предпочтительно комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может индуцировать антивирусный цитокин IFN-альфа.

В частности, полимерный носитель, полученный из сшитых дисульфидными связями

катионных компонентов, позволяет в широких пределах варьировать содержание в нем пептидов или полимеров и в результате относительно просто и быстро модулировать его биофизические/биохимические свойства, прежде всего кационные свойства полимерного носителя, например, путем включения такого(их) же или другого(их)

- 5 катионного(ых) пептида(ов) или полимера(ов) в качестве кационных компонентов и необязательно путем добавления других компонентов в полимерный носитель. Даже с учетом того, что полимерный носитель состоит из относительно небольших нетоксичных мономерных звеньев, он образует длинную кационную связывающую последовательность, приводя к сильной конденсации нуклеиновой кислоты,
- 10 представляющей собой карго-молекулу, и стабильности комплекса. В восстанавливающих условиях цитозоля (например, в цитозольном GSH (восстановленный глутатион)) комплекс быстро расщепляется на его (cationные) компоненты, которые дополнительно расщепляются (например, до олигопептидов). Это способствует высвобождению нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-
- 15 молекулу, в цитозоле. Благодаря расщеплению на небольшие олигопептиды или полимеры в цитозоле, не обнаружено никакой токсичности, характерной для высокомолекулярных олигопептидов или полимеров, например, высокомолекулярного полиаргинина.

Таким образом, полимерный носитель предлагаемого в изобретении комплекса, 20 содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, может включать различные (короткие) кационные или поликатионные пептиды, белки или полимеры, выбранные из кационных или поликатионных пептидов, белков или (непептидных) полимеров, которые указаны выше, необязательно в сочетании с дополнительными компонентами, указанными выше.

25 Кроме того, полимерный носитель предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, который описан выше, более предпочтительно по меньшей мере один из различных (коротких) кационных или поликатионных пептидов или (непептидных) полимеров, которые формируют основу полимерного носителя посредством дисульфидной поперечной связи, можно, 30 предпочтительно перед осуществлением поперечного сшивания посредством дисульфидных связей, модифицировать с помощью по меньшей мере одного дополнительного компонента. В альтернативном варианте сам полимерный носитель можно модифицировать с помощью по меньшей мере одного дополнительного компонента. Он необязательно может также содержать по меньшей мере один 35 дополнительный компонент, который, как правило, образует дисульфид полимерного носителя в сочетании с другими (короткими) кационными или поликатионными пептидами, описанными выше, посредством поперечного сшивания с помощью дисульфидных связей.

Для обеспечения модификации кационного или поликатионного пептида или 40 (непептидного) полимера, указанного выше, каждый из компонентов полимерного носителя (предпочтительно до образования дисульфидной поперечной связи) может содержать также по меньшей мере один дополнительный функциональный фрагмент, который позволяет присоединять указанные дополнительные компоненты, представленные в настоящем описании. Указанные функциональные фрагменты можно 45 выбирать из функциональностей, которые позволяют присоединять дополнительные компоненты, например, функциональности, которые указаны в настоящем описании, например, путем образования амида (например, карбоновые кислоты, сульфоновые кислоты, амины и т.д.), путем присоединения с помощью реакции Михаэля (например,

малеинимидные фрагменты, α,β -ненасыщенные карбонилы и т.д.), посредством химии (например, азиды или алкины), путем алкен/алкинового метатезиса (например, алкены или алкины), путем образования имина или гидразона (альдегиды или кетоны, гидразины, гидрозиламины, амины), путем реакций комплексообразования (авидин, биотин, белок G) или применения компонентов, которые позволяют осуществлять реакции замещения S_n -типа (например, галогеналканы, тиолы, спирты, амины, гидразины, гидразилы, эфиры сульфоновых кислот, соли оксифосфония), или других химических остатков, которые можно применять для присоединения других компонентов.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения дополнительный компонент, который может входить в состав полимерного носителя или который можно применять для модификации различных (коротких) катионных или поликатионных пептидов или (непептидных) полимеров, которые образуют основу полимерного носителя предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, представляет собой аминокислотный компонент (АК), который может, например, модифицировать биофизические/биохимические свойства полимерного носителя, указанного в настоящем описании. Согласно настоящему изобретению количество аминокислот в аминокислотном компоненте (АК) составляет примерно от 1 до 100, предпочтительно примерно от 1 до 50, более предпочтительно оно выбрано из ряда, включающего 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15-20 аминокислот, или его можно выбирать из диапазона, границами которого являются любые два из вышеуказанных значений. В этом контексте аминокислоты аминокислотного компонента (АК) можно выбирать независимо друг от друга. Например, если в полимерном носителе присутствуют два или большее количество (АК)-компонентов, то они могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга.

Аминокислотный компонент (АК) может содержать или может быть фланкирован (например, терминально) содержащим -SH-группу фрагментом, что позволяет интродуцировать этот компонент (АК) посредством образования дисульфидной связи в полимерном носителе, указанном в настоящем описании. В конкретном варианте, в котором содержащий -SH-группу фрагмент представляет собой цистеин, аминокислотный компонент (АК) может тоже представлять собой -Cys-(АК)-Cys-, в котором Cys обозначает цистеин, и он является источником необходимой для образования дисульфидной связи -SH-группы. Содержащий -SH-группу фрагмент можно интродуцировать также в аминокислотный компонент (АК) с помощью любых модификаций или реакций, указанных выше для катионного компонента или любых его компонентов.

Кроме того, аминокислотный компонент (АК) может являться источником двух (или даже большего количества) -SH-групп, например в форме, описываемой формулой HS-(АК)-SH, что обеспечивает связывание с двумя функциональностями через дисульфидные мостики, например, если аминокислотный компонент (АК) применяют в качестве линкера между двумя дополнительными компонентами (например, в качестве линкера между двумя катионными полимерами). В этом случае одну -SH-группу предпочтительно на первой стадии защищают согласно методу, известному в данной области, с получением аминокислотного компонента (АК) формулы HS-(АК)-S-защитная группа. Затем аминокислотный компонент (АК) можно связывать с другим компонентом полимерного носителя, формируя первую дисульфидную связь через незащищенную -SH-группу. Затем, как правило, удаляют защитную группу у защищенной -SH-группы

и связывают с другой свободной -SH-группой или другим компонентом полимерного носителя, формируя вторую дисульфидную связь.

В альтернативном варианте аминокислотный компонент (АК) может нести другие функциональности, описанные выше для других компонентов полимерного носителя, что позволяет связывать аминокислотный компонент (АК) с любыми компонентами полимерного носителя.

Таким образом, согласно настоящему изобретению аминокислотный компонент (АК) можно связывать с другими компонентами полимерного носителя с помощью дисульфидной связи или без нее. Связывание без использования дисульфидной связи можно осуществлять с помощью любых реакций, описанных выше, предпочтительно путем связывания аминокислотного компонента (АК) с другим компонентом полимерного носителя с помощью амидной химии, представленной в настоящем описании. Если желательно или необходимо, то другой конец аминокислотного компонента (АК), например, N-или C-конец, можно применять для присоединения другого компонента, например, лиганда L. Для этой цели другой конец аминокислотного компонента (АК) предпочтительно содержит или его модифицируют так, чтобы он содержал дополнительную функциональность, например, алкины (см. выше), которые можно применять для добавления другого компонента, например, с помощьюクリック-химии. Если лиганд связан через кислотно-лабильную связь, то связь предпочтительно расщепляется в эндосоме, и полимерный носитель презентует аминокислотный компонент (АК) на своей поверхности.

Аминокислотный компонент (АК) может присутствовать в качестве дополнительного компонента полимерного носителя, описанного выше, например, в качестве линкера между катионными компонентами, например, в качестве линкера между одним катионным пептидом и другим катионным пептидом, в качестве линкера между одним катионным полимером и другим катионным полимером, в качестве линкера между одним катионным пептидом и катионным полимером, которые все предпочтительно описаны выше, или в качестве дополнительного компонента полимерного носителя, например, при связывании аминокислотного компонента (АК) с полимерным носителем или его компонентом, например, через боковые цепи, SH-группы или через дополнительные фрагменты, указанные в настоящем описании, при этом аминокислотный компонент (АК) предпочтительно является соответствующим образом модифицированным.

Согласно альтернативному и наиболее предпочтительному варианту аминокислотный компонент (АК) можно применять для модификации полимерного носителя, прежде всего содержания катионных компонентов в полимерном носителе, указанном выше.

В этом контексте предпочтительным является вариант, в котором содержание катионных компонентов в полимерном носителе составляет по меньшей мере 10%, 20% или 30%, предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, 60% или 70%, но предпочтительно также по меньшей мере 80%, 90% или даже 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или указанное содержание может находиться в диапазоне примерно от 30% до 100%, более предпочтительно в диапазоне примерно от 50% до 100%, еще более предпочтительно в диапазоне примерно от 70% до 100%, например, 70, 80, 90 или 100%, или в диапазоне, границами которого являются любые два из вышеуказанных значений, при условии, что содержание всех компонентов в полимерном носителе принимают за 100%.

В контексте настоящего изобретения аминокислотный компонент (АК) можно

выбирать из предлагаемых ниже вариантов.

Согласно первому варианту аминокислотный компонент (АК) может представлять собой ароматический аминокислотный компонент (АК). Включение ароматических аминокислот или последовательностей в качестве ароматического аминокислотного компонента (АК) в полимерный носитель, предлагаемый в настоящем изобретении, обеспечивает другой (второй) путь связывания полимерного носителя с нуклеиновой кислотой посредством взаимодействий ароматических аминокислот с основаниями нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в отличие от пути связывания посредством имеющих катионный заряд последовательностей молекулы полимерного носителя с фосфатным каркасом. Это взаимодействие может происходить, например, путем интеркаляций или путем связывания с малой или большой бороздкой. Этот тип взаимодействия не подвержен деконденсации анионными партнерами по комплексообразованию (такими, например, как гепарин, гиалуроновые кислоты), которые присутствуют в основном во внеклеточном матриксе *in vivo* и также обладают пониженней чувствительностью к действию солей.

Для этой цели аминокислоты, входящие в ароматический аминокислотный компонент (АК), можно выбирать либо из одинаковых, либо из различных ароматических аминокислот, например, выбирать из Trp, Tug или Phe. Альтернативно этому аминокислоты (или весь ароматический аминокислотный компонент (АК)) можно выбирать из следующих комбинаций пептидов Trp-Tyr, Tug-Trp, Trp-Trp, Tug-Tug, Trp-Tyr-Trp, Tyr-Trp-Tug, Trp-Trp-Trp, Tyr-Tug-Tug, Trp-Tug-Trp-Tug, Tug-Trp-Tug-Trp, Trp-Trp-Trp-Trp, Phe-Tyr, Tyf-Phe, Phe-Phe, Phe-Tyr-Phe, Tyr-Phe-Tug, Phe-Phe-Phe, Phe-Tyr-Phe-Tug, Tyr-Phe-Tug-Phe, Phe-Phe-Phe-Phe, Phe-Trp, Trp-Phe, Phe-Phe, Phe-Trp-Phe, Trp-Phe-Trp, Phe-Trp-Phe-Trp, Trp-Phe-Trp-Phe или Tug-Tug-Tug-Tug и т.д. (SEQ ID NO:15-42). Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

Кроме того, ароматический аминокислотный компонент (АК) может содержать или его может фланкировать содержащий -SH-группу фрагмент, что позволяет интродуцировать этот компонент с помощью дисуфидной связи в качестве дополнительной части полимерного носителя, описанного выше, например, в качестве линкера. Указанный содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой любой фрагмент, указанный в настоящем описании, пригодный для спшивания одного компонента, указанного в настоящем описании, с другим компонентом, указанным в настоящем описании. Например, такой содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой цистеин. Кроме того, например, ароматический аминокислотный компонент (АК) можно выбирать, например, из следующих пептидных комбинаций: Cys-Tyr-Cys, Cys-Trp-Cys, Cys-Trp-Tyr-Cys, Cys-Tyr-Trp-Cys, Cys-Trp-Trp-Cys, Cys-Tyr-Tyr-Cys, Cys-Trp-Tyr-Trp-Cys, Cys-Tyr-Trp-Tyr-Cys, Cys-Trp-Trp-Trp-Cys, Cys-Tyr-Tyr-Tyr-Cys, Cys-Trp-Tyr-Trp-Tyr-Cys, Cys-Tyr-Trp-Tyr-Trp-Cys, Cys-Trp-Trp-Trp-Trp-Cys, Cys-Tyr-Tyr-Tyr-Cys, Cys-Phe-Cys, Cys-Phe-Tyr-Cys, Cys-Tyr-Phe-Cys, Cys-Phe-Phe-Cys, Cys-Tyr-Tyr-Cys, Cys-Phe-Tyr-Phe-Cys, Cys-Tyr-Phe-Tyr-Cys, Cys-Phe-Phe-Phe-Cys, Cys-Tyr-Tyr-Tyr-Cys, Cys-Phe-Tyr-Phe-Tyr-Cys, Cys-Tyr-Phe-Tyr-Phe-Cys, or Cys-Phe-Phe-Phe-Cys, Cys-Phe-Trp-Cys, Cys-Trp-Phe-Cys, Cys-Phe-Phe-Cys, Cys-Phe-Trp-Phe-Cys, Cys-Trp-Phe-Trp-Cys, Cys-Phe-Trp-Trp-Cys, Cys-Trp-Phe-Trp-Phe-Cys и т.д. Каждый из указанных выше Cys можно заменять также на любой модифицированный пептид или химическое соединение, несущее свободную -SH-группу, указанное в настоящем описании (SEQ ID NO:43-75). Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,

10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

Кроме того, ароматический аминокислотный компонент (АК) может содержать или представлять собой по меньшей мере один пролин, предпочтительно два, три или 5 большее количество остатков пролина, который(е) может(ут) служить структурным «прерывателем» более длинных последовательностей Trp, Tug и Phe в ароматическом аминокислотном компоненте (АК).

Согласно второму варианту аминокислотный компонент (АК) может представлять собой гидрофильный (и предпочтительно незаряженный полярный) аминокислотный 10 компонент (АК). Включение гидрофильных (и предпочтительно незаряженных полярных) аминокислот или последовательностей в качестве гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК) в полимерный носитель, предлагаемый в настоящем изобретении, позволяет осуществлять более гибкое связывание с нуклеиновой кислотой, представляющей собой карго- 15 молекулу. Этот приводит к более эффективному «уплотнению» нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, и поэтому к повышенной защите от нуклеаз и нежелательной деконденсации. Это позволяет также получать (длинный) полимерный носитель, имеющий пониженный катионный заряд по сравнению с полным носителем, и, в этом контексте, обладающий улучшенными связывающими способностями, если 20 это является желательным или необходимым.

Для этой цели аминокислоты в гидрофильном (и предпочтительно незаряженном полярном) аминокислотном компоненте (АК) можно выбирать из одинаковых или различных гидрофильных (и предпочтительно незаряженных полярных) аминокислот, например, выбирать из Thr, Ser, Asn или Gln. Альтернативно этому аминокислоты (или 25 весь гидрофильный (и предпочтительно незаряженный полярный) аминокислотный компонент (АК)) можно выбирать из следующих пептидных комбинаций: Ser-Thr, Thr-Ser, Ser-Ser, Thr-Thr, Ser-Thr-Ser, Thr-Ser-Thr, Ser-Ser-Ser, Thr-Thr-Thr, Ser-Thr-Ser-Thr, Thr-Ser-Thr-Ser, Ser-Ser-Ser-Ser, Thr-Thr-Thr-Thr, Gln-Asn, Asn-Gln, Gln-Gln, Asn-Asn, Gln-Asn-Gln, Asn-Gln-Asn, Gln-Gln-Gln, Asn-Asn-Asn, Gln-Asn-Gln-Asn, Asn-Gln-Asn-Gln, Gln-Gln-Gln, Asn-Asn-Asn-Asn, Ser-Asn, Asn-Ser, Ser-Ser, Asn-Asn, Ser-Asn-Ser, Asn-Ser-Asn, 30 Ser-Ser-Ser, Asn-Asn-Asn, Ser-Asn-Ser-Asn, Asn-Ser-Asn-Ser, Ser-Ser-Ser-Ser или Asn-Asn-Asn-Asn и т.д. (SEQ ID NO:76-111). Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно также объединять друг с другом.

Кроме того, гидрофильный (и предпочтительно незаряженный полярный) аминокислотный компонент (АК) может содержать или его может фланкировать 35 содержащий -SH-группу фрагмент, что позволяет интродуцировать этот компонент через дисульфидную связь в качестве дополнительной части соединения общей формулы (I), выше, например, в качестве линкера. Указанный содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой любой фрагмент, указанный в настоящем описании, пригодный для сшивания одного компонента, указанного в настоящем описании, с другим компонентом, указанным в настоящем описании. Например, такой содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой цистеин. Кроме того, гидрофильный (и предпочтительно незаряженный полярный) аминокислотный компонент (АК) можно 40 выбирать, например, из следующих пептидных комбинаций: Cys-Thr-Cys, Cys-Ser-Cys, Cys-Ser-Thr-Cys, Cys-Thr-Ser-Cys, Cys-Ser-Ser-Cys, Cys-Thr-Thr-Cys, Cys-Ser-Thr-Ser-Cys, Cys-Thr-Ser-Thr-Cys, Cys-Ser-Ser-Ser-Cys, Cys-Thr-Thr-Cys, Cys-Ser-Thr-Ser-Thr-Cys, Cys-Thr-Ser-Thr-Ser-Cys, Cys-Ser-Ser-Ser-Cys, Cys-Thr-Thr-Thr-Cys, Cys-Asn-Cys,

- Cys-Gln-Cys, Cys-Gln-Asn-Cys, Cys-Asn-Gln-Cys, Cys-Gln-Gln-Cys, Cys-Asn-Asn-Cys, Cys-Gln-Asn-Gln-Cys, Cys-Asn-Gln-Asn-Cys, Cys-Gln-Gln-Gln-Cys, Cys-Asn-Asn-Asn-Cys, Cys-Gln-Asn-Gln-Asn-Cys, Cys-Asn-Gln-Gln-Cys, Cys-Gln-Gln-Gln-Cys, Cys-Asn-Asn-Asn-Cys, Cys-Asn-Cys, Cys-Ser-Cys, Cys-Ser-Asn-Cys, Cys-Asn-Ser-Cys, Cys-Ser-Ser-Cys, Cys-Asn-Asn-Cys, Cys-Ser-Asn-Ser-Cys, Cys-Asn-Ser-Asn-Cys, Cys-Ser-Ser-Ser-Cys, Cys-Asn-Asn-Cys, Cys-Ser-Asn-Ser-Asn-Cys, Cys-Asn-Ser-Asn-Cys, Cys-Ser-Ser-Ser-Cys или Cys-Asn-Asn-Asn-Cys и т.д. Каждый из указанных выше Cys можно заменять также на любой модифицированный пептид или химическое соединение, несущее свободную -SH-группу, указанное в настоящем описании (SEQ ID NO:112-153).
- Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

Кроме того, гидрофильный (и предпочтительно незаряженный полярный) аминокислотный компонент (АК) может содержать по меньшей мере один пролин, который может служить структурным «прерывателем» более длинных последовательностей Ser, Thr и Asn в гидрофильном (и предпочтительно незаряженном полярном) аминокислотном компоненте (АК), предпочтительно два, три или большее количество остатков пролина.

Согласно третьему варианту аминокислотный компонент (АК) может представлять собой липофильный аминокислотный компонент (АК). Включение липофильных аминокислот или последовательностей в качестве липофильного аминокислотного компонента (АК) в полимерный носитель, предлагаемый в настоящем изобретении, позволяет сильнее «уплотнить» нуклеиновую кислоту, представляющую собой карго-молекулу, и/или полимерный носитель и нуклеиновую кислоту, представляющую собой карго-молекулу, при комплексообразовании. Это прежде всего связано с взаимодействиями одной или нескольких полимерных цепей полимерного носителя, в частности липофильных сегментов липофильного аминокислотного компонента (АК) и нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу. Это взаимодействие предпочтительно приводит к дополнительной стабильности комплекса, который содержит полимерный носитель и нуклеиновую кислоту, представляющую собой карго-молекулу. Указанную стабилизацию можно в некоторой степени сравнивать со стабилизацией, обеспечиваемой определенным видом нековалентного поперечного связывания между различными полимерными цепями. Указанное взаимодействие, как правило, является сильным и обеспечивает значительное действие прежде всего в водном окружении.

Для этой цели аминокислоты в липофильном аминокислотном компоненте (АК) можно выбирать из одинаковых или различных липофильных аминокислот, например, выбирать из Leu, Val, Ile, Ala, Met. Альтернативно этому аминокислоты АК (или полного липофильного аминокислотного компонента (АК)) можно выбирать из следующих пептидных комбинаций: Leu-Val, Val-Leu, Leu-Leu, Val-Val, Leu-Val-Leu, Val-Leu-Val, Leu-Leu-Leu, Val-Val-Val, Leu-Val-Leu-Val, Val-Leu-Val-Leu, Leu-Leu-Leu-Leu, Val-Val-Val-Val, Ile-Ala, Ala-Ile, Ile-Ile, Ala-Ala, Ile-Ala-Ile, Ala-Ile-Ala, Ile-Ile-Ile, Ala-Ala-Ala, Ile-Ala-Ile-Ala, Ala-Ile-Ala-Ile, Ile-Ile-Ile-Ile, Ala-Ala-Ala-Ala, Met-Ala, Ala-Met, Met-Met, Ala-Ala, Met-Ala-Met, Ala-Met-Ala, Met-Met-Met, Ala-Ala-Ala, Met-Ala-Met-Ala, Ala-Met-Ala-Met или Met-Met-Met-Met и т.д. (SEQ ID NO:154-188) Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

Кроме того, липофильный аминокислотный компонент (АК) может содержать или

его может фланкировать содержащий -SH-группу фрагмент, что позволяет интродуцировать этот компонент с помощью дисуфидной связи в качестве дополнительной части полимерного носителя, описанного выше, например, в качестве линкера. Указанный содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой

- 5 любой фрагмент, указанный в настоящем описании, пригодный для сшивания одного компонента, указанного в настоящем описании, с другим компонентом, указанным в настоящем описании. Например, такой содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой цистеин. Кроме того, например, липофильный аминокислотный компонент (АК) можно выбирать, например, из следующих пептидных комбинаций:
- 10 Cys-Val-Cys, Cys-Leu-Cys, Cys-Leu-Val-Cys, Cys-Val-Leu-Cys, Cys-Leu-Leu-Cys, Cys-Val-Val-Cys, Cys-Leu-Val-Leu-Cys, Cys-Val-Leu-Val-Cys, Cys-Leu-Leu-Leu-Cys, Cys-Val-Val-Val-Cys, Cys-Leu-Val-Leu-Val-Cys, Cys-Val-Leu-Val-Leu-Cys, Cys-Leu-Leu-Leu-Cys, Cys-Val-Val-Val-Val-Cys, Cys-Ala-Cys, Cys-Ile-Cys, Cys-Ile-Ala-Cys, Cys-Ala-Ile-Cys, Cys-Ile-Ile-Cys, Cys-Ala-Ala-Cys, Cys-Ile-Ala-Ile-Cys, Cys-Ala-Ile-Ala-Cys, Cys-Ile-Ile-Ile-Cys,
- 15 or Cys-Ala-Ala-Ala-Cys, Cys-Met-Cys, Cys-Met-Ala-Cys, Cys-Ala-Met-Cys, Cys-Met-Met-Cys, Cys-Ala-Ala-Cys, Cys-Met-Ala-Met-Cys, Cys-Ala-Met-Ala-Cys, Cys-Met-Met-Met-Cys, Cys-Ala-Ala-Ala-Cys, Cys-Met-Ala-Met-Ala-Cys, Cys-Ala-Met-Ala-Met-Cys, Cys-Met-Met-Met-Cys или Cys-Ala-Ala-Ala-Ala-Cys и т.д. Каждый указанный выше Cys можно
- 20 заменять также на любой модифицированный пептид или несущее свободную -SH- группу химическое соединение, указанное в настоящем описании (SEQ ID NO:189-229). Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

25 Кроме того, липофильный аминокислотный компонент (АК) может содержать по меньшей мере один пролин, который может служить структурным «прерывателем» более длинных последовательностей Leu, Val, Ile, Ala и Met в липофильном аминокислотном компоненте (АК), предпочтительно два, три или большее количество остатков пролина.

- 30 И, наконец, согласно четвертому варианту аминокислотный компонент (АК) может представлять собой слабоосновный аминокислотный компонент (АК). Включение слабоосновных аминокислот или последовательностей в качестве слабоосновного аминокислотного компонента (АК) в полимерный носитель, предлагаемый в настоящем изобретении, может служить в качестве «протонной губки» и облегчает выделение в
- 35 эндосому (называемое также эндосомальным высвобождением) (эффект «протонной губки»). Включение указанного слабоосновного аминокислотного компонента (АК) предпочтительно повышает эффективность трансфекции.

Для этой цели аминокислоты, входящие в состав слабоосновного аминокислотного компонента (АК), можно выбирать из одинаковых или различных слабоосновных аминокислот, например, выбирать из гистидина или аспартата (аспарагиновая кислота). Альтернативно этому слабоосновные аминокислоты (или полный слабоосновный аминокислотный компонент (АК)) можно выбирать из следующих пептидных комбинаций: Asp-His, His-Asp, Asp-Asp, His-His, Asp-His-Asp, His-Asp-His, Asp-Asp-Asp, His-His-His, Asp-His-Asp-His, His-Asp-His-Asp, Asp-Asp-Asp-Asp или His-His-His и т.д. (SEQ ID NO:230-241). Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

Кроме того, слабоосновный аминокислотный компонент (АК) может содержать или

его может фланкировать содержащий -SH-группу фрагмент, что позволяет интродуцировать этот компонент через дисульфидную связь в качестве дополнительной части соединения общей формулы (I), выше, например, в качестве линкера. Указанный содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой любой фрагмент,

- 5 указанный в настоящем описании, пригодный для сшивания одного компонента, указанного в настоящем описании, с другим компонентом, указанным в настоящем описании. Например, такой содержащий -SH-группу фрагмент может представлять собой цистеин. Кроме того, например, слабоосновный аминокислотный компонент (АК) можно выбирать, например, из следующих пептидных комбинаций: Cys-His-Cys,
- 10 Cys-Asp-Cys, Cys-Asp-His-Cys, Cys-His-Asp-Cys, Cys-Asp-Asp-Cys, Cys-His-His-Cys, Cys-Asp-His-Asp-Cys, Cys-His-Asp-His-Cys, Cys-Asp-Asp-Asp-Cys, Cys-His-His-His-Cys, Cys-Asp-His-Asp-His-Cys, Cys-His-Asp-Asp-Cys, Cys-Asp-Asp-Asp-Cys или Cys-His-His-His-His-Cys и т.д. Каждый указанный выше Cys можно заменять также на любой модифицированный пептид или несущее свободную - SH-группу химическое соединение,
- 15 указанное в настоящем описании (SEQ ID NO:242-255). Указанные пептидные комбинации могут повторяться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 или большее число раз. Указанные пептидные комбинации можно объединять также друг с другом.

Кроме того, слабоосновный аминокислотный компонент (АК) может содержать по 20 меньшей мере один пролин, который может служить структурным «прерывателем» более длинных последовательностей гистидина или аспартата (аспарагиновая кислота) в слабоосновном аминокислотном компоненте (АК), предпочтительно два, три или большее количество остатков пролина.

Согласно пятому варианту аминокислотный компонент (АК) может представлять собой сигнальный пептид или сигнальную последовательность, сигнал или последовательность локализации, сигнал или последовательность ядерной локализации (NLS), антитело, обеспечивающий проникновение в клетку пептид (например, TAT) и т.д. Предпочтительно аминокислотный компонент (АК) связан с полимерным носителем или другим компонентом полимерного носителя через (обратимую) дисульфидную связь. В этом контексте сигнальный пептид или сигнальная последовательность, сигнал или последовательность локализации, сигнал или последовательность ядерной локализации (NLS), антитело, обеспечивающий проникновение в клетку пептид (например, TAT) и т.д. дополнительно содержат по меньшей мере одну -SH-группу. В этом контексте сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации, сигнал или последовательность ядерной локализации (NLS) можно использовать для направленного переноса предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, к конкретной клетке-мишени (например, гепатоцитам или антигенпрезентирующими клеткам), и предпочтительно они обеспечивают транслокализацию полимерного носителя к специфической мишени, 40 например, в клетку, ядро, эндосомальный компартмент, представляют собой последовательности, обеспечивающие локализацию в митохондриальном матриксе, последовательности, обеспечивающие локализацию в плазматической мемbrane, в комплексе Гольджи, ядре, цитоплазме и цитосклете и т.д. Указанные сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации можно 45 применять для переноса любых указанных в настоящем описании нуклеиновых кислот, предпочтительно РНК или ДНК, более предпочтительно shРНК или пДНК, например, в ядро. Указанные сигнальный пептид, сигнал или последовательность, обеспечивающие локализацию, или сигнал ядерной локализации могут содержать (но, не ограничиваясь

только ими), например, последовательности, обеспечивающие локализацию в эндоплазматическом ретикулуме. Конкретные сигналы или последовательности локализации или сигналы ядерной локализации могут представлять собой, например, KDEL (SEQ ID NO:256), DDEL (SEQ ID NO:257), DEEL (SEQ ID NO:258), QEDL (SEQ ID NO:259), RDEL (SEQ ID NO:260) и GQNLSTSN (SEQ ID NO:261), сигналы ядерной локализации, такие как PKKKRKV (SEQ ID NO:262), PQKKIKS (SEQ ID NO:263), QPKKP (SEQ ID NO:264), RKKR (SEQ ID NO:265), RKKRRQRRRAHQ (SEQ ID NO:266), RQARR NRRRRWRERQR (SEQ ID NO:267), MPLRRRPAASQALAPPTP (SEQ ID NO:268), GAALTILV (SEQ ID NO:269) и GAALTLLG (SEQ ID NO:270), последовательности, 5 обеспечивающие локализацию в эндосомальном компартменте, такие как MDDQRDLISNNEQLP (SEQ ID NO:271), последовательности, обеспечивающие локализацию в митохондриальном матриксе, такие как MLFNLRXXLNNAFRHGHNF MVRNFRCGQPLX (SEQ ID NO:272), последовательности, обеспечивающие локализацию в плазматической мембране: GCVCSSNP (SEQ ID NO:273), GQTVTTPL (SEQ ID NO:274), 10 15 GQELSQHE (SEQ ID NO:275), GNSPSYNP (SEQ ID NO:276), GVSGSKGQ (SEQ ID NO: 277), GQTITTP (SEQ ID NO:278), GQTLTTPL (SEQ ID NO:279), GQIFRSA (SEQ ID NO: 280), GQIHGLSP (SEQ ID NO:281), GARASVLS (SEQ ID NO:282) и GCTLSAEE (SEQ ID NO:283), последовательности, обеспечивающие локализацию в эндоплазматическом ретикулуме и ядре, такие как GAQVSSQK (SEQ ID NO:284) и GAQLSRNT (SEQ ID NO: 20 25 285), последовательности, обеспечивающие локализацию в комплексе Гольджи, ядре, цитоплазме и цитоскелете, такие как GNAAAACK (SEQ ID NO:286), последовательности, обеспечивающие локализацию в цитоплазме и цитоскелете, такие как GNEASYPL (SEQ ID NO:287), последовательности, обеспечивающие локализацию в плазматической мембране и цитоскелете, такие как GSSKSKPK (SEQ ID NO:288) и т.д. Примерами 30 35 секреторных сигнальных пептидных последовательностей, указанных в настоящем описании, являются (но не ограничиваясь только ими) сигнальные последовательности классических или неклассических ГКГ-молекул (например, сигнальные последовательности молекул ГКГ классов I и II, например, молекулы ГКГ класса I HLA-A*0201), сигнальные последовательности цитокинов или иммуноглобулинов, 40 45 указанных в настоящем описании, сигнальные молекулы инвариантной цепи иммуноглобулинов или антител, указанных в настоящем описании, сигнальные последовательности Lamp1, тапазина, Erp57, калретикулина, калнексина и других ассоциированных с мембраной белков или белков, ассоциированных с эндоплазматическим ретикулумом (ЭР) или эндосомальным-лизосомальным компартментом. Наиболее предпочтительно согласно настоящему изобретению можно применять сигнальные последовательности молекулы ГКГ класса I HLA-A*0201. Указанный дополнительный компонент можно связывать, например, с катионным полимером или любым другим компонентом полимерного носителя, указанного в настоящем описании. Предпочтительно указанный сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал или последовательность ядерной локализации (NLS) связывают с полимерным носителем или другим компонентом полимерного носителя через (обратимую) дисульфидную связь. Для этой цели (АК)-компонент дополнительно содержит по меньшей мере одну -SH-группу, указанную в настоящем описании. Связывание с любым из компонентов полимерного носителя можно осуществлять также с помощью кислотно-лабильной связи, предпочтительно через боковую цепь любого из компонентов полимерного носителя, которая позволяет отделять или высвобождать дополнительный компонент при низких значениях pH, например, при физиологических значениях pH, указанных в настоящем описании.

Кроме того, согласно другому альтернативному варианту аминокислотный компонент (АК) может представлять собой функциональный пептид или белок, который может соответственно модулировать функциональность полимерного носителя. Такие функциональные пептиды или белки в качестве аминокислотного компонента (АК)

5 предпочтительно представляют собой любые пептиды или белки, указанные в настоящем описании, например, указанные ниже в качестве терапевтически активных белков. Согласно одному из вариантов указанные дополнительные функциональные пептиды или белки могут содержать так называемые пептиды, обладающие способностью проникать в клетку (CPP), или катионные пептиды для транспортировки. Наиболее

10 предпочтительными являются CPP, которые индуцируют опосредуемое значением рН конформационное изменение в эндосоме и приводят к улучшенному высвобождению полимерного носителя (в комплексе с нуклеиновой кислотой) из эндосомы путем встраивания в липидный слой липосомы. Указанные пептиды, обладающие способностью проникать в клетку (CPP), или катионные пептиды для транспортировки

15 могут представлять собой (но, не ограничиваясь только ими) протамин, нуклеолин, спермин или спермидин, олиго- или поли-L-лизин (PLL), основные полипептиды, олиго- или полиаргинин, обладающие способностью проникать в клетку пептиды (CPP), химерные CPP, такие как транспортан, или MPG-пептиды, ВИЧ-связывающие пептиды. Tat, ВИЧ-1 Tat (ВИЧ), выведенные из Tat пептиды, представители семейства пенетратина,

20 например, пенетратин, выведенные из *Antennapedia* пептиды (прежде всего из *Drosophila antennapedia*), pAntp, pIsl и т.д., выведенные из антимикробных пептидов CPP, например, буфорин-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, выведенные из hCT пептиды, SAP, MAP, KALA, PpTG20, L-олигомер, FGF, лактоферрин, гистоны, полученные из VP22 пептиды или аналоги, HSV, VP22 (вирус герпеса простого), MAP, KALA или домены трансдукции

25 белков (PTD), PpT620, богатые пролином пептиды, богатые аргинином пептиды, Рер-1, L-олигомеры, пептид(ы) кальцитонина и т.д. Указанный аминокислотный компонент (АК) можно связывать также с любым компонентом полимерного носителя, указанного в настоящем описании. Предпочтительно его связывают с полимерным носителем или другим компонентом полимерного носителя через (обратимую) дисульфидную связь.

30 Для этой цели аминокислотный компонент (АК) дополнительно содержит по меньшей мере одну -SH-группу, указанную в настоящем описании. Связывание с любым из компонентов полимерного носителя можно осуществлять также с помощью -SH-группы или кислотно-лабильной связи, предпочтительно через боковую цепь любого из компонентов полимерного носителя, которая позволяет отделять или высвобождать

35 дополнительный компонент при низких значениях рН, например, при физиологических значениях рН, указанных в настоящем описании.

Согласно последнему из рассматриваемых вариантов аминокислотный компонент (АК) может состоять из любых пептидов или белков, которые могут осуществлять любую важную функцию в клетке. Наиболее предпочтительными являются пептиды

40 или белки, выбранные из терапевтически активных белков или пептидов, из антигенов, например, опухолевых антигенов, патогенных антигенов (животные антигены, вирусные антигены, антигены простейших, бактериальные антигены, аллергические антигены), аутоиммунные антигены или другие антигены, из allergenов, из антител, из иммуностимулирующих белков или пептидов, из антигенспецифических Т-клеточных

45 рецепторов или из любого другого белка или пептида, пригодного для конкретного (терапевтического) применения, что будет описано ниже для кодирующих нуклеиновых кислот. Наиболее предпочтительными являются пептидные эпитопы указанных в настоящем описании антигенов.

Полимерный носитель может содержать по меньшей мере один из вышеуказанных катионных или поликатионных пептидов, белков или дополнительных компонентов, например (АК), при этом любой из вышеуказанных вариантов можно объединять друг с другом и их можно получать путем полимеризации с помощью реакции

5 конденсирующей полимеризации с участием их -SH-групп.

Согласно другому объекту изобретения полимерный носитель предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, или его индивидуальные компоненты, например, вышеуказанные катионные или поликатионные пептиды, белки или полимеры, или дополнительные компоненты, например (АК),

10 можно дополнительно модифицировать лигандом, предпочтительно углеводом, более предпочтительно сахаром, еще более предпочтительно маннозой. Предпочтительно указанный лиганд связывают с полимерным носителем или с компонентом полимерного носителя через (обратимую) дисульфидную связь или путем присоединения с помощью 15 реакции Михаэля. В том случае, когда лиганд присоединяют с помощью дисульфидной связи, лиганд дополнительно содержит по меньшей мере одну -SH-группу. Эти лиганды можно применять для направленного переноса предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, к специфическим клеткам-мишеням (например, гепатоциты или антигенпрезентирующие клетки). В этом контексте 20 в том случае, когда мишенью являются дендритные клетки, прежде всего для вакцинации или адьювантной терапии, наиболее предпочтительной в качестве лиганда является манноза.

Согласно следующему объекту изобретения предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может содержать (АК)-компоненты, указанные выше, которые не содержат -SB-группу. Такие (АК)-компоненты 25 можно добавлять до или в процессе реакции комплексообразования по меньшей мере с одной молекулой нуклеиновой кислоты. При этом (АК)-компонент(ы) (нековалентно) включается(ются) в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, без включения (АК)-компонента(ов) в сам полимерный носитель путем (ковалентной) полимеризации.

Согласно одному из конкретных вариантов осуществления изобретения полный предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, можно получать путем конденсационной полимеризации (по меньшей мере одной) указанных выше катионных или поликатионных пептидов, белков или полимеров или дополнительных компонентов, например, (АК), через их -SH-группы на первой 30 стадии и получения комплекса нукleinовой кислоты с указанным полимерным носителем на второй стадии. В результате полимерный носитель может содержать некоторое количество, например, по меньшей мере один или даже несколько одинаковых или различных вышеуказанных катионных или поликатионных пептидов, белков или полимеров или дополнительных компонентов, например (АК), где их количество 35 40 предпочтительно находится в указанном выше диапазоне.

Согласно одному из альтернативных конкретных вариантов осуществления изобретения предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, получают, осуществляя конденсационную полимеризацию по меньшей мере одного из вышеуказанных катионных или поликатионных пептидов, белков или 45 полимеров или дополнительных компонентов, например (АК), через -SH-группы одновременно с образованием комплекса, содержащего нукleinовую кислоту, представляющую собой карго-молекулу, и (полученный *in situ*) полимерный носитель. Аналогично вышесказанному, в результате полимерный носитель может содержать

некоторое количество, например, по меньшей мере один или даже несколько одинаковых или различных вышеуказанных катионных или поликатионных пептидов, белков или полимеров или дополнительных компонентов, например (АК), где их количество предпочтительно находится в указанном выше диапазоне.

- 5 Предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, дополнительно содержит в качестве карго по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту (молекулу). В контексте настоящего изобретения указанная молекула нуклеиновой кислоты может представлять собой любую приемлемую нуклеиновую кислоту, выбранную, например, из любой (одноцепочечной или двухцепочечной) ДНК,
- 10 предпочтительно (но, не ограничиваясь только ими), например, геномной ДНК, одноцепочечных молекул ДНК, двухцепочечных молекул ДНК, кодирующей ДНК, ДНК-праймеров, ДНК-зондов, иммуностимулирующей ДНК, (короткого) ДНК-олигонуклеотида ((короткие) олигодезоксирибонуклеотиды), или ее можно выбирать из любой РНК (пептидная нукleinовая кислота), или ее можно выбирать, например,
- 15 из группы, включающей любую (одноцепочечную или двухцепочечную) РНК, предпочтительно (но, не ограничиваясь только ими) (короткий) РНК-олигонуклеотид ((короткий) олигорибонуклеотид), кодирующую РНК, матричную (информационную) РНК (мРНК), иммуностимулирующую РНК, малую интерферирующую РНК (siРНК), антисмысловую РНК, микроРНК, малую ядерную РНК (snРНК), малую РНК,
- 20 образующую шпильку (shРНК), или рибосвитчи (рибопереключатели), рибозимы или аптамеры и т.д. Молекула нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может представлять собой также рибосомную РНК (рРНК), транспортную РНК (тРНК), матричную РНК (мРНК) или вирусную РНК (вРНК). Предпочтительно молекула
- 25 нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, представляет собой РНК. Более предпочтительно молекула нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, представляет собой (линейную) одноцепочечную РНК, еще более предпочтительно
- 30 мРНК или иммуностимулирующую РНК. В контексте настоящего изобретения мРНК представляет собой, как правило, РНК, которая состоит из нескольких структурных элементов, например, необязательно из 5'-кэп-структуры, необязательно 5'-UTR-области, расположенного против хода транскрипции сайта связывания рибосом, за которым расположена кодирующая область, необязательно 3'-UTR-область, за которой может
- 35 следовать поли-А-хвост (и/или поли-С-хвост). Указанная мРНК может присутствовать в виде моно-, ди- или даже мультицистронной РНК, т.е. РНК, которая несет кодирующие последовательности одного, двух или большего количества белков или пептидов. Указанные кодирующие последовательности в ди- или даже мультицистронной мРНК могут быть разделены по меньшей мере одной IRES-последовательностью, указанной
- 40 в настоящем описании.

Кроме того, молекула нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может представлять собой одно- или двухцепочечную нукleinовую кислоту (молекулу) (которая может рассматриваться также как нукleinовая кислота (молекулу) благодаря нековалентной ассоциации двух одноцепочечных нукleinовых кислот (молекул)) или частично двухцепочечную или частично одноцепочечную нукleinовую кислоту, которая по меньшей мере частично является самокомплémentарной (указанные как частично двухцепочечные, так и частично одноцепочечные молекулы нукleinовых кислот, как

правило, образуются с помощью более длинной или более короткой молекулы нуклеиновой кислоты или с помощью двух одноцепочечных молекул нуклеиновых кислот, которые имеют примерно одинаковую длину, при этом одна одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты является частично комплементарной другой

- 5 одноцепочечной молекуле нуклеиновой кислоты, и вместе образуют двухцепочечную молекулу нуклеиновой кислоты в этой области, т.е. частично двухцепочечную или частично одноцепочечную нуклеиновую кислоту (молекулу). Предпочтительно нуклеиновая кислота (молекула) может представлять собой одноцепочечную молекулу нуклеиновой кислоты. Кроме того, нуклеиновая кислота (молекула) может представлять
- 10 собой кольцевую или линейную молекулу нуклеиновой кислоты, предпочтительно линейную молекулу нуклеиновой кислоты.

Согласно одному из вариантов молекула нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может представлять собой кодирующую нуклеиновую кислоту, например,

- 15 ДНК или РНК. Указанная кодирующая ДНК или РНК может представлять собой любую ДНК или РНК, указанную в настоящем описании. Предпочтительно указанная кодирующая ДНК или РНК может представлять собой одно- или двухцепочечную ДНК или РНК, более предпочтительно одноцепочечную ДНК или РНК, и/или кольцевую или линейную ДНК или РНК, более предпочтительно линейную ДНК или РНК. Еще
- 20 более предпочтительно кодирующая ДНК или РНК может представлять собой (линейную) одноцепочечную ДНК или РНК. Наиболее предпочтительно молекула нуклеиновой кислоты, предлагаемая в настоящем изобретении, может представлять собой (линейную одноцепочечную) матричную РНК (мРНК). Указанная мРНК может присутствовать в виде в виде моно-, ди- или даже мультицистронной РНК, т.е. РНК,
- 25 которая несет кодирующие последовательности одного, двух или большего количества белков или пептидов. Указанные кодирующие последовательности в ди- или даже мультицистронной мРНК могут быть разделены по меньшей мере одной IRES-последовательностью, указанной в настоящем описании.

Кодирующие нуклеиновые кислоты:

- 30 Молекула нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может кодировать белок или пептид, который можно выбирать, например, из (но, не ограничиваясь только ими) терапевтически активных белков или пептидов, включая белки-адьюванты, из антигенов, например, опухолевых антигенов, патогенных антигенов (животные антигены, вирусные антигены, антигены простейших, бактериальные антигены), аллергические антигены, аутоиммунные антигены или другие антигены, из антигенов, из антител, из иммуностимулирующих белков или пептидов, из антигенспецифических Т-клеточных рецепторов или из любого другого белка или пептида, пригодного для конкретного (терапевтического) применения, при этом кодирующая нуклеиновая кислота может транспортироваться в клетку, ткань или организм, и после этого белок может экспрессироваться в указанной клетке, ткани или указанном организме.
- 35 а) Терапевтически активные белки
- 40 В контексте настоящего изобретения терапевтически активные белки или пептиды могут кодироваться молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании,

- 45 которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу. В контексте настоящего описания под терапевтически активными белками подразумеваются белки, которые оказывают действие на заживление, обладают профилактическим действием или терапевтическим действием

в отношении заболевания, предпочтительно указанного в настоящем описании, или белки, в которых нуждается индивидуум. Их можно выбирать из числа любых встречающихся в естественных условиях или синтетически полученных рекомбинантных или выделенных белков, известных специалисту из существующего уровня техники.

- 5 Терапевтически активные белки могут представлять собой (но, не ограничиваясь только ими) белки, которые могут стимулировать или ингибировать трансдукцию сигналов в клетке, например, цитокины, лимфокины, монокины, факторы роста, рецепторы, молекулы, участвующие в трансдукции сигналов, факторы транскрипции и т.д.; антикоагулянты; антиромбины; антиаллергические белки; проапоптозные факторы
- 10 или связанные с апоптозом белки, терапевтически активные ферменты и любой белок, связанный с любым приобретенным заболеванием или любым наследственным заболеванием.

Терапевтически активный белок, который может кодироваться молекулой нукleinовой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый 15 изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может представлять собой белок-адьювант. В этом контексте под белком-адьювантом предпочтительно подразумевают любой белок, который обладает способностью вызывать врожденный иммунный ответ, указанный в настоящем описании.

- Предпочтительно указанный врожденный иммунный ответ включает активацию 20 паттернраспознающего рецептора, такого, например, как рецептор, выбранный из семейства Толл-подобного рецепторов (TLR), включая, например, Толл-подобный рецептор, выбранный из человеческих TLR1-TLR10 или из мышиных Толл-подобных рецепторов TLR1-TLR13. Более предпочтительно белок-адьювант выбирают из человеческих белков-адьювантов или из белков-адьювантов из патогенов, которые 25 выбирают из группы, включающей (но, не ограничиваясь только ими) бактериальные белки, белки простейших, вирусные белки или грибные белки, белки животных, в частности из бактериальных белков-адьювантов. Кроме того, можно применять также нуклеиновые кислоты, которые кодируют человеческие белки, участвующие в адьювантных действиях (например, лиганды паттернраспознающих рецепторов, 30 паттернраспознающие рецепторы, белки путей трансдукции сигналов, факторы транскрипции или цитокины).

б) Антигены

- В другом варианте молекула нукleinовой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый изобретении комплекс, содержащий полимерный 35 носитель и карго-молекулу, может кодировать антиген. Согласно настоящему изобретению понятие «антиген» относится к субстанции, которая распознается иммунной системой и обладает способностью запускать антигенспецифический иммунный ответ, например, путем образования антител или антигенспецифических Т-клеток в качестве части адаптивного иммунного ответа. В этом контексте первой стадией адаптивного 40 иммунного ответа является активация «наивных» антигенспецифических Т-клеток антигенпрезентирующими клетками. Это происходит в лимфоидных тканях и органах, через которые постоянно проходят «наивные» Т-клетки. Существует три типа клеток, которые могут служить в качестве антигенпрезентирующих клеток, а именно дендритные клетки, макрофаги и В-клетки. Каждый тип этих клеток обладает различной функцией 45 в отношении вызывания иммунных ответов. Тканевые дендритные клетки поглощают антигены путем фагоцитоза и макропиноцитоза и инфекция стимулирует их миграцию к локальной лимфоидной ткани, где происходит их дифференцировка в зрелые дендритные клетки. Макрофаги поглощают состоящие из частиц антигены, такие как

бактерии, и инфекционные агенты индуцируют экспрессию молекул ГКГ класса II. Уникальная способность В-клеток связываться и интерниализировать растворимые белковые антигены с помощью их рецепторов может быть важной для индукции Т-клеток. Презентация антигена молекулами ГКГ приводит к активации Т-клеток, которые 5 индуцируют пролиферацию и дифференцировку в усиленные эффекторные Т-клетки. Наиболее важной функцией эффекторных Т-клеток является уничтожение

инфицированных клеток цитотоксическими CD8⁺-Т-клетками и активация макрофагов ТН1-клетками, которые вместе образуют клеточный иммунитет, а активация В-клеток как ТН2-, так и ТН1-клетками, приводит к образованию различных классов антител, 10 запуская тем самым гуморальный иммунный ответ. Т-клетки распознают антиген с помощью Т-клеточных рецепторов, которые не распознают и не связываются с антигеном непосредственно, но зато распознают короткие пептидные фрагменты, например, белковые антигены патогенов, которые связаны с молекулами ГКГ на 15 поверхности других клеток.

15 Т-клетки подразделяются на два основных класса, которые обладают различными эффекторными функциями. Два класса отличаются по экспрессии расположенных на клеточной поверхности белков CD4 и CD8. Эти два типа Т-клеток отличаются по распознаваемому ими классу молекул ГКГ. Известно два класса молекул ГКГ, а именно, молекулы ГКГ класса I и ГКГ класса II, которые отличаются по их структуре и схеме 20 экспрессии в тканях организма. CD4⁺-Т-клетки связываются с молекулой ГКГ класса II, а CD8⁺-Т-клетки с молекулой ГКГ класса I. Молекулы ГКГ класса I и ГКГ класса II имеют разное распределение среди клеток, что отражает различные эффекторные 25 функции Т-клеток, которые их распознают. Молекулы ГКГ класса I презентуют пептиды из патогенов, прежде всего вирусов, CD8⁺-Т-клеткам, которые дифференцируются в цитотоксичные Т-клетки, которые специализируются в уничтожении любой клетки, которую они специфически распознают. Почти все клетки экспрессируют молекулы ГКГ класса I, хотя уровень конститутивной экспрессии варьируется от одного типа 30 клеток к другому. Но молекулами ГКГ класса I презентуются не только патогенные пептиды из вирусов, ими презентуются также аутоантигены типа опухолевых антигенов. Молекулы ГКГ класса I связывают пептиды из белков, расщепляемых в цитозоле, и 35 транспортируют в эндоплазматический ретикулум. Таким образом, молекулы ГКГ класса I на поверхности клеток, зараженных вирусами или другими цитозольными патогенами, презентуют пептиды из этих патогенов. CD8⁺-Т-клетки, которые распознают комплексы ГКГ класса I:пептид специализируются в уничтожении любых клеток, 40 презентирующих чужеродные пептиды и тем самым избавляют организм от клеток, зараженных вирусами и другими цитозольными патогенами. Основной функцией CD4⁺-Т-клеток (CD4⁺-Т-клеток-хелперов), которые распознают молекулы ГКГ класса II является активация других эффекторных клеток иммунной системы. При этом молекулы ГКГ класса II в норме присутствуют на В-лимфоцитах, дендритных клетках 45 и макрофагах, т.е. клеток, которые принимают участие в иммунных ответах, но отсутствуют на других типах клеток тканей. Макрофаги, например, обладают активностью в отношении уничтожения интравезикулярных патогенов, которых они несут, а В-клетки секретируют иммуноглобулины против чужеродных молекул.

Молекулы ГКГ класса II не могут связываться с пептидами в эндоплазматическом ретикулуме, и при этом молекулы ГКГ класса II связывают пептиды из белков, расщепляемых в эндосомах. Они могут захватывать пептиды из патогенов, которые

проникли в везикулярную систему макрофагов, или из антигенов, интернализованных незрелыми дендритными клетками, или иммуноглобулиновыми рецепторами В-клеток. Патогены, которые накапливаются в больших количествах внутри пузырьков макрофагов и дендритных клеток, имеют тенденцию стимулировать дифференцировку

- 5 ТН1-клеток, в то время как внеклеточные антигены имеют тенденцию стимулировать производство ТН2-клеток. ТН1-клетки активируют микробицидные свойства макрофагов и индуцируют производство В-клетками антител типа IgG, которые являются очень эффективными в отношении опсонизации внеклеточных патогенов, что приводит к их поглощению фагоцитами, в то время как ТН2-клетки инициируют гуморальный
- 10 ответ, активируя секрецию IgM наивными В-клетками, и индуцируют производство обладающих слабой опсонизирующей способностью антител, таких как IgG1 и IgG3 (мышиные) и IgG2 и IgG4 (человеческие), а также IgA и IgE (мышиные и человеческие).

В контексте настоящего изобретения антигены, кодируемые молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый

- 15 изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, как правило, представляют собой любые антигены, антигенные эпитопы или антигенные пептиды, подпадающие под указанное выше понятие, более предпочтительно белковые и пептидные антигены, например, опухолевые антигены, аллергенные антигены, аутоиммунные аутоантигены, патогенные антигены и т.д. Конкретные антигены,
- 20 кодируемые молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, могут представлять собой антигены, образовавшиеся вне клетки, более конкретно антигены, не имеющие происхождение из организма-хозяина (например, человека) (т.е. не аутоантигены), они чаще представляют собой антигены,
- 25 образовавшиеся из клеток-хозяев вне организма-хозяина, например, вирусные антигены, бактериальные антигены, грибные антигены, антигены простейших, антигены животных, аллергенные антигены и т.д. Аллергенные антигены (вызывающие аллергию антигены) являются типичными антигенами, которые вызывают аллергию у человека и могут иметь происхождение из организма человека или других источников. Кроме того,
- 30 антигены, кодируемые молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, могут представлять собой также антигены, образовавшиеся внутри клетки, ткани или в организме. Указанные антигены включают антигены, образовавшиеся в организме-хозяине (например, в организме человека),
- 35 например, опухолевые антигены, аутоантигены или аутологичные антигены, такие как аутоиммунные аутоантигены и т.д., но также (неауто-) антигены, указанные в настоящем описании, которые исходно образованы из клеток-хозяев вне организма-хозяина, но которые фрагментированы или расщеплены внутри организма, ткани или клетки, например путем (протеазного) расщепления, метаболизма и т.д.

- 40 Один класс антигенов, кодируемых молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, представляет собой класс опухолевых антигенов. «Опухолевые антигены» предпочтительно локализованы на поверхности (опухолевой) клетки. Опухолевые антигены можно выбирать из белков,
- 45 для которых характерна сверхэкспрессия на опухолевых клетках по сравнению со здоровыми клетками. Кроме того, опухолевые антигены включают также антигены, экспрессирующиеся в клетках, которые сами не являются (не были) (или исходно не сами) перерожденными, но ассоциированы с предполагаемой опухолью. Антигены,

связанные с сосудами, которые поставляют кровь в опухоль, или с их (ре) формированием, в частности антигены, которые ассоциированы с неоваскуляризацией, например, факторы роста, такие как VEGF, bFGF и т.д. подпадают также под объем настоящего изобретения. К антигенам, связанным с опухолью, относятся также антигены из клеток или тканей, как правило, окружающих опухоль. Кроме того, некоторые субстанции (как правило, белки или пептиды) экспрессируются у пациентов, страдающих (установленным или неустановленным) раковым заболеванием, и они присутствуют в повышенных концентрациях в общей воде организма у таких пациентов. Эти субстанции подпадают также под понятие «опухолевые антигены», однако в строгом смысле они не являются антигенами, т.е. индуцирующими иммунный ответ субстанциями. Класс опухолевых антигенов можно подразделять также на специфические для опухоли антигены (TSA) и ассоциированные с опухолью антигены (TAA). TSA могут презентоваться только опухолевыми клетками и никогда нормальными «здоровыми» клетками. Они, как правило, образуются в результате специфической для опухоли мутации. TAA, которые являются более общими, как правило, презентуются как опухолевыми, так и здоровыми клетками. Эти антигены распознаются, в результате чего антигенпрезентирующая клетка может разрушаться цитотоксическими Т-клетками. Кроме того, опухолевые антигены могут присутствовать также на поверхности опухоли в форме, например, мутантного рецептора. В этом случае они могут распознаваться антителами. Наиболее предпочтительные опухолевые антигены выбирают из группы, включающей 5T4, 707-AP, 9D7, AFP, AlbZIP HPG1, альфа-5-бета-1-интегрин, альфа-5-бета-6-интегрин, альфа-актинин-4/m, альфа-метилацил-кофермент A-рацемазу, ART-4, ARTC1/m, B7H4, BAGE-1, BCL-2, bcr/abl, бета-катенин/m, BING-4, BRCA1/m, BRCA2/m, CA 15-3/CA 27-29, CA 19-9, CA72-4, CA125, калретикулин, CAMEL, CASP-8/m, катепсин B, катепсин L, CD19, CD20, CD22, CD25, CDE30, CD33, CD4, CD52, CD55, CD56, CD80, CDC27/m, CDK4/m, CDKN2A/m, CEA, CLCA2, CML28, CML66, COA-1/m, коактозин-подобный белок, коллаген XXIII, COX-2, CT-9/BRD6, Cten, циклин B1, циклин D1, сур-В, CYPB1, DAM-10, DAM-6, DEK-CAN, EFTUD2/m, EGFR, ELF2/m, EMMPRIN, EpCam, EphA2, EphA3, ErbB3, ETV6-AML1, EZH2, FGF-5, FN, Frau-1, G250, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE7b, GAGE-8, GDEP, GnT-V, gp100, GPC3, GPNMB/m, HAGE, HAST-2, гепсин, Her2/neu, HERV-K-MEL, HLA-A*0201-R17I, HLA-A11/m, HLA-A2/m, HNE, гомеобокс NKX3.1, HOM-TES-14/SCP-1, HOM-TES-85, HPV-E6, HPV-E7, HSP70-2M, HST-2, hTERT, iCE, IGF-1R, IL-13Ra2, IL-2R, IL-5, незрелый ламининовый receptor, каллекреин-2, каллекреин-4, Ki67, KIAA0205, KIAA0205/m, KK-LC-1, K-Ras/m, LAGE-A1, LDLR-FUT, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A12, MAGE-B1, MAGE-B2, MAGE-B3, MAGE-B4, MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-B10, MAGE-B16, MAGE-B17, MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-D1, MAGE-D2, MAGE-D4, MAGE-E1, MAGE-E2, MAGE-F1, MAGE-H1, MAGEL2, маммоглобин А, MART-1/мелан-А, MART-2, MART-2/m, матриксный белок 22, MC1R, M-CSF, ME1/m, мезотелин, MG50/PXDN, MMP11, MN/CA IX-антиген, MRP-3, MUC-1, MUC-2, MUM-1/m, MUM-2/m, MUM-3/m, миозин класса I/m, NA88-A, N-ацетилглюкозаминилтрансферазу-V, Neo-PAP, Neo-PAP/m, NFYC/m, NGEP, NMP22, NPM/ALK, N-Ras/m, NSE, NY-ESO-1, NY-ESO-B, OA1, OFA-iLRP, OGT, OGT/m, OS-9, OS-9/m, остеокальцин, остеопонтин, p15, p190 минорный bcr-abl, p53, p53/m, PAGE-4, PAI-1, PAI-2, PART-1, PATE, PDEF, Pim-1-киназу, Pin-1, Pml/PARальфа, POTE, FRAME, PRDX5/m, простеин, протеиназу-3, PSA, PSCA, PSGR, PSM, PSMA, PTPRK/m, RAGE-1, RBAF600/m, RHAMM/CD168, RU1, RU2, S-100, SAGE, SART-1, SART-2, SART-3, SCC, SIRT2/m, Sp17, SSX-1, SSX-2/HOM-MEL-40, SSX-4, STAMP-1, STEAP, сурвивин,

сурвивин-2 В, SYT-SSX-1, SYT-SSX-2, ТА-90, TAG-72, TARP, TEL-AML1, TGFбета, TGFбетаRII, TGM-4, TPI/m, TRAG-3, TRG, TRP-1, TRP-2/6b, TRP/INT2, TRP-p8, тирозиназу, UPA, VEGF, VEGFR-2/FLK-1 и WT1. Указанные опухолевые антигены предпочтительно можно выбирать из группы, включающей MAGE-A1 (например, MAGE-A1, имеющий регистрационный номер M77481), MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A6 (например, MAGE-A6, имеющий регистрационный номер NM_005363), MAGE-C1, MAGE-C2, мелан-А (например, мелан-А, имеющий регистрационный номер NM_005511), GP100 (например, GP100, имеющий регистрационный номер M77348), тирозиназу (например, тирозиназа, имеющая регистрационный номер NM_000372), сурвивин (например, сурвивин, имеющий регистрационный номер AF077350), СЕА (например, СЕА, имеющий регистрационный номер NM_004363), Her-2/neu (например, Her-2/neu, имеющий регистрационный номер M11730), WT1 (например, WT1, имеющий регистрационный номер NM_000378), PRAME (например, PRAME, имеющий регистрационный номер NM_006115), EGFRI (рецептор эпидермального фактора роста-1) (например, EGFRI (рецептор эпидермального фактора роста-1), имеющий регистрационный номер AF288738), MUC1, муцин-1 (например, муцин-1, имеющий регистрационный номер NM_002456), SEC61G (например, SEC61G, имеющий регистрационный номер NM_014302), hTERT (например, hTERT, имеющий регистрационный номер NM_198253), 5T4 (например, 5T4, имеющий регистрационный номер NM_006670), NY-Eso-1 (например, NY-Eso1, имеющий регистрационный номер NM_001327), TRP-2 (например, TRP-2, имеющий регистрационный номер NM_001922), STEAP, PCA, PSA, PSMA и т.д.

Согласно другому варианту один дополнительный класс антигенов, кодируемых молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, представляет собой аллергенные антигены. Указанные аллергенные антигены можно выбирать из антигенов, происходящих из различных источников, например, из животных, растений, грибов, бактерий и т.д. В этом контексте аллергены включают, например, травы, пыльцу, плесени, лекарственные средства или многочисленные связанные с окружающей средой провоцирующие агенты. Аллергенные антигены, как правило, принадлежат к различным классам соединений, таким как нуклеиновые кислоты и их фрагменты, белки или пептиды и их фрагменты, углеводы, полисахариды, сахара, липиды, фосфолипиды и т.д. Наиболее важными в контексте настоящего изобретения являются антигены, которые могут кодироваться молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, т.е. белковые или пептидные антигены и их фрагменты или эпитопы, или нуклеиновые кислоты и их фрагменты, прежде всего нуклеиновые кислоты и их фрагменты, которые кодируют указанные белковые или пептидные антигены и их фрагменты или эпитопы.

б) Антитела

Согласно другому варианту молекула нуклеиновой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может кодировать антитело или фрагмент антитела. Согласно настоящему изобретению указанное антитело можно выбирать из любого антитела, например, любых полученных рекомбинантно или встречающихся в естественных условиях антител, известных в данной области, в частности антител, пригодных для терапевтических, диагностических или научных целей, или антител, которые были идентифицированы в связи с конкретными раковыми заболеваниями. В контексте настоящего описания понятие «антитело» используется в его наиболее

широком смысле и относится, в частности, к моноклональным и поликлональным антителам (включая агонистические, антагонистические и блокирующие или нейтрализующие антитела) и видам антител с полиипитопной специфичностью. Согласно изобретению «антитело», как правило, включает любые антитела, известные в данной 5 области (например, антитела типа IgM, IgD, IgG, IgA и IgE), в том числе встречающиеся в естественных условиях антитела, антитела, полученные иммунизацией организма-хозяина, антитела, которые выделены и идентифицированы из встречающегося в естественных условиях источника, или антитела, полученные иммунизацией организма-хозяина и полученные рекомбинантным путем с помощью методов молекулярной 10 биологии, известных в данной области, а также химерные антитела, человеческие антитела, гуманизированные антитела, биспецифические антитела, антитела к внутреннему фактору, т.е. антитела, экспрессирующиеся в клетках и необязательно локализованные в специфических клеточных компартментах, и фрагменты и варианты 15 указанных выше антител. Как правило, антитело состоит из легкой цепи и тяжелой цепи, которые обе имеют вариабельные и константные области. Легкая цепь состоит из N-концевой вариабельной области, V_L , и C-концевой константной области, C_L . В отличие от этого, тяжелая цепь антитела типа IgG, например, состоит из N-концевой вариабельной области, V_H , и трех константных областей, C_H1 , C_H2 и C_H3 .

В контексте настоящего изобретения антитела, кодируемые молекулой нуклеиновой 20 кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, могут предпочтительно представлять собой полноразмерные антитела, т.е. антитела, состоящие из полных тяжелых и полных легких цепей, описанных выше. Однако производные 25 антител, такие как фрагменты, варианты или аддукты, могут также кодироваться молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу. Фрагменты антитела предпочтительно выбирают из Fab-, Fab'-, F(ab')₂-, Fc-, Facb-, pFc'-, Fd- и Fv-фрагментов вышеуказанных (полноразмерных) антител. В целом, 30 фрагменты антител известны в данной области. Например, Fab-фрагмент («антигенсвязывающий фрагмент» (fragment, antigen binding) состоит из одной константной и одной вариабельной области каждой тяжелой и легкой цепи. Два вариабельных домена связываются с эпитопом на специфических антигенах. Две цепи связаны через дисульфидный мостик. ScFv-фрагмент (одноцепочечный фрагмент 35 вариабельной области (single chain variable fragment)), например, как правило, состоит из вариабельных областей легкой и тяжелой цепей. Домены связаны искусственной связью, как правило, полипептидной связью, такой как пептид, состоящий из 15-25 остатков глицина, пролина и/или серина.

В контексте настоящего изобретения является предпочтительным, когда различные 40 цепи антитела или фрагмента антитела кодируются молекулой мультицистронной нуклеиновой кислоты. В альтернативном варианте различные линии антител или фрагментов антител кодируются несколькими моноцистронными нуклеиновыми 45 кислотами (последовательности).

siPHK:

Согласно дополнительному варианту молекула нуклеиновой кислоты, указанная в 45 настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может находиться в форме dsPHK, предпочтительно siPHK. DsPHK или siPHK представляет наибольший интерес в связи

с явлением РНК-интерференции. Метод *in vitro* РНК-интерференции (РНКи) основан на двухцепочечных молекулах РНК (dsРНК), которые «запускают» специфическую для последовательности супрессию генной экспрессии (Zamore, Nat. Struct. Biol. 9, 2001, cc.746-750; Sharp, Genes Dev. 5, 2001. cc.485-490; Hannon, Nature 41, 2002, cc.244-251). При

- 5 трансфекции клеток млекопитающих длинной dsРНК активация протеинкиназы R и РНКазыL приводит к неспецифическим воздействиям, таким, например, как интерфероновая реакция (Stark и др., Annu. Rev. Biochem. 67, 1998, cc.227-264; He и Katze, Viral Immunol. 15, 2002, cc.95-119). Эти неспецифические явления не происходят, когда используют более короткую, например, 21-23-мерную так называемую siРНК (малая
- 10 интерферирующая РНК), поскольку неспецифические явления не «запускаются» siРНК, которая состоит менее чем из 30 пар оснований (Elbashir и др., Nature 411, 2001, cc.494-498).

Таким образом, молекула нуклеиновой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может представлять собой двухцепочечную РНК (dsРНК), состоящую из 17-29, предпочтительно из 19-25 нуклеотидов и предпочтительно по меньшей мере 90%, более предпочтительно 95% и наиболее предпочтительно 100% (нуклеотидов dsРНК) комплементарны сегменту молекулы нуклеиновой кислоты (терапевтически значимого) белка или антигена, указанного (в качестве действующего вещества) выше, или любого другого белка, указанного в настоящем описании, либо кодирующего, либо некодирующего сегмента, предпочтительно кодирующего сегмента. Указанную (ее сегмент) молекулу нуклеиновой кислоты можно обозначать как «последовательность-мишень», и она может представлять собой любую молекулу нукleinовой кислоты, представленную в настоящем описании, предпочтительно 25 геномную ДНК, кДНК, РНК, например, мРНК и т.д. Фраза «комplementарна на 90%» означает, что при длине dsРНК, указанной в настоящем описании, например, 20 нуклеотидов, dsРНК содержит не более 2 нуклеотидов, некомплементарных соответствующему сегменту последовательности-мишени. Однако последовательность двухцепочечной РНК, которую применяют согласно изобретению, предпочтительно 30 полностью комплементарна по своей общей структуре сегменту последовательности-мишени. В этом контексте молекула нукleinовой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может представлять собой dsРНК, имеющую общую структуру 5'-(N₁₇₋₂₉)-3', предпочтительно имеющую общую структуру 5'-(N₁₉₋₂₅)-3', более предпочтительно имеющую общую структуру 5'-(N₁₉₋₂₄)-3' или еще более 35 предпочтительно имеющую общую структуру 5'-(N₂₁₋₂₃)-3', где в каждой общей структуре каждый N обозначает (предпочтительно отличный) нуклеотид сегмента последовательности-мишени, предпочтительно выбранный из непрерывно следующих 40 друг за другом 17-29 нуклеотидов сегмента последовательности-мишени, и присутствует в общей структуре 5'-(N₁₇₋₂₉)-3' в присущем ему в естественных условиях порядке. В принципе, все сегменты длиной 17-29, предпочтительно 19-25 пар оснований, которые 45 присутствуют в последовательности-мишени, можно применять для получения dsРНК, указанной в настоящем описании. Аналогично этому, dsРНК, применяемая в качестве молекулы нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может также быть направлена против нуклеотидных последовательностей (терапевтически значимого) белка или антигена, указанного ниже (в качестве действующего вещества), которые не

находятся в кодирующей области, в частности в 5'-некодирующей области последовательности-мишени, таким образом, например, может быть направлена против некодирующих областей последовательности-мишени, которая обладает регуляторной функцией. Таким образом, последовательность-мишень dsPHK, применяемой в качестве молекулы нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может находиться в транслируемой и нетранслируемой области последовательности-мишени и/или в области контролирующих элементов белка или антигена, указанных выше в настоящем описании. Последовательность-мишень для dsPHK, применяемой в качестве молекулы нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может находиться также в перекрывающей области нетранслируемой и транслируемой последовательности; в частности, последовательность-мишень может нести по меньшей мере один нуклеотид, расположенный против хода транскрипции относительно стартового триплета кодирующей области, например, геномной ДНК, кДНК, РНК или мРНК и т.д.

Иммуностимулирующие нуклеиновые кислоты:

а) Иммуностимулирующие CpG-нуклеиновые кислоты:

Согласно другому варианту молекула нуклеиновой кислота, применяемая в качестве молекулы нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может находиться в форме (иммуностимулирующей) богатой динуклеотидами CpG нуклеиновой кислота (CpG-нуклеиновая кислота), в частности CpG-РНК или CpG-ДНК, которая предпочтительно индуцирует врожденный иммунный ответ. CpG-РНК или CpG-ДНК, применяемая согласно изобретению, может представлять собой одноцепочечную CpG-ДНК (ss CpG-ДНК), двухцепочечную CpG-ДНК (dsДНК), одноцепочечную CpG-РНК (ss CpG-РНК) или двухцепочечную CpG-РНК (ds CpG-РНК). CpG-нуклеиновая кислота, применяемая согласно изобретению, предпочтительно находится в форме CpG-РНК, более предпочтительно в форме одноцепочечной CpG-РНК (ss CpG-РНК).

Предпочтительно также указанные CpG-нуклеиновые кислоты имеют длину, указанную выше. Предпочтительно CpG-мотивы являются неметилированными.

б) Иммуностимулирующая РНК (isРНК):

Аналогично вышесказанному, согласно другому варианту (иммуностимулирующая) молекула нуклеиновой кислота, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может находиться в форме иммуностимулирующей РНК (isРНК), которая предпочтительно вызывает врожденный иммунный ответ. Указанная иммуностимулирующая РНК может представлять собой любую (двухцепочечную или одноцепочечную) РНК, например, кодирующую РНК, указанную в настоящем описании. Предпочтительно иммуностимулирующая РНК может представлять собой одноцепочечную, двухцепочечную или частично двухцепочечную РНК, более предпочтительно одноцепочечную РНК и/или кольцевую или линейную РНК, более предпочтительно линейную РНК. Более предпочтительно иммуностимулирующая РНК может представлять собой (линейную) одноцепочечную РНК. Еще более предпочтительно иммуностимулирующая РНК может представлять собой (длинную) (линейную) одноцепочечную некодирующую РНК. В этом контексте наиболее предпочтительным является, если isРНК несет трифосфат на своем 5'-конце, что представляет собой вариант транскрибируемой *in vitro* РНК. Иммуностимулирующая РНК может также иметь форму короткого РНК-олигонуклеотида, указанного в настоящем описании. Иммуностимулирующую РНК, применяемую согласно настоящему

изобретению, можно выбирать также из любого класса молекул РНК, встречающихся в естественных условиях или полученных путем синтеза, которые могут индуцировать врожденный иммунный ответ и могут поддерживать адаптивный иммунный ответ, индуцируемый антигеном. В этом контексте иммунный ответ может возникать

- 5 посредством различных механизмов. Важным фактором для приемлемого (адаптивного) иммунного ответа является стимуляция различных Т-клеточных субпопуляций. Т-лимфоциты, как правило, подразделяют на две субпопуляции Т-клетки-хелперы 1 (Th1) и Т-клетки-хелперы (Th2), с помощью которых иммунная система может разрушать внутриклеточные (Th1) и внеклеточные (Th2) патогены (например антигены). Две Th-
- 10 клеточные популяции отличаются схемой производства ими эффекторных белков (цитокины). Так, Th1-клетки обусловливают клеточный иммунный ответ путем активации макрофагов и цитотоксических Т-клеток. С другой стороны, Th2-клетки усиливают гуморальный иммунный ответ путем стимуляции конверсии В-клеток в плазматические клетки и путем образования антител (например, против антигенов). Таким образом,
- 15 соотношение Th1/Th2 имеет очень важное значение для индукции и поддержания иммунного ответа. В контексте настоящего изобретения соотношение Th1/Th2 при (адаптивном) иммунном ответе предпочтительно смещается с помощью иммуностимулятора в сторону клеточного ответа, т.е. Th1-ответа, и главным образом в сторону клеточного иммунного ответа, и тем самым индуцируется клеточный
- 20 иммунный ответ. Согласно одному из примеров врожденную иммунную систему, которая может поддерживать адаптивный иммунный ответ, можно активировать с помощью лигандов Толл-подобных рецепторов (TLR). TLR представляют собой семейство высококонсервативных полипептидов паттернраспознающих рецепторов (PRR), которые распознают ассоциированные с патогеном молекулярные паттерны
- 25 (PAMP) и имеют решающее значение для врожденного иммунитета у млекопитающих. В настоящее время идентифицировано по меньшей мере 13 представителей семейства, которые обозначены как TLR1 - TLR13 (Толл-подобные рецепторы: TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 или TLR13). Кроме того, идентифицирован ряд лигандов, специфических для TLR. Установлено, например, что
- 30 неметилированная бактериальная ДНК и ее синтетические аналоги (CpG-ДНК) являются лигандами TLR9 (Hemmi H. и др., Nature 408, 2000, cc.740-745; Bauer S. и др., Proc Natl Acad Sci USA 98, 2001, cc.9237-9242). Кроме того, установлено, что лиганды для определенных TLR включают определенные молекулы нуклеиновых кислот и что определенные типы РНК являются иммуностимуляторами, которые действуют
- 35 независимым от последовательности или зависимым от последовательности образом, при этом указанные различные иммуностимулирующие РНК могут, например, стимулировать TLR3, TLR7 или TLR8 или внутриклеточные рецепторы, такие как RIG-I, MDA-5 и т.д. Например, Lipford с соавторами обнаружили определенные содержащие G,U олигонуклеотиды в качестве иммуностимуляторов, которые проявляют свое
- 40 действие посредством TLR7 и TLR8 (см. WO 03/086280). Иммуностимулирующие содержащие G,U олигорибонуклеотиды, описанные у Lipford с соавторами, вероятно, можно получать, используя в качестве источников РНК, включая рибосомную РНК, транспортную РНК, матричную РНК и вирусную РНК.

Таким образом, иммуностимулирующая РНК (isРНК), применяемая в качестве

- 45 молекулы нуклеиновой кислоты, которая входит в представленный в настоящем описании предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может включать любую последовательность РНК, для которой известно, что она является иммуностимулятором, включая (но, не ограничиваясь только

ими) последовательности РНК, представляющие собой или кодирующие лиганды TLR, предпочтительно выбранные из представителей семейства человеческих TLR1 - TLR10 или представителей семейства мышиных TLR1 - TLR13, более предпочтительно выбранные из представителей семейства (человеческих) TLR1 - TLR10, еще более

- 5 предпочтительно из TLR7 и TLR8, лигандов внутриклеточных рецепторов РНК (таких как RIG-I или MDA-5 и т.д.) (см., например, Meylan E., Tschopp J., «Toll-like receptors and RNA helicases: two parallel ways to trigger antiviral responses», Mol. Cell 22, 2006, cc.561-569), или любой другой последовательности иммуностимулирующей РНК. Кроме того, иммуностимулирующие молекулы РНК (классы), применяемые в качестве молекулы
10 нуклеиновой кислота, которая входит предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, могут представлять собой любую другую РНК, обладающую способностью вызывать врожденный иммунный ответ. Такая иммуностимулирующая РНК может представлять собой (но, не ограничиваясь только ими) рибосомную РНК (рРНК), транспортную РНК (тРНК), матричную РНК
15 (мРНК) и вирусную РНК (вРНК). Указанная иммуностимулирующая РНК может состоять из 1000-5000, 500-5000, 5-5000 или 5-1000, 5-500, 5-250, 5-100, 5-50 или 5-30 нуклеотидов.

Согласно конкретному наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения последовательности иммуностимулирующих нуклеиновых кислот

- 20 предпочтительно представляют собой РНК, предпочтительно представляющую собой или содержащую нуклеиновую кислоту формулы (II) или (III):

$G_1 X_m G_n$ (формула(II)) ,

в которой:

25 G обозначает гуанозин, урацил или аналог гуанозина или урацила;

X обозначает гуанозин, урацил, аденоzin, тимидин, цитозин или аналог вышеуказанных нуклеотидов;

1 обозначает целое число от 1 до 40,

при этом,

когда l=1, то G обозначает гуанозин или его аналог,

30 когда l>1, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог;

т представляет собой целое число и обозначает по меньшей мере 3;

при этом,

когда m=3, то X обозначает урацил или его аналог,

35 когда m>3, то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных урацила или аналогов урацила;

n обозначает целое число от 1 до 40,

при этом,

когда n=1, то G обозначает гуанозин или его аналог,

40 когда n>1, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог.

$C_1 X_m C_n$ (формула(III))

в которой:

С обозначает цитозин, урацил или аналог цитозина или урацила;

45 X обозначает гуанозин, урацил, аденоzin, тимидин, цитозин или аналог вышеуказанных нуклеотидов;

l обозначает целое число от 1 до 40,

при этом,

- когда $l=1$, то С обозначает цитозин или его аналог,
 когда $l>1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или
 его аналог;
⁵ т обозначает целое число и обозначает по меньшей мере 3;
 при этом, когда $m=3$, то X обозначает урацил или его аналог,
 когда $m>3$, то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных
 урацила или аналогов урацила;
 п обозначает целое число от 1 до 40, при этом,
 когда $n=1$, то С обозначает цитозин или его аналог,
¹⁰ когда $n>1$, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или
 его аналог.

Нукleinовые кислоты формулы (II) или (III), которые можно применять в качестве нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу, могут ¹⁵ представлять собой относительно короткие молекулы нукleinовых кислот, состоящие, как правило, примерно из 5-100 (но также в конкретных вариантах осуществления изобретения более чем из 100 нуклеотидов, например, вплоть до 200 нуклеотидов), из 5-90 или из 5-80 нуклеотидов, предпочтительно примерно из 5-70, более предпочтительно примерно из 8-60 и более предпочтительно состоящие примерно из 15-60 нуклеотидов, ²⁰ более предпочтительно из 20-60, наилучше предпочтительно из 30-60 нуклеотидов. Если нукleinовая кислота, входящая в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий предлагаемую в изобретении нукleinовую кислоту в качестве карго-молекулы, имеет максимальную длину, например, 100 нуклеотидов, то т, как правило, ≤ 98 . Количество нуклеотидов G в нукleinовой кислоте формулы (II) определяется величиной 1 или п. ²⁵ Символ l и п каждый независимо друг от друга обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда l или n=1, то G обозначает гуанозин или его аналог, и когда l или n>1, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог. Например (но, не ограничиваясь только указанным), когда l или n=4, то G₁ или G_n может обозначать, например, GUGU, GGUU, UGUG, UUGG, GUUG, GGGU, GGUG, ³⁰ GUGG, UGGG or GGGG и т.д.; когда l или n=5, то G₁ или G_n может обозначать, например, GGGUU, GGUGU, GUGGU, UGGGU, UGGUG, UGUGG, UUGGG, GUGUG, GGGGU, GGGUG, GGUGG, GUGGG, UGGGG или GGGGG и т.д. Нуклеотид, примыкающий к X_m в нукleinовой кислоте формулы (II), согласно изобретению предпочтительно не ³⁵ представляет собой урацил. Аналогично этому, количество нуклеотидов С в нукleinовой кислоте формулы (III) согласно изобретению определяется величиной 1 или п. Символ l и п каждый независимо друг от друга обозначает целое число от 1 до 40, при этом, когда l или n=1, то С обозначает цитозин или его аналог, и когда l или n>1, то по меньшей мере 50% нуклеотидов представляют собой цитозин или его аналог. Например (но, не ограничиваясь только указанным), когда l или n=4, то C₁ или C_n может обозначать, ⁴⁰ например, CUCU, CCUU, UCUC, UUCC, CUUC, CCCU, CCUC, CUCC, UCCC или CCCC и т.д.; когда l или n=5, то C₁ или C_n может обозначать, например, CCCUU, CCUCU, CUCCU, UCCCU, UCCUC, UCUCC, UUCCC, CUCUC, CCCCCU, CCCUC, CCUC, CUCCC, UCCCC или CCCCC и т.д. Нуклеотид, примыкающий к X_m в нукleinовой кислоте ⁴⁵ формулы (III), согласно изобретению предпочтительно не представляет собой урацил. Предпочтительно в формуле (II), когда l или n>1, то по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или даже 100% нуклеотидов представляют собой гуанозин или его аналог, как указано выше. Остальные нуклеотиды, необходимые до достижения 100% (когда на

долю составляющих, представляющий собой гуанозин, приходится менее 100% от всех нуклеотидов), во фланкирующих последовательностях G_1 и/или G_n представляют собой урацил или его аналог, как указано выше. Предпочтительно также 1 и n каждый независимо друг от друга обозначает целое число от 2 до 30, более предпочтительно целое число от 2 до 20 и еще более предпочтительно целое число от 2 до 15. Нижний предел 1 или n при необходимости можно варьировать, и он представляет собой по меньшей мере 1, предпочтительно по меньшей мере 2, более предпочтительно по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. Вышеуказанное применимо соответствующим образом и к формуле (III).

Согласно конкретному предпочтительному варианту осуществления изобретения нуклеиновую кислоту любой из указанных выше формул (II) или (III), которую можно применять в качестве нуклеиновой кислоты в предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу, можно выбирать из последовательностей, которые представляют собой или содержат любую из следующих последовательностей:

25

30

35

40

45

- GGGGGGGGGGUUUUGGGGGGGG (SEQ ID NO: 294);
- GGGGGGGGGUUUUUGGGGGGGG (SEQ ID NO: 295);
- GGGGGGGGUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 296);
- GGGGGGGGUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 297);
- 5 - GGGGGGUUUUUUUUUUGGGGGG (SEQ ID NO: 298);
- GGGGGGUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 299);
- GGGGGGUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 300);
- GGGGGGUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 301);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 302);
- 10 - GGGGUUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 303);
- GGGGUUUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 304);
- GGUUUUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 305);
- GUUUUUUUUUUUUUUUUUG (SEQ ID NO: 306);
- GGGGGGGGGGUUUUGGGGGGGG (SEQ ID NO: 307);
- GGGGGGGGGGUUUUGGGGGGGG (SEQ ID NO: 308);
- 15 - GGGGGGGGGUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 309);
- GGGGGGGGGUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 310);
- GGGGGGGGUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 311);
- GGGGGGGGUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 312);
- GGGGGGGGUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 313);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 314);
- 20 - GGGGGGUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 315);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 316);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 317);
- GGGUUUUUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 318);
- GGUUUUUUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 319);
- GGGGGGGGGGGGUUUUGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 320);
- 25 - GGGGGGGGGGUUUUGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 321);
- GGGGGGGGGGUUUUUUUGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 322);
- GGGGGGGGGGUUUUUUUUGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 323);
- GGGGGGGGGGUUUUUUUUUGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 324);
- GGGGGGGGGGUUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 325);
- GGGGGGGGGGUUUUUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 326);
- 30 - GGGGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 327);
- GGGGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 328);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 329);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 330);
- GGGuUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 331);
- GGGuUUUUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 332);
- 35 - GUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUG (SEQ ID NO: 333);
- GGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 334);
- GGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 335);
- GGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 336);
- GGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 337);
- GGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGG (SEQ ID NO: 338);
- 40 - GGGGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 339);
- GGGGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGGGG (SEQ ID NO: 340);
- GGGGGGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 341);
- GGUUUUGG (SEQ ID NO: 342);
- 45 - GGUUUUGG (SEQ ID NO: 343);

- GGUUUUUUGG (SEQ ID NO: 344);
- GGUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 345);
- GGUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 346);
- 5 - GGUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 347);
- GGUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 348);
- GGUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 349);
- GGUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 350);
- GGUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 351);
- 10 - GGUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 352);
- GGUUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 353);
- GGUUUUUUUUUUUUUUUUGG (SEQ ID NO: 354);
- GGGUUUUGGG (SEQ ID NO: 355);
- GGGUUUUGGG (SEQ ID NO: 356);
- GGGUUUUGGG (SEQ ID NO: 357);
- 15 - GGGUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 358);
- GGGUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 359);
- GGGUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 360);
- GGGUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 361);
- GGGUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 362);
- GGGUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 363);
- 20 - GGGUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 364);
- GGGUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO: 365);
- GGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGUUUUUUUUUUUUUU
- UUUGGG
(SEQ ID NO: 366);
- GGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGGGGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGG (SEQ ID NO:
25 367);
- GGGUUUUGGGGUUUUGGGGUUUUGGGGUUUUGGGGUUUUGGGGUUUUGGG
(SEQ ID NO: 368);
- GUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGG (короткая, богатая GU, SEQ ID NO: 369)

или

- 30 - CCCUUUUUUUUUUUUUUUCCGUUUUUUUUUUUUUUCCGUUUUUUUUUUUUUC
CC
(SEQ ID NO: 370);
- CCCUUUCCGUUUCCGUUUCCGUUUCCGUUUCCGUUUCCGUUUCC
(SEQ ID NO: 371);
- 35 - CCCUUUUUUUUUUUUUUUCCCCGUUUUUUUUUUUUUUCC (SEQ ID NO: 372),

или из последовательностей, идентичных по меньшей мере на 60%, 70%, 80%, 90% или даже 95% любой из этих последовательностей.

Согласно другому конкретному предпочтительному варианту осуществления изобретения указанные последовательности иммуностимулирующих нуклеиновых кислот, прежде всего isPHK, представляют собой или содержат нуклеиновую кислоту формулы (IV) или (V):

$(N_u G_1 X_m G_n N_v)_a$, (формула(IV)) ,

в которой:

45 G обозначает гуанозин (гуанин), уридин (урацил) или аналог гуанозина (гуанин) или уридина (урацил), предпочтительно гуанозин (гуанин) или его аналог;

X обозначает гуанозин (гуанин), уридин (урацил), аденоzin (аденин), тимидин (тимин), цитидин (цитозин) или аналог указанных нуклеотидов (нуклеозиды), предпочтительно

уридин (урацил) или его аналог;

N обозначает нуклеотидную последовательность, состоящую примерно из 4-50, предпочтительно примерно из 4-40, более предпочтительно примерно из 4-30 или 4-20 нукleinовых кислот, при этом каждый N независимо друг от друга выбран из гуанозина (гуанина), уридина (урацила), аденоzина (аденина), тимицина (тимина), цитидина (цитозина) или аналога этих нуклеотидов (нуклеозидов);

l обозначает целое число от 1 до 20, предпочтительно от 1 до 15, наиболее предпочтительно от 1 до 10;

1 обозначает целое число от 1 до 40,

10 при этом, когда l=1, то G обозначает гуанозин (гуанин) или его аналог, когда l>1, то по меньшей мере 50% указанных нуклеотидов (нуклеозидов) представляют собой гуанозин (гуанин) или его аналог;

m обозначает целое число и обозначает по меньшей мере 3;

при этом, когда m=3, то X обозначает уридин (урацил) или его аналог, и когда m>3,

15 то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных уридина (урацила) или аналогов уридина (урацила);

n обозначает целое число от 1 до 40,

при этом, когда n=1, то G обозначает гуанозин (гуанин) или его аналог, когда n>1, то по меньшей мере 50% этих нуклеотидов (нуклеозидов) представляют собой гуанозин 20 (гуанин) или его аналог;

u, v могут независимо друг от друга обозначать целое число от 0 до 50, предпочтительно при этом, когда u=0, то v≥1 или когда v=0, то u≥1;

при этом молекула нукleinовой кислоты формулы (IV) состоит по меньшей мере из 50 нуклеотидов, предпочтительно по меньшей мере 100 нуклеотидов, более

25 предпочтительно по меньшей мере 150 нуклеотидов, еще более предпочтительно по меньшей мере 200 нуклеотидов и наиболее предпочтительно по меньшей мере 250 нуклеотидов;

$(N_u C_l X_m C_n N_v)_a$ (формула(V)),

в которой:

30 С обозначает цитидин (цитозин), уридин (урацил) или аналог цитидина (цитозина) или уридина (урацила), предпочтительно цитидин (цитозин) или его аналог;

X обозначает гуанозин (гуанин), уридин (урацил), аденоzин (аденин), тимицин (тимиин), цитидин (цитозин) или аналог вышеуказанных нуклеотидов (нуклеозидов), предпочтительно уридин (урацил) или его аналог;

35 N обозначает нуклеотидную последовательность, состоящую примерно из 4-50, предпочтительно примерно из 4-40, более предпочтительно примерно из 4-30 или 4-20 нукleinовых кислот, при этом N каждый независимо друг от друга выбран из гуанозина (гуанина), уридина (урацила), аденоzина (аденина), тимицина (тимина), цитидина (цитозина) или аналога указанных нуклеотидов (нуклеозидов);

40 а обозначает целое число от 1 до 20, предпочтительно от 1 до 15, наиболее предпочтительно о 1 до 10;

l обозначает целое число от 1 до 40,

при этом, когда l=1, то C обозначает цитидин (цитозин) или его аналог,

когда l>1, по меньшей мере 50% этих нуклеотидов (нуклеозидов) представляют собой цитидин (цитозин) или его аналог;

m обозначает целое число и обозначает по меньшей мере 3;

при этом, когда m=3, то X обозначает уридин (урацил) или его аналог, когда m>3, то присутствуют по меньшей мере 3 последовательно расположенных уридина (урацила)

или аналогов уридина (урацила);

n обозначает целое число от 1 до 40,

при этом, когда n=1, то С обозначает цитидин (цитозин) или его аналог, когда n>1, то по меньшей мере 50% этих нуклеотидов (нуклеозидов) представляют собой цитидин (цитозин) или его аналог;

u, v могут независимо друг от друга обозначать целое число от 0 до 50,

предпочтительно при этом, когда u=0, то v≥1 или

когда v=0, то u≥1;

при этом молекула нуклеиновой кислоты формулы (V) состоит по меньшей мере из

10 50 нуклеотидов, предпочтительно по меньшей мере 100 нуклеотидов, более предпочтительно по меньшей мере 150 нуклеотидов, еще более предпочтительно по меньшей мере 200 нуклеотидов и наиболее предпочтительно по меньшей мере 250 нуклеотидов.

В формуле (V) любое из определений, указанных выше для элементов N (т.е. N_u и

15 N_v) и X (X_m), прежде всего указанная выше коровая структура, а также для целых чисел a, l, m, n, u и v, применимо также к элементам формулы (V) соответственно, при этом в формуле (V) коровая структура обозначена как C_lX_mC_n. Определение пограничных элементов N_u и N_v идентично определениям, указанным выше для N_u и N_v.

20 Таким образом, согласно наиболее предпочтительному конкретному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении молекулу нуклеиновой кислоты формулы (IV) можно выбирать, например, из числа любых из представленных ниже последовательностей:

UAGCGAAGCUCUUGGACCUAGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGUGCGUUCCUAGAAGUAC

25 ACG (SEQ ID NO: 373);

UAGCGAAGCUCUUGGACCUAGGUUUUUUUUUUUUUUUGGGUGCGUUCCUAGAAGUAC

ACGAUCGCUUCGAGAACCUCCUGGAUCCAaaaaaaaaaaaaACCCACGCAAGGAUCUCA

30 UGUGC (SEQ ID NO: 374);

GGGAGAAAGCUAAGCUUGGAGCAAUGCCGCACAUUGAGGAAACCGAGUUGCA

UAUCUCAGAGUAUUGGCCCCGUGUAGGUUAUUCUUGACAGACAGUGGAGCUUA

35 UUCACUCCCAGGAUCCGAGUCGCAUACUACGGUACUGGUGACAGACCUAGGUCGU

CAGUUGACCAGUCCGCCACUAGACGUGAGUCCGUAAAGCAGUUAGAUGUUACA

CUCUAUUAGAUC (SEQ ID NO: 375);

40

GGGAGAAAGCUAAGCUUGGAGCAAUGCCGCACAUUGAGGAAACCGAGUUGCA

UAUCUCAGAGUAUUGGCCCCGUGUAGGUUAUUCUUGACAGACAGUGGAGCUUA

UUCACUCCCAGGAUCCGAGUCGCAUACUACGGUACUGGUGACAGACCUAGGUCGU

45 CAGUUGACCAGUCCGCCACUAGACGUGAGUCCGUAAAGCAGUUAGAUGUUACA

CUCUAUUAGAUCUCGGAUUACAGCUGGAAGGAGCAGGAGUAGGUUCUUGCUCU

AAGUACCGAGUGUGCCAAUACCCGAUCAGCUUAAAACGAACGGCUCCUCCUCU

UAGACUGCAGCGUAAGUGCGAACUCUGGGAUCAAAUUACUGACUGCCUGGAUU
 ACCCUCCGACAUUAACCUUGUAGCACGCUGUUGCUGUAUAGGUGACCAACGCC
 ACUCGAGUAGACCAGCUCUUAGUCCGGACAAUGAUAGGAGGCGCGGUCAAUC
⁵ UACUUCUGGUAGUUAAGAAUAGGCUGCACCGACCUCUAAAGUAGCGUGUCCU
 CUAG (SEQ ID NO: 376);

GGGAGAAAGCUAAGCUUGGAGCAAUGCCGCACAUUGAGGAAACCGAGUUGCA
¹⁰ UAUCUCAGAGUAUUGGCCCCGUGUAGGUUAUUCUUGACAGACAGUGGAGCUUA
 UUCACUCCCAGGAUCCGAGUCGCAUACUACGGUACUGGUGACAGACCUAGGUCGU
 CAGUUGACCAGUCCGCCACUAGACGUGAGUCCGUAAAGCAGUUAGAUGUUACA
¹⁵ CUCUAAUAGAUCUGGAUUACAGCUGGAAGGAGCAGGAGUAGGUUCUUGCUCU
 AAGUACCGAGUGUGCCAAUACCGAUCAGCUUAAAACGAACGGCUCCUCCUCU
 UAGACUGCAGCGUAAGUGCGAACUCUGGGAUCAAAUUACUGACUGCCUGGAUU
 ACCCUCCGACAUUAACCUUGUAGCACGCUGUUGCUGUAUAGGUGACCAACGCC
²⁰ ACUCGAGUAGACCAGCUCUUAGUCCGGACAAUGAUAGGAGGCGCGGUCAAUC
 UACUUCUGGUAGUUAAGAAUAGGCUGCACCGACCUCUAAAGUAGCGUGUCCU
 CUAGAGCUACCGAGGUUCGCAAUAAGCGUUGAUUAGUGUGCAUAGAACAGAC
 CUCUAAUCGGUGAAACGCCAGAAUGCUCUAAACCUUACCUUCCAAAACGC
²⁵ GUACGGCGAAGACGCGCGCUUAUCUUGUGUACGUUCUCGCACAUGGAAGAAC
 AGCGGGCAUGGUGGUAGGGAAUAGGGAGCUGGGUAGCAGCGAAAAAGGGCCC
 CUGCGCACGUAGCUUCGCUGUUCGUCUGAAACAACCCGGCAUCCGUUGUAGCGAU
 CCCGUUAUCAGUGUUUUCUUGUGCGCACUAAGAUUCAUGGUGUAGUCGACAAU
³⁰ AACAGCGUCUUGGCAGAUUCUGGUACCGUGCCUAUGCCCGGUUGUGCCUCUC
 AGGUGCACAGCGAUACUUAAGCCUUCAGGUACUCGACGUGGGUACCGAUUCG
 UGACACUUCUAAGAUUAUCCACUGUGUUAGCCCCGACCGCCGACCUAACUG
 GUCCAUGUAUACGCAUUCGCUGAGCGGAUCGAUAAAAGCUUGAAUU (SEQ
³⁵ ID NO: 377);

GGGAGAAAGCUAAGCUUAUCCAAGUAGGCUGGUACCGUACACGUAGCCGG
⁴⁰ UAUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGACCGUCUCAAGGUCCAAGGUAGUCUGGU
 AUAAAGGUGCGGAUCCACAGCUGAUGAAAGACUUGUGCGGUACGGUUAUCUCC
 CCUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUAGUAAAUGCGUCUACUGAAUCCAGCGAUGAU
 GCUGGCCAGAUC (SEQ ID NO: 378);

⁴⁵ GGGAGAAAGCUAAGCUUAUCCAAGUAGGCUGGUACCGUACACGUAGCCGG
 UAUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGACCGUCUCAAGGUCCAAGGUAGUCUGGU

AUAAAGGUGCGGAUCCACAGCUGAUGAAAGACUUGUGCGGUACGGUUAAUCUCC
 5 CCUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUAGAAAUGCUCUACUGAAUCCAGCGAUGAU
 GCUGGCCAGAUCUUCGACCACAAGUGCAUAUAGUAGUCAUCGAGGGUCGCCU
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGCCAGUUCUGAGACUUCGUAGAGACUACAG
 10 UUACAGCUGCAGUAGUAACCACUGCGCUAUUGCAGGAAUCCGUUCAGGUUU
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUUCCGCUCACUAUGAUUAAGAACCAAGGUGGAGUGUCAC
 UGCUCUCGAGGUCUCACGAGAGCGCUCGAUACAGUCCUUGGAAGAAUCUUUUUU
 UUUUUUUUUUUUUUUUGUGCGACGAUCACAGAGAACUUCUAUUCAUGCAGGUCU
 GCUCUA (R 722 SEQ ID NO: 379);

15 GGGAGAAAGCUAAGCUUAUCCAAGUAGGCUGGUACCGUACAACGUAGCCGG
 UAUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGACCGUCUCAAGGUCCAAGUUAGUCUGCCU
 AUAAAGGUGCGGAUCCACAGCUGAUGAAAGACUUGUGCGGUACGGUUAAUCUCC
 20 CCUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUAGAAAUGCUCUACUGAAUCCAGCGAUGAU
 GCUGGCCAGAUCUUCGACCACAAGUGCAUAUAGUAGUCAUCGAGGGUCGCCU
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGCCAGUUCUGAGACUUCGUAGAGACUACAG
 UUACAGCUGCAGUAGUAACCACUGCGCUAUUGCAGGAAUCCGUUCAGGUUU
 UUUUUUUUUUUUUUUUUCCGCUCACUAUGAUUAAGAACCAAGGUGGAGUGUCAC
 25 UGCUCUCGAGGUCUCACGAGAGCGCUCGAUACAGUCCUUGGAAGAAUCUUUUUU
 UUUUUUUUUUUUUUUUGUGCGACGAUCACAGAGAACUUCUAUUCAUGCAGGUCU
 GCUCUAGAACGAACUGACCUGACGCCUGAACUUAUGAGCGUGCGUAUUUUUUU
 UUUUUUUUUUUUUCCUCCAACAAUGUCGAUCAAUGCUGGGCUGUUGGAG
 30 ACGCGUCAGCAAUGCCGUGGUCCAUAGGACGUGUAGACUUCUAUUUUUUUU
 UUUUUUUUUUUCCGGGACCACAAUAAUUCUUGCUUGGUUGGGCGCAAGG
 GCCCGUAUCAGGUCAAAACGGGUACAUGUUGCACAGGCUCCUUUUUUUUUU
 UUUUUUUUUUUUCGCUGAGUUAAUCCGGUCUAAAAGACGGCAGACGUCAGUCG
 35 ACAACACGGUCUAAAGCAGUGCUACAAUCUGCCGUGUUCGUGUUUUUUUUUU
 UUUUUUUUGUGAACCUACACGGCGUGCACUGUAGUUCGCAAUUCAUAGGGUACC
 GGCUCAGAGUUAUGCCUUGGUUGAAAACUGCCCAGCAUACUUUUUUUUUUUU
 40 UUUUUCAUAUUCCAUGCUAAGCAAGGAUGCCCGAGUCAUGUUAAGCUUGA
 AUU (SEQ ID NO: 380).

Таким образом, согласно другому наиболее предпочтительному конкретному варианту осуществления изобретения молекулу нукleinовой кислоты формулы (V) можно выбирать, например, из числа любых из представленных ниже

45 последовательностей:

UAGCGAAGCUCUUGGACCUACCUUUUUUUUUUUCCUGCGUCCUAGAACAC
 G (SEQ ID NO: 381)

или

UAGCGAAGCUCUUGGACCUACCUUUUUUUUUUUUCCCCUGCGUUCCUAGAAGUACA
CGAUCGCUUCGAGAACCUUGGAUGGGAAAAAAAAGGGACGCAAGGAUCUCA
5 UGUGC (SEQ ID NO: 382).

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения молекула нуклеиновой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может также находиться в виде модифицированной нуклеиновой кислоты.

10 Согласно первому объекту изобретения молекулу нуклеиновой кислоты, указанную в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, можно получать в виде «стабилизированной нуклеиновой кислоты», предпочтительно в виде стабилизированной РНК или ДНК, более предпочтительно в виде РНК, практически устойчивой к 15 расщеплению *in vivo* (например, экзо- или эндонуклеазой).

В этом контексте молекула нуклеиновой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может нести модификации каркаса, модификации сахара или модификации оснований. Модификация каркаса согласно настоящему изобретению

20 представляет собой модификацию, при которой фосфаты каркаса нуклеотидов, входящие в молекулу нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, модифицируют химически. Модификация сахара согласно настоящему изобретению представляет собой химическую модификацию сахара нуклеотидов молекулы нуклеиновой кислоты, 25 которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу. Кроме того, модификация оснований согласно настоящему изобретению представляет собой химическую модификацию основного фрагмента нуклеотидов молекулы нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу.

30 Согласно другому объекту изобретения молекула нуклеиновой кислоты, указанная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, может нести липидную модификацию. Указанная модифицированная липидом нуклеиновая кислота, как правило, представляет собой нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании.

35 Указанная модифицированная липидом молекула нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, как правило, содержит также по меньшей мере один линкер, ковалентно связанный с молекулой нуклеиновой кислоты, и по меньшей мере один липид, ковалентно связанный с соответствующим линкером. В альтернативном варианте

40 модифицированная липидом молекула нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере одну из молекул нуклеиновых кислот, указанных в настоящем описании, и по меньшей мере один (бифункциональный) липид, ковалентно связанный (без линкера) с указанной молекулой нуклеиновой кислоты. Согласно третьему альтернативному варианту модифицированная липидом молекула нуклеиновой кислоты содержит

45 молекулу нуклеиновой кислоты, указанную в настоящем описании, по меньшей мере один линкер, ковалентно связанный с указанной молекулой нуклеиновой кислоты, и по меньшей мере один липид, ковалентно связанный с соответствующим линкером, а также по меньшей мере один (бифункциональный) липид, ковалентно связанный (без

линкера) с молекулой нуклеиновой кислоты.

Молекулу нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, можно стабилизировать также с использованием различных подходов для предупреждения расщепления

- 5 молекулы нуклеиновой кислоты, когда РНК или мРНК применяют в качестве молекулы нуклеиновой кислоты для целей осуществления изобретения. В данной области известно, что нестабильность и (быстрое) расщепление РНК, как правило, может представлять собой серьезную проблему при применении композиций на основе РНК. Такая нестабильность РНК, как правило, связана с расщепляющими РНК ферментами,
- 10 «РНКазами» (рибонуклеазы), причем загрязнение указанными рибонуклеазами может иногда приводить к полному расщеплению РНК в растворе. Таким образом, имеющее место в естественных условиях расщепление РНК в цитоплазме клеток очень следует очень точно регулировать и загрязнение РНКазой можно предотвращать с помощью специальной обработки перед применением указанных композиций, в частности с
- 15 помощью диэтилпирокарбоната (DEPC). Из существующего уровня техники известно несколько механизмов защиты от имеющего место в естественных условиях расщепления, которые можно также применять. Например, концевая структура, как правило, имеет решающее значение прежде всего для мРНК. Например, на 5'-конце встречающихся в естественных условиях мРНК обычно находится структура в виде
- 20 так называемого «кэпа» (модифицированный гуанозиновый нуклеотид), а на 3'-конце, как правило, находится последовательность, включающая вплоть до 200 аденоzinовых нуклеотидов (так называемый поли-А хвост).

Согласно другому объекту изобретения молекулу нуклеиновой кислоты, представленную в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, можно модифицировать и тем самым стабилизировать, прежде всего, если молекула нуклеиновой кислоты находится в форме кодирующей нуклеиновой кислоты, например, мРНК, путем модификации содержания G/C в молекуле нуклеиновой кислоты, прежде всего мРНК, предпочтительно в ее кодирующей области.

Согласно наиболее предпочтительному объекту настоящего изобретения содержание G/C в кодирующей области молекулы нуклеиновой кислоты, представленной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если молекула нуклеиновой кислоты находится в форме мРНК, изменяют, прежде всего повышают, по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области конкретной кодирующей последовательности дикого типа, т.е. немодифицированной мРНК. Аминокислотная последовательность, кодируемая последовательностью нуклеиновой кислоты, предпочтительно является немодифицированной по сравнению с аминокислотной последовательностью, кодируемой конкретной мРНК дикого типа.

Изменение содержания G/C в молекуле нуклеиновой кислоты, представленной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если молекула нуклеиновой кислоты находится в форме мРНК или кодирует мРНК, основано на том факте, что последовательность любой области мРНК, подлежащей трансляции, является важной для эффективной трансляции указанной мРНК. Таким образом, состав и последовательность различных нуклеотидов являются важными. В частности, последовательности с повышенным содержанием G (гуанозин)/C (цитозин) являются более стабильными по сравнению с последовательностями, имеющими повышенное

содержание А (аденозин)/и (урацил). Таким образом, согласно изобретению кодоны кодирующей последовательности или мРНК изменяют по сравнению с кодирующей последовательностью или мРНК дикого типа, в то время как транслируемая аминокислотная последовательность сохраняют, в результате чего они включают 5 повышенное количество нуклеотидов G/C. В соответствии с тем фактом, что несколько кодонов кодируют одну и ту же аминокислоту (так называемая вырожденность генетического кода), можно определять наиболее предпочтительные с позиций стабильности кодоны (так называемые альтернативные наиболее часто встречающиеся кодоны).

10 Предпочтительно содержание G/C в кодирующей области молекулы нуклеиновой кислоты, представленной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК, увеличивают по меньшей мере на 7%, более предпочтительно по меньшей мере на 15%, 15 наиболее предпочтительно по меньшей мере на 20%, по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа. Согласно конкретному объекту изобретения заменяют по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90%, 95% или даже 100% пригодных для замены 20 кодонов в области, кодирующей белок или пептид, указанный в настоящем описании, или их фрагмент или вариант, или во всей последовательности мРНК дикого типа или кодирующей последовательности, увеличивая тем самым содержание G/C в указанной последовательности.

В этом контексте наиболее предпочтительным является повышение содержания G/C 25 в молекуле нуклеиновой кислоты, представленной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК, до максимума (т.е. в 100% заменяемых кодонов), прежде всего, в области, кодирующей белок, по сравнению с последовательностью дикого типа.

30 Согласно изобретению другая предпочтительная модификация молекулы нуклеиновой кислоты, представленной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК, основана на том факте, что эффективность трансляции определяется также различной частотой 35 встречаемости тРНК в клетках. Если так называемые «редкие» кодоны присутствуют в повышенных количествах в молекуле нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК, то соответствующая мРНК транслируется существенно хуже по 40 сравнению с вариантом, когда присутствуют кодоны, кодирующие относительно «часто встречающиеся» тРНК.

Прежде всего, если модифицированная молекула нуклеиновой кислоты, 45 представленная в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК, то кодирующая область модифицированной нуклеиновой кислоты предпочтительно является модифицированной по сравнению с соответствующей областью мРНК дикого типа или кодирующей последовательностью, таким образом, что по меньшей мере один

кодон последовательности дикого типа, который кодирует относительно редкую тРНК в клетках, заменен на кодон, который кодирует относительно часто встречающуюся тРНК в клетках, которая несет такую же аминокислоту, что и относительно редкая тРНК. С помощью такой модификации последовательности молекулы нуклеиновой

- 5 кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК, модифицируют так, что интродуцируют кодоны, доступные для часто встречающихся тРНК. Другими словами, согласно изобретению с помощью такой модификации все кодоны последовательности дикого
- 10 типа, которые кодируют тРНК, являющиеся относительно редкими в клетке, в каждом случае заменяют на кодоны, которые кодируют тРНК, относительно часто встречающиеся в клетке, и которые в каждом случае переносят такую же аминокислоту, что и относительно редкие тРНК.

тРНК, встречающиеся относительно часто в клетке, и наоборот, встречающиеся

- 15 относительно редко, известны специалистам в данной области, см., например, Akashi, Curr. Opin. Genet. Dev., 11(6), 2001, сс.660-666. Кодоны, которые применяют для тРНК конкретной аминокислоты, которая встречается наиболее часто, например кодон Gly, который использует тРНК, встречающуюся наиболее часто в (человеческой) клетке, являются наиболее предпочтительными.

- 20 Согласно изобретению наиболее предпочтительным является объединение повышенного, предпочтительно до максимума, содержания в последовательности G/C, в модифицированной молекуле нуклеиновой кислоты, представленной в настоящем описании, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота
- 25 находится в форме мРНК или кодирует мРНК, с «часто встречающимися» кодонами, без изменения аминокислотой последовательности белка, кодируемого кодирующей областью молекулы нуклеиновой кислоты. Этот предпочтительный объект изобретения позволяет наиболее эффективно транслировать и стабилизировать (модифицированную) молекулу нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении
- 30 комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК или кодирует мРНК.

- Согласно другому предпочтительному объекту изобретения молекула нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нуклеиновая кислота
- 35 находится в форме кодирующей молекулы нуклеиновой кислоты, предпочтительно несет по меньшей мере одну стабилизирующую последовательность на 5'- и/или 3'-конце. Эти стабилизирующие последовательности в 5'- и/или 3'-нетранслируемых областях обладают способностью увеличивать времени полужизни нуклеиновой кислоты в цитозоле. Такие стабилизирующие последовательности могут быть на 100% идентичны
- 40 встречающимся в естественных условиях последовательностям, которые присутствуют в вирусах, бактериях и эукариотических организмах, но могут быть также частично или полностью синтетическими. В качестве примера стабилизирующих последовательностей, которые можно применять в настоящем изобретении для стабилизации нуклеиновой кислоты, можно отметить нетранслируемые
- 45 последовательности (UTR) гена (альфа)-глобина, например, из Homo sapiens или Xenopus laevis. Другим примером стабилизирующей последовательности является последовательность общей формулы (C/U)CCAN_xCCC(U/A)Py_xUC(C/U)CC (SEQ ID NO: 383), которая содержится в 3'-UTR обладающей очень большой стабильностью мРНК,

кодирующей (альфа)-глобин, коллаген типа (I), 15-липоксигеназу или тирозингидроксилазу (см. Holcik и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 1997, cc.2410-2414). Естественно, такие стабилизирующие последовательности можно применять индивидуально или в сочетании друг с другом или также в сочетании с другими 5 стабилизирующими последовательностями, известными специалисту в данной области.

Однако в указанной в описании молекуле нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нукleinовая кислота находится в форме мРНК, предпочтительно осуществляют замену, добавление или элиминацию оснований с 10 использованием ДНК-матрицы для получения молекулы нукleinовой кислоты с помощью хорошо известных методов, таких как сайтнаправленный мутагенез, или на основе стратегии олигонуклеотидного лигирования (см., например, Maniatis и др., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3-е изд., изд-во Cold Spring Harbor, NY, 2001). При осуществлении указанного процесса для получения 15 молекулы нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, в том случае, когда нукleinовая кислота находится в форме мРНК, соответствующую молекулу ДНК можно транскрибировать *in vitro*. Эта ДНК-матрица предпочтительно содержит приемлемый промотор, например, промотор T7 или SP6, для транскрипции 20 *in vitro*, за которым расположена требуемая нуклеотидная последовательность молекулы нукleinовой кислоты, например, мРНК, которую надо получить, и сигнал терминации для транскрипции *in vitro*. Молекулу ДНК, образующую матрицу по меньшей мере для одной представляющей интерес РНК, можно получать путем ферментативной 25 пролиферации и последующего выделения в виде части плазмида, которая может реплицироваться в бактериях. Плазмида, которые можно рассматривать в качестве приемлемых для осуществления настоящего изобретения, представляют собой, например, плазмида pT7T (GenBank, регистрационный номер U26404; Lai и др., Development, 121, 1995, cc.2349-2360), серии pGEM®, например, pGEM®-1 (GenBank, регистрационный 30 номер X65300; фирма Promega) и pSP64 (GenBank, регистрационный номер X65327); ср. также Mezei и Storts, Purification of PCR Products в: PCR Technology: Current Innovation, под ред. Griffin и Griffin, изд-во CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.

Молекулы нукleinовых кислот, предлагаемые в изобретении, которые указаны в настоящем описании, можно получать с помощью любого метода, известного в данной области, включая методы синтеза, такие, например, как твердофазный синтез, а также 35 методы *in vitro*, например, реакции транскрипции *in vitro*.

Согласно другому наиболее предпочтительному объекту изобретения указанная в описании молекула нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нукleinовая кислота находится в форме молекулы кодирующей нукleinовой кислоты, 40 в дополнительном или альтернативном варианте может кодировать секреторный сигнальный пептид. Указанные сигнальные пептиды представляют собой последовательности, которые, как правило, состоят примерно из 15-30 аминокислот и предпочтительно локализованы на N-конце кодируемого пептида (но, не ограничиваясь только указанным). Сигнальные пептиды, указанные в настоящем описании, позволяют 45 осуществлять транспорт белка или пептида, кодируемого указанной в описании молекулой нукleinовой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего, если нукleinовая кислота находится в форме мРНК, в определенный клеточный

компартмент, предпочтительно на поверхность клетки, в эндоплазматический ретикулум (ЭР) или в эндосомальный-лизосомальный компартмент. Примерами последовательностей секреторных сигнальных пептидов, указанных в настоящем описании, являются (но, не ограничиваясь только ими) сигнальные последовательности

- 5 классических или неклассических молекул ГКГ (например, сигнальные последовательности молекул ГКГ класса I и II, например, молекула ГКГ класса I HLA-A*0201), сигнальные последовательности цитокинов или иммуноглобулинов, указанных в настоящем описании, сигнальные последовательности инвариантной цепи иммуноглобулинов или антител, указанных в настоящем описании, сигнальные
- 10 последовательности Lamp1, тапазина, Egr57, калретикулина, калнексина и других ассоциированных с мембраной белков или белков, ассоциированных с эндоплазматическим ретикулумом (ЭР) или эндосомальным-лизосомальным компартментом. Наиболее предпочтительно согласно настоящему изобретению можно применять сигнальные последовательности молекулы ГКГ класса I HLA-A*0201.

- 15 Любым из вышеуказанных модификаций можно подвергать указанную в описании молекулу нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, а также любую нуклеиновую кислоту, применяемую в контексте настоящего изобретения, и модификации можно, если это желательно или необходимо, объединять двух с другом
- 20 в любой комбинации, при условии, что такие комбинации модификаций не интерферируют друг с другом в соответствующей нуклеиновой кислоте. Специалист в данной области может осуществлять их соответствующий выбор.

Указанная в описании молекула нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, а также белки или пептиды, кодируемые этой молекулой нуклеиновой кислоты, могут содержать фрагменты или варианты этих последовательностей. Указанные фрагменты или варианты могут, как правило, содержать последовательность, идентичную одной из вышеуказанных нуклеиновых кислот или любому из белков или пептидов или последовательностей, если они кодируются по меньшей мере одной

- 30 молекулой нуклеиновой кислоты, по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, предпочтительно по меньшей мере на 70%, более предпочтительно по меньшей мере на 80%, более предпочтительно также по меньшей мере на 85%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 95% или даже на 97%, 98% или 99%, идентична полной последовательности
- 35 дикого типа либо на нуклеотидном, либо на аминокислотном уровне.

В контексте настоящего изобретения «фрагменты» белков или пептидов (кодируемых нуклеиновой кислотой, указанной в настоящем описании) могут содержать последовательность белка или пептида, указанного в настоящем описании, которая касательно ее аминокислотной последовательности (или кодирующей ее молекулы нуклеиновой кислоты) укорочена на N-конце, C-конце и/или внутри последовательности по сравнению с аминокислотной последовательностью исходного (нативного) белка (или кодирующей его молекулы нуклеиновой кислоты). Таким образом, такое укорочение может иметь место на аминокислотном уровне или соответственно на нуклеотидном уровне. Таким образом, в контексте настоящего описания идентичность последовательности касательно указанного фрагмента, может предпочтительно относится к идентичности относительно полного белка или пептида, указанного в настоящем описании, или полной (кодирующей) молекулы нуклеиновой кислоты указанного белка или пептида. Аналогично этому «фрагмент» нуклеиновых кислот в

контексте настоящего изобретения может содержать нуклеотидную последовательность, указанную в настоящем описании, где указанная нуклеотидная последовательность укорочена на 5'-, 3'-конце и/или во внутренней области последовательности по сравнению молекулой нуклеиновой кислоты исходной (нативной) молекулы нуклеиновой 5 кислоты. Таким образом, в контексте настоящего описания идентичность последовательности касательно указанного фрагмента может предпочтительно относиться к полной нуклеиновой кислоте, указанной в настоящем описании.

В контексте настоящего изобретения фрагменты белков или пептидов (например, кодируемы молекулой нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в 10 изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу) могут содержать также последовательность белка или пептида, указанного в настоящем описании, который содержит от примерно 6 до примерно 20 или даже большее количество аминокислот, например, фрагменты, процессированные и презентуемые молекулами ГКГ класса I, предпочтительно имеют длину от примерно 8 до примерно 15 10 аминокислот, например, 8, 9 или 10 (или даже 6, 7, 11 или 12 аминокислот), или фрагменты, процессированные и презентуемые молекулами ГКГ класса II, предпочтительно состоят примерно из 13 или большего количества аминокислот, например, из 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или даже большего количества аминокислот, при этом указанные фрагменты можно выбирать из любой области аминокислотной 20 последовательности. Эти фрагменты, как правило, распознаются Т-клетками в форме комплексов, состоящих из пептидного фрагмента и молекулы ГКГ, т.е. фрагменты, как правило, не распознаются в их нативной форме.

В контексте настоящего описания фрагменты белков или пептидов (например, кодируемы молекулой нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в 25 изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу) могут содержать также эпитопы указанных белков или пептидов. Эпитопы (которые называют также «антигенными детерминантами») в контексте настоящего изобретения, как правило, обозначают фрагменты, локализованные на наружной поверхности (нативных) белков или пептидов, указанных в настоящем описании, которые состоят 30 преимущественно из 5-15 аминокислот, более предпочтительно из 5-12 аминокислот, еще более предпочтительно из 6-9 аминокислот, и которые могут распознаваться антителами или В-клеточными рецепторами, т.е. они могут распознаваться в их нативной форме. Указанные эпитопы белков или пептидов можно выбирать также из любых 35 указанных в настоящем описании вариантов таких белков или пептидов. В этом контексте антигенные детерминанты могут представлять собой конформационные или прерывистые эпитопы, состоящие из сегментов белков или пептидов, указанных в настоящем описании, которые представляют собой прерывистую аминокислотную последовательность белков или пептидов, указанных в настоящем описании, но собранную вместе в виде трехмерной структуры, или могут представлять собой 40 непрерывные или линейные эпитопы, которые состоят из одной полипептидной цепи.

В контексте настоящего изобретения «варианты» белков или пептидов (например, кодируемы нуклеиновой кислотой, указанной в настоящем описании) могут кодироваться молекулой нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу. Так, 45 можно создавать белок или пептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая отличается от исходной последовательности одной мутацией или несколькими мутациями, например, одной или несколькими замененной(ыми), встроенной(ыми) и/или удаленной(ыми) путем делеции аминокислотой(ами). Предпочтительно эти

фрагменты и/или варианты имеют такую же биологическую функцию или специфическую активность, что и полноразмерный нативный белок, например, присущие ему антигенные свойства.

В контексте настоящего изобретения «варианты» белков или пептидов (например, 5 кодируемых нуклеиновой кислотой, указанной в настоящем описании) могут содержать консервативную(ые) аминокислотную(ые) замену(ы) относительно их нативной, т.е. немутантной встречающейся в физиологических условиях последовательностью. Эти аминокислотные последовательности, а также кодирующие их нуклеотидные 10 последовательности подпадают под понятие вариантов, указанных в настоящем описании. Замены, при осуществлении которых аминокислоты, относящиеся к одному и тому же классу, заменяют друг на друга, называют консервативными заменами. В частности, они представляют собой аминокислоты, которые имеют алифатические боковые цепи, положительно или отрицательно заряженные боковые цепи, 15 ароматические группы в боковых цепях или аминокислоты, боковые цепи которых могут входить в водородные мостики, например, боковые цепи которых имеют гидроксильную функцию. Это означает, что, например, аминокислоту, имеющую полярную боковую цепь, заменяют на другую аминокислоту, имеющую аналогичную полярную боковую цепь, или, например, аминокислоту, характеризующуюся 20 гидрофобной боковой цепью, заменяют на другую аминокислоту, которая имеет аналогичную гидрофобную боковую цепь (например) серин (трейонин) на треонин (серин) или лейцин (изолейцин) на изолейцин (лейцин). Возможны инсерции или замены, в частности, в тех положениях в последовательности, которые не приводят к 25 модификации трехмерной структуры или не влияют на связывающую область. Модификации трехмерной структуры, полученные путем инсерции(ий) или делеции(ий), можно легко определять с помощью, например CD-спектров (спектры циркулярного дихроизма) (Urry, Absorption, Circular Dichroism and ORD of Polypeptides, в: Modern Physical Methods in Biochemistry, под ред. Neuberger и др., изд-во Elsevier, Amsterdam).

Кроме того, в контексте настоящего описания варианты белков или пептидов, 30 которые могут кодироваться молекулой нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, могут включать также последовательности, в которых нуклеотиды нуклеиновой кислоты изменены в результате вырожденности генетического кода, что не приводят к изменению соответствующей аминокислотной последовательности белка или пептида, т.е. аминокислотная последовательность или по меньшей мере ее часть 35 может не отличаться от исходной последовательности одной не несколькими мутациями, как они определены выше.

Для определения процента идентичности двух последовательностей, например, 40 нуклеотидных последовательностей или аминокислотных последовательностей, указанных в настоящем описании, предпочтительно аминокислотных последовательностей, кодируемой указанной в настоящем описании молекулой нуклеиновой кислоты, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, или самих аминокислотных 45 последовательностей, последовательности можно выравнивать для последующего сравнения друг с другом. Так, например, положение в первой последовательности можно сравнивать с соответствующим положением во второй последовательности. Если положение в первой последовательности занято тем же компонентом, который находится в этом положении во второй последовательности, то две последовательности являются идентичными в этом положении. Если это не имеет места, то

последовательности различаются в этом положении. Если во второй последовательности присутствует инсерция относительно первой последовательности, то можно встраивать бреши в первую последовательность, что позволяет продолжать осуществление сравнительного анализа. Если во второй последовательности сделана делеция

- 5 относительно первой последовательности, то можно встраивать бреши во вторую последовательность, что позволяет продолжать осуществление сравнительного анализа. Таким образом, процент идентичности двух последовательностей является функцией количества идентичных положений, деленной на общее количество положений, включая те положения, которые заняты только в одной последовательности. Процент
- 10 идентичности двух последовательностей можно определять с помощью математического алгоритма. Предпочтительным примером математического алгоритма, который можно применять является (но, не ограничиваясь только им) алгоритм, предложенный Karlin и др., PNAS USA, 90, 1993, cc.5873-5877 или Altschul и др., Nucleic Acids Res., 25, 1997, cc.3389-3402. Указанный алгоритм входит в программу BLAST. С помощью этой
- 15 программы можно идентифицировать последовательности, обладающие конкретной степенью идентичности с последовательностями, предлагаемыми в настоящем изобретении.

В предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу, катионный компонент полимерного носителя, указанного в настоящем описании, и нуклеиновая кислота, представляющая собой карго-молекулу, как правило, находятся в молярном соотношении примерно 1 к 10000, предпочтительно в молярном соотношении примерно 5 к 5000, более предпочтительно в молярном соотношении примерно 10 к 2500, еще более предпочтительно в молярном соотношении примерно 25 к 2000 и наиболее предпочтительно в молярном соотношении примерно 25 к 1000 (соотношение между полимерным носителем и нуклеиновой кислотой).

Кроме того, в предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу, катионный компонент полимерного носителя, указанного в настоящем описании, и нуклеиновая кислота, представляющая собой карго-молекулу, предпочтительно характеризуются величиной отношения N/P, составляющей по меньшей мере 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,75, 1, 1,5 или 2. Предпочтительно величина отношения N/P находится в диапазоне от примерно 0,1, 0,3, 0,4, 0,5, 0,75, 1,0, 1,5 или 2 до 20, предпочтительно в диапазоне примерно от 0,2 (0,5 или 0,75 или 1,0) до 12, и еще более предпочтительно величина отношения N/P составляет от примерно 0,4 (0,75 или 1,0) до 10. В этом контексте величина отношения N/P является мерой ионного заряда катионного (боковая цепь) компонента полимерного носителя или самого полимерного носителя. В частности, если катионные свойства катионного компонента определяются атомами азота (боковых цепей аминокислот), то величина отношения N/P отражает соотношение между основными атомами азота и остатками фосфата в нуклеотидном каркасе, с учетом того, что атомы азота (боковой цепи) в катионном компоненте полимерного носителя вносят вклад в положительные заряды, а фосфат фосфатного каркаса нуклеиновой кислоты вносит вклад в отрицательный заряд. Формула представлена в примерах. Величину отношения N/P определяют как отношение содержаний азота/фосфата (отношение N/P) во всем предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу. Это, как правило, отражает содержание/количество катионных компонентов в полимерном носителе и является характеристикой содержания/количество нуклеиновых кислот, связанных или образующих комплекс в предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу. Указанное отношение можно рассчитывать

на основе того, что, например, 1 мкг РНК, как правило, содержит примерно 3 нмоля остатков фосфата, при условии, что для РНК характерно статистическое распределение оснований. Кроме того, 1 нмоль пептида, как правило, содержит примерно х нмолей остатков азота в зависимости от молекулярной массы и количества (катионных)

5 аминокислот.

В этом контексте для целей трансфекции *in vitro* является предпочтительным, если в предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу, присутствуют катионный компонент полимерного носителя, указанного в настоящем описании, и нуклеиновая кислота, представляющая собой карго-молекулу, 10 которые характеризуются величиной N/P-отношения, составляющей по меньшей мере примерно 1 или предпочтительно составляющей примерно от 1 до 20.

Если экспрессия кодируемого белка или транскрипция кодируемой нуклеиновой кислоты, например, мРНК или siРНК, представляющей собой карго-молекулу нуклеиновой кислоты, предназначена для терапевтических целей (применение *in vivo*),

15 то предпочтительной является величина отношения N/P, составляющая по меньшей мере 0,1 (0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6), предпочтительно составляющая примерно от 0,1 (0,2, 0,3, 0,4., 0,5 или 0,6) до 1,5. Еще более предпочтительным является диапазон величин отношения N/P от 0,2 до 0,9 или диапазон величин отношения N/P от 0,5 до 0,9. В том случае, когда предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель 20 и карго-молекулу, применяют (*in vivo*) для иммуностимуляции, например, в качестве иммуностимулирующего агента или адьюванта (с целью индукции врожденного иммунного ответа), то предпочтительной является величина отношения N/P, составляющая от примерно 0,1 до 20, более предпочтительно величина отношения N/P, составляющая от 0,1 до 5 или от 0,1 до 1,5.

25 В конкретном случае, когда требуется индукция IFN-а с использованием предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, в качестве (*in vivo*) иммуностимулирующего агента или адьюванта, то предпочтительной является величина отношения N/P, составляющая по меньшей мере 0,1 (0,2, 0,3, 0,4, 0,5 или 0,6), или величина отношения N/P, находящаяся в диапазоне от 30 0,1 до 1, или более предпочтительно величина отношения N/P, находящаяся в диапазоне от 0,2 до 0,9, или величина отношения N/P, находящаяся в диапазоне 0,5 до 0,9. В другом варианте, когда требуется индукция TNF α с использованием предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, в качестве (*in vivo*) иммуностимулирующего агента или адьюванта, то наиболее 35 предпочтительной является величина отношения N/P, составляющая от 1 до 20.

Величина отношения N/P значительно влияет на поверхностный заряд полученного предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу. Так, предпочтительно, чтобы полученный предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, имел для целей 40 трансфекции *in vitro* положительный заряд, а для целей трансфекции *in vivo*, прежде всего, если требуется экспрессия кодируемого белка или транскрипция кодируемой нуклеиновой кислоты представляющей собой карго-молекулу нуклеиновой кислоты имел отрицательный или нейтральный заряд. Поверхностный заряд полученного предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, можно обозначать как дзета-потенциал, который можно оценивать методом 45 допплеровского электрофореза с помощью устройства Zetasizer Nano (фирма Malvern Instruments, Малверн, Великобритания).

Настоящее изобретение относится также к способу получения предлагаемого в

изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, заключающемуся в том, что осуществляют стадии, на которых:

- 5 а) получают по меньшей мере один катионный белок или пептид, указанный в настоящем описании, и/или по меньшей мере один катионный или поликатионный полимер и необязательно по меньшей мере один аминокислотный компонент (АК), указанный в настоящем описании, каждый из которых содержит по меньшей мере одну -SH-группу,
- 10 б) получают по меньшей мере одну молекулу нуклеиновой кислоты, указанную в настоящем описании, предпочтительно в количестве, необходимом для обеспечения вышеуказанных соотношений,
- 15 в) смешивают компоненты, полученные на стадиях а) и б), предпочтительно в основных или нейтральных средах, указанных в настоящем описании, предпочтительно в присутствии кислорода или дополнительного инициирующего агента, указанного в настоящем описании, предпочтительно при значении рН, температуре и в течение периода времени, которые указаны в настоящем описании, и тем самым осуществляют конденсацию и полимеризацию катионных компонентов, полученных на стадии а), друг с другом через дисульфидные связи (посредством конденсационной полимеризации или поликонденсации) с получением полимерного носителя и формирование комплекса
- 20 молекулы нуклеиновой кислоты, полученной на стадии б), с катионными компонентами, полученными на стадии а),
- 25 г) необязательно очищают предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, полученный на стадии в), предпочтительно с помощью метода, указанного в настоящем описании;
- д) необязательно лиофилизируют предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, полученный на стадии в) или г).

Способ получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, включает многостадийную реакцию конденсационной полимеризации или поликонденсации через -SH-группы эдуктов, например, катионных пептидов или полимеров, указанных в настоящем описании, и необязательно дополнительных аминокислотных компонентов (АК) на стадии в). Реакция конденсационной полимеризации или поликонденсации, которую проводят одновременно для получения комплекса или электростатического связывания молекулы нуклеиновой кислоты, предпочтительно позволяет получать предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, в котором полимерный носитель представляет собой конденсационный полимер, в котором индивидуальные компоненты сшиты дисульфидными связями.

Как указано в настоящем описании, на стадии а) предлагаемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, получают по меньшей мере один катионный или поликатионный белок или пептид, указанный в настоящем описании, и/или по меньшей мере один катионный или поликатионный полимер, указанный в настоящем описании, предпочтительно в указанных выше соотношениях. Эти компоненты смешивают на стадии в) с молекулой нуклеиновой кислоты, полученной на стадии б), предпочтительно в основных или нейтральных средах, указанных в настоящем описании, предпочтительно в присутствии кислорода или дополнительного инициирующего агента, указанного в настоящем описании, предпочтительно при значении рН, температуре и в течение периода времени, которые указаны в настоящем описании, и тем самым конденсируют

и полимеризируют эти компоненты друг с другом через дисульфидные связи (посредством конденсационной полимеризации или поликонденсации) с получением полимерного носителя, образующего комплекс с молекулой нуклеиновой кислоты, указанной в настоящем описании.

- 5 Согласно альтернативному варианту на стадии а) предлагаемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, получают по меньшей мере один катионный или поликатионный белок или пептид, указанный в настоящем описании, и/или по меньшей мере один катионный или поликатионный полимер, указанный в настоящем описании,
- 10 10 и необязательно на стадии а) по меньшей мере один аминокислотный компонент (АК), указанный в настоящем описании, и применяют для реакции конденсационной полимеризации или поликонденсации и реакции комплексообразования перед добавлением нуклеиновой кислоты, полученной на стадии б), но с использованием таких же условий полимеризации, которые указаны для стадии в). Затем на стадии в)
- 15 15 смешивают полимеризованный полимерный носитель и нуклеиновую кислоту, полученную на стадии б). Предпочтительно все компоненты получают и смешивают в указанных выше соотношениях, предпочтительно в основных или нейтральных средах, указанных в настоящем описании, предпочтительно в присутствии кислорода или дополнительного инициирующего агента, указанного в настоящем описании,
- 20 20 предпочтительно при значении pH, температуре и в течение периода времени, которые указаны в настоящем описании. При смешении и инициации реакции компоненты конденсируются и таким образом полимеризируются друг с другом через дисульфидные связи (посредством конденсационной полимеризации или поликонденсации) с образованием полимерного носителя, образующего комплекс с молекулой нуклеиновой
- 25 25 кислоты, указанной в настоящем описании.

В обоих вышеуказанных вариантах для осуществления указанной выше конденсационной полимеризации можно выбирать различные полимерные носители, в частности различные пептиды и/или различные полимеры. В этом контексте выбор различных компонентов полимерного носителя, как правило, зависит от требуемых свойств конечного полимерного носителя и требуемой катионной силы конечного полимерного носителя. Таким образом, содержание катионных компонентов можно дополнить «разводить» или модифицировать на указанной выше альтернативной стадии а), например, путем интродукции аминокислотного компонента (АК), указанного в настоящем описании, предпочтительно с использованием приведенных выше соотношений. Таким образом, можно получать модифицированный полимерный носитель, в котором катионный характер немодифицированного полимерного носителя, как правило, сохраняется в пределах, указанных в настоящем описании. Таким образом, свойства конечного полимерного носителя при необходимости можно регулировать на стадиях а) на основе свойств компонентов (АК) путем встраивания аминокислотного компонента (АК), указанного в настоящем описании.

На стадии в) по меньшей мере один катионный или поликатионный белок или пептид, указанный в настоящем описании, и/или по меньшей мере один катионный или поликатионный полимер, указанный в настоящем описании, и необязательно по меньшей мере один аминокислотный компонент (АК) и по меньшей мере одна нуклеиновая кислота, указанная в настоящем описании, предпочтительно находятся в основных или нейтральных средах, указанных для стадии в) заявляемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу. Значение pH указанных основных или нейтральных сред составляет

от примерно 5 до примерно 10, предпочтительно значение pH составляет от примерно 6 до примерно 9, более предпочтительно значение pH составляет от примерно 7 до примерно 8, например, примерно 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5 или 9, или находится в любом диапазоне, границами которого являются любые два из вышеуказанных значений.

5 Кроме того, температура раствора на стадии в) предпочтительно составляет от примерно 5°C до примерно 60°C, более предпочтительно составляет от примерно 15°C до примерно 40°C, еще более предпочтительно составляет от примерно 20°C до примерно 30°C и наиболее предпочтительно составляет от примерно 20°C до примерно 25°C, например, примерно 25°C.

10 На стадии в) предлагаемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, в качестве приемлемых можно использовать буферы, указанные в настоящем описании. Предпочтительные буферы могут содержать (но, не ограничиваясь только ими) карбонатные буферы, боратные буферы, бицин-буфер, CHES-буфер, CAPS-буфер, 15 содержащие этаноламин буферы, HEPES, MOPS-буфер, фосфатный буфер, PIPES-буфер, Трис-буфер, Трицин-буфер, TAPS-буфер и/или TES-буфер в качестве забуферивающих агентов. Наиболее предпочтительным является карбонатный буфер.

15 Путем смешения компонентов, предпочтительно в присутствии кислорода, предпочтительно в присутствии основных или нейтральных сред, указанных в настоящем 20 описании, запускают реакцию конденсационной полимеризации или поликонденсации и комплексообразования по меньшей мере одной молекулы нуклеиновой кислоты. Для этой цели на стадии в) смесь предпочтительно обрабатывают кислородом или могут начинать реакцию с использованием другого инициирующего агента, например, взятого 25 в катализическом количестве окислителя, например, ДМСО и т.д. Путем запуска реакции конденсационной полимеризации или поликонденсации конденсируют по меньшей мере один катионный или поликатионный белок или пептид и/или по меньшей мере один катионный или поликатионный полимер и необязательно по меньшей мере один аминокислотный компонент (АК), указанные в настоящем описании, и тем самым 30 полимеризируют их друг с другом с помощью дисульфидных связей (конденсационная полимеризация или поликонденсация). На указанной реакционной стадии а) предпочтительно создают линейные полимеры, используя мономеры, содержащие по меньшей мере одну реактивную -SH-группу, т.е. по меньшей мере один катионный или поликатионный белок или пептид и/или по меньшей мере один катионный или 35 поликатионный полимер и необязательно по меньшей мере один аминокислотный компонент (АК), которые указаны в настоящем описании, при этом каждый компонент несет на своем конце по меньшей мере одну свободную -SH-группу указанную в настоящем описании. Однако можно использовать компоненты, содержащие более одной, предпочтительно две свободные -SH-группы, которые могут обеспечивать 40 получение разветвленных полимеров. Одновременно с реакцией полимеризации катионные полимеры связываются по меньшей мере с одной молекулой нуклеиновой кислоты и тем самым образуют с ней комплекс.

Согласно одному из альтернативных вариантов предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, можно дополнительно модифицировать с помощью компонента (АК), указанного в настоящем описании.

45 Согласно первому примеру компонент (АК) (например, лиганд) присоединяют к катионному компоненту до получения катионного компонента на стадии а) с использованием любой функциональной группы, указанной в настоящем описании, например, -SH-группы. Такой компонент (АК) или (например, лиганд) предпочтительно

присоединяют к катионному компоненту на одном из концов этих компонентов. Если присоединение осуществляют через -SH-связи, то катионные компоненты предпочтительно получают с двумя -SH-группами (или с еще большим их количеством).

- Компонент (АК) (или, например, лиганд) предпочтительно несет только одну -SH-группу. В этом случае одну -SH-группу катионного компонента предпочтительно защищают на первой стадии с помощью известной в данной области защитной группы. Затем катионный компонент можно связывать с компонентом L с получением первой дисульфидной связи через незащищенную -SH-группу. Затем, для осуществления дополнительных реакций, как правило, удаляют защитную группу у защищенной -SH-группы катионного компонента.

- В альтернативном варианте указанный выше компонент (АК) (или, например, лиганд), можно применять на стадии в) для сшивания с катионными компонентами, полученными на стадии а), выше, например, посредством дисульфидных связей, не блокируя свободные -SH-группы. Так, в этом контексте можно применять все методы, известные специалисту в данной области или указанные в настоящем описании, для присоединения компонента (АК) к катионному компоненту или к полимерному носителю.

- В альтернативном варианте компонент (АК) (или, например, лиганд) можно связывать с предлагаемым в изобретении комплексом, содержащим полимерный носитель и карго-молекулу, после осуществления стадии в) с помощью любой функциональной группы, указанной в настоящем описании, например, -SH-группы. В этом контексте предпочтительно связывать компонент (АК) (например, лиганд) с компонентами полимерного носителя через свободные -SH-группы.

- Таким образом, на стадии в) предлагаемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, по меньшей мере одну молекулу нукleinовой кислоты, указанную в настоящем описании, смешивают с катионными компонентами, полученными на стадии б), предпочтительно в указанных выше соотношениях. Как правило, в предлагаемом в изобретении комплексе, содержащем полимерный носитель и карго-молекулу, катионные компоненты, указанные в настоящем описании, и по меньшей мере одну молекулу нукleinовой кислоты применяют в молярном соотношении катионного полимера и нукleinовой кислоты, составляющем примерно 5 к 10000, предпочтительно в молярном соотношении, составляющем примерно 5 к 5000, более предпочтительно в молярном соотношении, составляющем примерно 10 к 2500, еще более предпочтительно в молярном соотношении, составляющем примерно 10 к 1000. Величины отношения N/P предпочтительно соответствуют указанным выше. В этом контексте наиболее предпочтительно величины отношения N/P выбирают так, чтобы избежать агломерации и токсичности *in vivo*.

- В конкретном варианте осуществления изобретения (АК)-компоненты, указанные выше, которые не содержат -SH-группы, можно добавлять на стадии в), которые, таким образом, встраивают в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, без полимеризации с помощью (концевых) -SH-групп. При этом такие(ой) (АК)-компонент(ы), как правило, не является(ются) ковалентно связанным(ими) и включаются без ковалентной связи в предлагаемый в изобретении комплекс в качестве дополнительного компонента.

На дополнительной стадии г) предлагаемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, предлагаемый в изобретении комплекс,

содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, полученный на стадии в), необязательно очищают. Очистку можно осуществлять с помощью хроматографических методов, таких как ЖХВР, FPLC (жидкостная хроматография быстрого разрешения), GPS, диализ и т.д.

- 5 На дополнительной стадии г) предлагаемого в изобретении способа получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, полученный на стадии в) или г), необязательно лиофилизируют. Для этой цели можно добавлять любой приемлемый
- 10 криопротект или лиопротектант к предлагаемому в изобретении комплексу, содержащему полимерный носитель и карго-молекулу, полученную на стадии в) или г).

Предлагаемый в изобретении способ получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, наиболее пригоден для адаптации химических свойств требуемого предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, посредством специфического отбора компонентов полимерного носителя, что позволяет избежать агломерации и токсичности *in vivo*.

Согласно следующему варианту осуществления изобретения настоящее изобретение относится также к способу трансфекции клетки, ткани или организма путем применения или введения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего для терапевтических целей. В этом контексте, как правило, после получения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, описанного выше, предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно вводят в клетку, ткань или организм, предпочтительно в чистом виде или в виде фармацевтической композиции или вакцины, указанной в настоящем описании, более предпочтительно, используя любые пути введения, указанные в настоящем описании. Способ трансфекции клетки можно осуществлять *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*.

Аналогично этому, другим вариантом осуществления настоящего изобретения является также применение предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, в частности, для терапевтических целей, для трансфекции клетки, ткани или организма, путем применения или введения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного выше, в клетку, ткань или организм, предпочтительно в чистом виде или в виде фармацевтической композиции или вакцины, указанной в настоящем описании, более предпочтительно, используя любые пути введения, указанные в настоящем описании. Способ трансфекции клетки можно осуществлять *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*.

Таким образом, конкретным предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения является также фармацевтическая композиция, которая содержит предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, который включает нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, в качестве карго-молекулы и полимерный носитель, указанный в настоящем описании. Фармацевтическая композиция необязательно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или наполнитель.

В качестве первого ингредиента предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция включает предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный

носитель и карго-молекулу, который включает нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, в качестве карго-молекулы и полимерный носитель, указанный в настоящем описании (и необязательно (АК)-компонент(ы)).

- В качестве второго ингредиента предлагаемая в изобретении фармацевтическая 5 композиция может включать по меньшей мере один дополнительный фармацевтически активный компонент. В этом контексте фармацевтически активный компонент представляет собой соединение, которое обладает терапевтическим действием с позиций лечения, облегчения или предупреждения конкретного показания, предпочтительно раковых заболеваний, аутоиммунного заболевания, аллергий или инфекционных 10 болезней. Указанные соединения включают (но не ограничиваясь только ими) пептиды или белки, предпочтительно указанные в настоящем описании, нуклеиновые кислоты, предпочтительно указанные в настоящем описании, (терапевтически активные) низкомолекулярные органические или неорганические соединения (с молекулярной 15 массой менее 5000, предпочтительно менее 1000), сахара, антигены или антитела, предпочтительно указанные в настоящем описании, терапевтические средства, уже известные из существующего уровня техники, антигенные клетки, антигенные клеточные фрагменты, клеточные фракции; компоненты клеточной оболочки (например, 20 полисахариды), модифицированные, ослабленные или дезактивированные (например, химически или путем облучения) патогены (вирус, бактерии и т.д.), адъюванты, предпочтительно указанные в настоящем описании, и т.д.

- Кроме того, предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может 25 содержать фармацевтически приемлемый носитель и/или наполнитель. В контексте настоящего изобретения фармацевтически приемлемый носитель, как правило, представляет собой жидкую или не жидкую основу предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции. Если предлагаемая в изобретении фармацевтическая 30 композиция находится в жидкой форме, то носитель, как правило, представляет собой свободную от пирогенов воду; изотонический соляной раствор или забуференные (водные) растворы, например, растворы, забуференные фосфатом, цитратом и т.д. Предназначенный для инъекции буфер может быть гипертоническим, изотоническим 35 или гипотоническим относительно конкретной референс-среды, т.е. содержание в буфере солей может быть выше, идентичным или ниже их содержания в конкретной референс-среде, при этом предпочтительно можно применять такие концентрации вышеуказанных солей, которые не приводят к повреждению клеток в результате осмоса или других связанных с концентрацией воздействий. Референс-среды могут представлять собой, 40 например, жидкости, применяемые в методах «*in vivo*», такие как кровь, лимфа, цитозольные жидкости или другие жидкости организма, или, например, жидкости, которые можно использовать в качестве референс-сред в методах «*in vitro*», такие как обычные буфера или жидкости. Указанные обычные буфера или жидкости известны специалисту в данной области. Наиболее предпочтительной жидкой основой является лактированный раствор Рингера.

- Однако в предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции можно использовать также один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей или разбавителей или капсулирующих соединений, которые можно применять для введения пациенту, подлежащему лечению. Понятие «совместимые» в контексте 45 настоящего описания означает, что составляющие предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции можно смешивать с предлагаемым в изобретении комплексом, который содержит полимерный носитель и карго-молекулу, указанным в настоящем описании, таким образом, чтобы не происходило взаимодействия, которое

могло бы существенно снижать фармацевтическую эффективность предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции в обычных условиях применения.

Фармацевтически приемлемые носители, наполнители и разбавители, естественно, должны иметь достаточно высокую чистоту и достаточно низкую токсичность, чтобы их можно было применять для введения индивидууму, подлежащему лечению.

Некоторыми примерами соединений, которые можно применять в качестве фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей или составляющих, являются сахара, такие, например, как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие, например, как кукурузный крахмал или картофельный крахмал; целлюлоза и ее производные,

10 такие, например, как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; твердый жир; твердые вещества, усиливающие скольжение, такие, например, как стеариновая кислота, стеарат магния; сульфат кальция; растительные масла, такие, например, как арахисовое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и какао-масло;

15 полиолы, такие, например, как полипропиленгликоль, глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; альгиновая кислота.

Согласно конкретному объекту изобретения предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может содержать (дополнительный) адьювант. В этом контексте под адьювантом можно подразумевать любое соединение, которое пригодно

20 для инициации или повышения иммунного ответа врожденной иммунной системы, т.е. неспецифического иммунного ответа. Другими словами, предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция после ее введения вызывает врожденный иммунный ответ, если в ее состав необязательно входит адьювант. Указанный адьювант можно выбирать из числа любых адьювантов, известных специалисту в данной области, и

25 пригодных для конкретного случая, т.е. для поддержания индукции врожденного иммунного ответа у млекопитающего.

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно вводить орально, парентерально, с помощью спрея для ингаляции, местно, ректально, назально, трансбукиально, вагинально или с помощью имплантируемого резервуара. Понятие

30 «парентеральный» в контексте настоящего описания включает подкожную, внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, интранодальную, интрасиновиальную, надчревную, внутриоболочечную, внутрипеченочную, в пораженный участок, внутричерепную, трансдермальную, внутрикожную, внутрилегочную, внутрибрюшинную, внутрисердечную, внутриартериальную и

35 подъязычную инъекцию или инфузию.

Предпочтительно предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно вводить путем парентеральной инъекции, более предпочтительно с помощью подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, интранодальной, интрасиновиальной, надчревной, внутриоболочечной, внутрипеченочной, в

40 пораженный участок, внутричерепной, трансдермальной, внутрикожной, внутрилегочной, внутрибрюшинной, внутрисердечной, внутриартериальной и подъязычной инъекции или инфузии. Наиболее предпочтительной является внутрикожная и внутримышечная инъекция. Стерильные инъецируемые формы предлагаемых в изобретении фармацевтических композиций могут представлять собой

45 водные или маслянистые суспензии. Эти суспензии можно приготавливать согласно методам, известным в данной области, с использованием пригодных диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный инъецируемый препарат может представлять собой также стерильный инъецируемый раствор или

суспензию в нетоксичном пригодном для парентерального введения разбавителе или растворителе, например, раствор в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых наполнителей и растворителей, которые можно применять, входят вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или 5 супсептирующей среды обычно применяют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно применять любое успокаивающее нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицерины. Для приготовления инъектируемых лекарственных средств можно применять жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицерины, а также природные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или 10 касторовое масло, прежде всего в виде их полиоксиэтилированных производных. Эти масляные растворы или супспензии могут содержать также разбавитель, представляющий собой спирт с длинной цепью, или диспергирующий агент, такой как карбоксиметилцеллюлоза, или аналогичные диспергирующие агенты, обычно 15 применяемые при приготовлении фармацевтически приемлемых форм лекарственного средства, включая эмульсии и супспензии. Для целей приготовления предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции можно использовать также другие обычно применяемые поверхностно-активные вещества, такие как агенты типа Твин, Спан, или другие эмульгаторы или вещества, повышающие биологическую доступность, 20 которые обычно применяют при приготовлении фармацевтически приемлемых твердых, жидких или иных форм лекарственного средства.

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию, указанную в настоящем описании, можно вводить также орально в любой приемлемой для орального введения форме лекарственного средства, включая (но не ограничиваясь ими) капсулы, таблетки, водные супспензии или растворы. В случае таблеток, предназначенных для 25 орального применения, обычно используемые носители представляют собой лактозу и кукурузный крахмал. Как правило, добавляют также замасливатели, такие как стеарат магния. Для орального введения в форме капсул пригодными разбавителями являются лактоза и сухой кукурузный крахмал. Если для орального применения требуются водные супспензии, то действующее вещество, т.е. предлагаемый в изобретении комплекс, 30 содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, объединяют с эмульгаторами и супсептирующими агентами. При необходимости можно добавлять также определенные подслащающие вещества, корригенты или красители.

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно применять также местно, особенно в том случае, когда мишень для лечения представляет собой 35 области или органы, легко доступные для местной обработки, включая лечение заболеваний кожи или любых других доступных эпителиальных тканей. Для каждой из этих областей или органов можно легко приготавливать пригодные препараторные формы для местного применения. Для местных применений можно приготавливать предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию в виде пригодной мази, 40 включающей предлагаемый в изобретении комплекс, который содержит полимерный носитель и карго-молекулу, супсептированный или растворенный в одном или нескольких носителях. Носители для местного применения включают (но не ограничиваясь только ими) минеральное масло, вазелиновое масло, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, производное полиоксипропилена, эмульгирующий 45 воск и воду. В альтернативном варианте предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно приготавливать в виде пригодного лосьона или крема. В контексте настоящего изобретения пригодные носители включают (но не ограничиваясь ими) минеральное масло, сорбитанмоностеарат, полисорбат 60, воск на основе сложных

цетиловых эфиров, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

Предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция, как правило, содержит в «безопасном и эффективном количестве» компоненты предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции, прежде всего предлагаемого в изобретении комплекса,

5 содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанный в настоящем описании, или только нуклеиновую кислоту. В контексте настоящего описания под «безопасным и эффективным количеством» подразумевается количество предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, которое является достаточным для значительной индукции положительного изменения заболевания или

10 нарушения, представленного в настоящем описании. Однако в то же время «безопасное и эффективное количество» является достаточно небольшим, чтобы избегать серьезных побочных действий, другими словами, обеспечивать разумное соотношение между преимуществом и риском. Определение этих пределов, как правило, регулируется соответствующими медицинскими правилами. «Безопасное и эффективное количество»

15 компонентов предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции, прежде всего предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, должно, таким образом, варьироваться в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, а также возраста и физического состояния пациента, подлежащего лечению, веса тела, общего состояния

20 здоровья, пола, диеты, времени введения, скорости экскреции, комбинации лекарственных средств, активности предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, серьезности состояния, продолжительности лечения, особенностей сопутствующей терапии, конкретного применяемого фармацевтически приемлемого носителя и аналогичных факторов,

25 которые известны и находятся в компетенции осуществляющего лечение врача.

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно применять для лечения человека, а также для медицинских целей в области ветеринарии, в качестве фармацевтической композиции в целом или в качестве вакцины, иммуностимулирующего агента или адьюванта.

30 Согласно конкретному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию (или предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу) можно получать или применять в качестве иммуностимулирующего агента. В этом контексте предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция предпочтительно представляет собой

35 описанную выше композицию. Более предпочтительно нуклеиновая кислота, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в состав фармацевтической композиции, как правило, представляет собой иммуностимулирующую нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, например, CpG-ДНК или иммуностимулирующую

40 РНК (isРНК). В альтернативном или дополнительном варианте нуклеиновая кислота, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в состав фармацевтической композиции, представляет собой кодирующую нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, предпочтительно кДНК или мРНК, более предпочтительно

45 кодирующую белок-адьювант, предпочтительно указанный в настоящем описании.

В этом контексте в конкретном варианте осуществления изобретения является предпочтительным, чтобы белок-адьювант представлял собой компонент предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, и

предпочтительно компонент полимерного носителя.

- Согласно еще более предпочтительному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию (или предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу) можно 5 получать или применять в качестве адьюванта. В этом контексте предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция предпочтительно представляет собой описанную выше композицию. Более предпочтительно нуклеиновая кислота, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в состав адьюванта, как правило, 10 представляет собой иммуностимулирующую нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, например, CpG-ДНК или иммуностимулирующую РНК (isРНК). В альтернативном или дополнительном варианте нуклеиновая кислота, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в состав адьюванта, представляет собой 15 кодирующую нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, предпочтительно кДНК или мРНК, более предпочтительно кодирующую белок-адьюванта, предпочтительно указанный в настоящем описании. Предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в состав адьюванта, как правило, инициирует врожденный иммунный ответ 20 у пациента, которого подвергают лечению. Указанный адьювант можно применять для любой сопутствующей терапии, с любой из известных вакцин или с любым дополнительным (известным) терапевтическим средством, предпочтительно до, одновременно или после применения основной терапии, до, одновременно или после применения дополнительной (известной) вакцины или (известного) дополнительного 25 терапевтического средства.

Предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, или предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция, указанные в настоящем описании, которые получают или применяют в качестве адьюванта, могут инициировать не являющийся специфическим для антигена (врожденный) иммунный 30 ответ (обусловленный врожденной иммунной системой), предпочтительно по иммуностимулирующему типу. Иммунный ответ можно получать различными путями. Важным фактором получения приемлемого иммунного ответа является стимуляция различных Т-клеточных субпопуляций. Т-лимфоциты, как правило, в результате дифференцировки разделяются на две субпопуляции: Т-клетки-хелперы 1 (Th1) и Т- 35 клетки-хелперы (Th2), с помощью которых иммунная система может разрушать внутриклеточные (Th1) и внеклеточные (Th2) патогены (например антигены). Две Th-клеточные популяции отличаются схемой производства ими эффекторных белков (цитокинов). Так, Th1-клетки обусловливают клеточный иммунный ответ путем активации макрофагов и цитотоксических Т-клеток. С другой стороны, Th2-клетки 40 усиливают гуморальный иммунный ответ путем стимуляции конверсии В-клеток в плазматические клетки и путем образования антител (например, к антигенам). Таким образом, соотношение Th1/Th2 имеет очень важное значение для иммунного ответа. В контексте настоящего изобретения соотношение Th1/Th2 иммунного ответа предпочтительно смещается с помощью иммуностимулирующего агента, а именно 45 предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, в сторону клеточного ответа, т.е. Th1-ответа, и при этом главным образом индуцируется клеточный иммунный ответ. Как указано выше, предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, сам

вызывает неспецифический врожденный иммунный ответ, что позволяет применять предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карбомолекулу, индивидуально (без добавления другого фармацевтически активного компонента) в качестве иммуностимулирующего агента. При введении совместно с

5 другим фармацевтически активным компонентом, предпочтительно специфическим иммуногенным компонентом, предпочтительно антигеном, нуклеиновая кислота, предлагаемая в изобретении, служит в качестве адьюванта, который поддерживает специфический адаптивный иммунный ответ, вызываемый другим фармацевтически активным компонентом, например, антигеном.

10 Определение (врожденного) иммуностимулирующего или адьюvantного действия предлагаемого в изобретении соединения или предлагаемого в изобретении комплекса:

В данной области известно несколько методов, позволяющих определять иммуностимулирующее действие предлагаемого в изобретении соединения или предлагаемого в изобретении комплекса, и их можно применять. Например, методы

15 in vitro целесообразно применять для скрининга соединений в отношении их способности индуцировать цитокины, которые являются (полностью или по меньшей мере обычно) частью врожденной иммунной системы и поэтому (в качестве дополнительно «плеча» иммунной системы), как правило, усиливают индукцию антигенспецифического иммунного ответа, вызываемого антигеном. Для этой цели, например, РВМС можно

20 выделять из образцов крови и стимулировать конкретным соединением или комплексом. После инкубации секрецию требуемых цитокинов (например, в качестве реакции активации РАМР-рецепторов), что, как правило, является частью врожденной иммунной системы (но не антигенспецифической иммунной системы) определяют с помощью ELISA. Эти отобранные цитокины можно применять в данной области в качестве меры

25 индукции врожденного иммунного ответа в организме. В этом контексте секрецию TNF-альфа и IFN-альфа предпочтительно оценивают для определения неспецифического (врожденного иммунного ответа), вызываемого соединением или комплексом. В частности, IFN-альфа играет важную роль в индукции неспецифического иммунного ответа после заражения вирусом. Таким образом, наиболее предпочтительным является

30 вариант, когда иммуностимулирующее соединение или иммуностимулирующий комплекс, подлежащее/подлежащий идентификации с помощью скринингового анализа, индуцирует секрецию IFN-альфа. Затем указанное соединение или указанный комплекс можно применять, например, в качестве иммуностимулирующего агента (запускающего неспецифический (врожденный) иммунный ответ) в терапиях, основанных на применении 35 вакцинации.

IFN-альфа является представителем семейством интерферонов типа I. Интерфероны типа I (IFN) представляют собой плейотропные цитокины, которые имеют важное значение для поддержания антивирусных иммунных ответов. Помимо активации естественных клеток-киллеров (NK) и Т-клеток они индуцируют апоптоз зараженных

40 вирусом клеток и устойчивость клеток к вирусной инфекции. Интерфероны типа I оказывают действие на большую группу цитокинов и хемокинов, например, воздействуют на миграцию, хоминг, эффекторные функции и апоптоз иммуноцитов. Как правило, основная роль IFN- α/β заключается в индукции примиированного состояния, влияющего на производство и регулирование других медиаторов, включая цитокины.

45 Например, передача сигналов IFN- α/β обладает повышающим регуляцию действием на производство IFN- γ дендритными клетками (DC) и Т-клетками, и поэтому главным образом индуцирует и поддерживает Th1-клетки. Сдвиг иммунного ответа в сторону Th1 иммунного ответа может становиться важным при применении белковых или

пептидных вакцин, поскольку эти вакцины, как правило, индуцируют иммунный ответ, основой которого являются Th2, что в результате препятствует индукции цитотоксических Т-клеток.

Таким образом, является предпочтительным, чтобы соединение или комплекс,

5 применяемые в качестве адьюванта, могли предпочтительно обладать способностью сдвигать антигенспецифический иммунный ответ, вызываемый вакциной, в сторону иммунного ответа, основой которого являются Th1. Направление иммунного ответа, индуцированного вакциной, как правило, оценивают, определяя индукцию нескольких подтипов антигенспецифических антител и индукцию антигенспецифических

10 цитотоксических CD8⁺-Т-клеток. В этом контексте индукция антитела подтипа IgG1 отражает индукцию иммунного ответа на основе Th2, а индукция подтипа IgG2a и индукция цитотоксических Т-клеток отражают индукцию иммунного ответа на основе Th1. Индукцию антигенспецифических антител определяют, измеряя с помощью ELISA титр антител в крови после обработки вакциной. Индукцию антигенспецифических 15 цитотоксических Т-клеток определяют, оценивая с помощью ELISPOT (метод иммуноферментных пятен) секрецию IFN-гамма в спленоцитах после стимуляции антигенспецифическими пептидами. В этом контексте индукция секреции IFN-гамма доказывает присутствие антигенспецифических цитотоксических Т-клеток в селезенке, которые могут специфически атаковать клетки, которые presentуют эпитопы антигена 20 на молекулах ГКГ типа I на их поверхности.

Таким образом, для определения благоприятных свойств адьюванта осуществляют вакцинации *in vivo*. Таким образом можно определять, может ли адьюvant или иммуностимулирующее соединение или комплекс повышать антигенспецифический иммунный ответ, вызываемый вакциной, и кроме того, обладает ли адьюvant 25 способностью сдвигать антигенспецифический иммунный ответ в требуемом направлении. В частности, при индукции противоопухолевого иммунного ответа индукция сдвинутого в сторону Th1 иммунного ответа, прежде всего индукция цитотоксических Т-клеток, играет важную роль, поскольку индукция антигенспецифических цитотоксических Т-клеток является необходимой предпосылкой 30 для успешного уничтожения опухоли.

Таким образом, методы скрининга соединений или комплексов, которые фактически обладают свойствами иммуностимулирующих агентов и/или адьювантов, хорошо известны в данной области и их легко можно применять, например, для оценки с помощью ELISA-анализов иммунного ответа, вызванного тестируемыми соединениями/ 35 комплексами.

Согласно другому особенно предпочтительному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию (или предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу) можно получать или применять в качестве вакцины.

40 В этом контексте в качестве вакцины рассматривают предпочтительно адьюvant или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию, описанную выше. Более предпочтительно нукleinовая кислота, входящая в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в указанную вакцину, может представлять собой любую указанную выше 45 нукleinовую кислоту, предпочтительно иммуностимулирующую нукleinовую кислоту, указанную в настоящем описании, например, СрG-ДНК или иммуностимулирующую РНК (isРНК). В альтернативном или дополнительном варианте нукleinовая кислота, которая входит в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный

носитель и карго-молекулу, предпочтительно входящий в состав вакцины, представляет собой кодирующую нуклеиновую кислоту, указанную в настоящем описании, предпочтительно кДНК или мРНК, более предпочтительно кодирующую белок-адьювант, предпочтительно указанный в настоящем описании. Кроме того,

- 5 предпочтительно, если нуклеиновая кислота, входящая в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, не кодирует антиген, то предлагаемая в изобретении вакцина может содержать антиген, предпочтительно указанный выше, либо в виде белка или пептида, либо кодируемый нуклеиновой кислотой, либо антигенные клетки, антигенные клеточные фрагменты, клеточные
- 10 фракции; компоненты клеточной оболочки (например, полисахариды), модифицированные, ослабленные или деактивированные (например, химически или путем облучения) патогены (вирус, бактерии и т.д.).

Согласно первому объекту изобретения указанная предлагаемая в изобретении вакцина, как правило, имеет состав подобный составу предлагаемого в изобретении адьюванта и предпочтительно поддерживает или вызывает врожденный иммунный ответ иммунной системы пациента, которого подвергают лечению, если иммуностимулирующую нуклеиновую кислоту применяют в качестве молекулы нуклеиновой кислоты, входящей в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу.

- 20 Согласно второму объекту изобретения предлагаемая в изобретении вакцина может вызывать адаптивный иммунный ответ, предпочтительно, если нуклеиновая кислота, входящая в предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, указанный в настоящем описании, кодирует антиген, указанный в настоящем описании, который может вызывать адаптивный иммунный ответ. В
- 25 альтернативном варианте этот антиген может иметь форму пептида, белка или эпитопа или может находиться в форме дополнительной нуклеиновой кислоты, кодирующей указанный антиген. Антиген может представлять собой также компонент предлагаемого в изобретении полимерного носителя, например, (АК)-компонент, указанный в настоящем описании.

Предлагаемая/предлагаемый в изобретении вакцина, иммуностимулирующий агент или адьювант может содержать также фармацевтически приемлемый носитель, адьювант и/или наполнитель, указанные в настоящем описании для предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции. В конкретном варианте предлагаемой в изобретении вакцины выбор фармацевтически приемлемого носителя определяют в основном в зависимости от пути введения предлагаемой в изобретении вакцины. Предлагаемую в изобретении вакцину можно применять, например, системно или локально. Пути системного введения в целом включают, например, трансдермальный, оральный, парентеральный пути, включая подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, внутрикожные и внутрибрюшинные инъекции и/или

- 35 интраназальный путь введения. Пути локального применения в целом включают, например, местные пути нанесения, но также и внутрикожные, трансдермальные, подкожные или внутримышечные инъекции или инъекции в область повреждения, внутричерепную, внутрилегочную, внутрисердечную и подъязычную инъекции. Более предпочтительно вакцины можно применять внутрикожным, подкожным или
- 40 внутриартериальным путем. Таким образом, предлагаемые в изобретении вакцины предпочтительно приготавливать в форме жидкости (или иногда в твердой форме). Пригодное для введения количество предлагаемой в изобретении вакцины можно определять с помощью обычных экспериментов с использованием животных моделей.

Такие модели включают (но не ограничиваясь только ими) модели, созданные с использованием кроликов, овец, мышей, крыс, собак и приматов кроме человека. Предпочтительные формы для инъекций в виде стандартных доз включают стерильные растворы в воде, физиологическом растворе или их смесях. Значение pH указанных растворов следует доводить примерно до 7,4. Приемлемыми носителями для инъекций являются гидрогели, устройства для контролируемого или замедленного высвобождения, полимолочная кислота и коллагеновые матрицы. Пригодными фармацевтически приемлемыми носителями для местного применения являются носители, которые можно применять в лосьонах, кремах гелях и т.п. Если предлагаемая в изобретении вакцина 5 предназначена для орального введения, то предпочтительными стандартными лекарственными формами являются таблетки, капсулы и т.п. Фармацевтически приемлемые носители, которые можно применять для приготовления стандартных дозируемых форм, предназначенных для орального введения, хорошо известны из существующего уровня техники. При этом выбор должен зависеть от вторичных 10 характеристик, таких как вкус, цена и способность к хранению, которые не имеют решающего значения для целей настоящего изобретения, и его может без труда осуществить специалист в данной области.

Предлагаемая/предлагаемый в изобретении вакцина, иммуностимулирующий агент или адьювант может содержать также одну или несколько вспомогательных субстанций 15 с целью дополнительного повышения их иммуногенности или при необходимости иммуностимулирующей способности. При этом предпочтительно достигается синергетическое действие между предлагаемым в изобретении комплексом, содержащим полимерный носитель и карго-молекулу, указанным в настоящем описании, и вспомогательной субстанцией, которая необязательно может входить в состав 20 предлагаемой в изобретении вакцины, иммуностимулирующего агента или адьюванта, которые указаны в настоящем описании. В этом плане в зависимости от различных типов вспомогательных субстанций они могут обладать различными механизмами действия. Например, соединения, которые обеспечивают созревание дендритных клеток (DC), например, липополисахариды, TNF-альфа или CD40-лиганд, образуют первый 25 класс пригодных вспомогательных субстанций. В целом, в качестве вспомогательной субстанции можно применять любой агент, который оказывает воздействие на иммунную систему в виде «сигнала опасности» (LPS, GP96 и т.д.), или цитокины, такие как GM-CFS, которые приводят к повышению иммунного ответа или оказывают направленное 30 воздействие на иммунный ответ. Особенно предпочтительными вспомогательными субстанциями являются цитокины, такие как монокины, лимфокины, интерлейкины 35 или хемокины, которые также усиливают врожденный иммунный ответ, такие как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, INF-альфа, IFN-бета, INF-гамма, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-бета или TNF-40 альфа, факторы роста, такие как hGH.

Другими добавками, которые можно включать в предлагаемую/предлагаемый в изобретении вакцину, иммуностимулирующий агент или адьювант, являются эмульгаторы, такие, например, как Tween[®]; смачивающие вещества, такие, например, как лаурилсульфат натрия; красители; улучшающие вкус вещества, фармацевтические 45 носители; формирующие таблетки агенты; стабилизаторы; антиоксиданты; консерванты.

Предлагаемая/предлагаемый в изобретении вакцина, иммуностимулирующий агент или адьювант может содержать также любое дополнительное соединение, для которого известно, что оно стимулирует иммунную систему благодаря его аффинности к

связыванию (в качестве лигандов) с человеческими Толл-подобными рецепторами TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, или в результате его аффинности к связыванию (в качестве лигандов) с мышиными Толл-подобными рецепторами TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, 5 TLR12 или TLR13.

Предлагаемая/предлагаемый в изобретении вакцина, иммуностимулирующий агент или адьювант в дополнительном или альтернативном варианте может содержать также иммуностимулирующую РНК, т.е. РНК, выведенную из иммуностимулирующей РНК, которая запускает или повышает (врожденный) иммунный ответ. Предпочтительно 10 указанная иммуностимулирующая РНК может представлять собой, в целом, описанную выше РНК.

В этом контексте другим классом соединений, которые можно добавлять в предлагаемую/предлагаемый в изобретении вакцину, иммуностимулирующий агент или адьювант, могут являться CpG-нуклеиновые кислоты, в частности CpG-РНК или 15 CpG-ДНК. CpG-РНК или CpG-ДНК могут представлять собой одноцепочечную CpG-ДНК (ss CpG-ДНК), двухцепочечную CpG-ДНК (а8ДНК), одноцепочечную CpG-РНК (ss CpG-РНК) или двухцепочечную CpG-РНК (ds CpG-РНК). CpG-нуклеиновая кислота предпочтительно имеет форму CpG-РНК, более предпочтительно форму одноцепочечной CpG-РНК (ss CpG-РНК). CpG-нуклеиновая кислота предпочтительно содержит по 20 меньшей мере одну или несколько (митогенные) динуклеотидную(ые) цитозин/гуаниновую(ые) последовательность(и) (CpC-мотив(ы)). Согласно первому предпочтительному альтернативному варианту по меньшей мере один CpG-мотив, входящий в эти последовательности, т.е. С (цитозин) и G (гуанин) CpG-мотива, является 25 неметилированным. Все другие цитозины или гуанины, необязательно входящие в эти последовательности, могут быть либо метилированными, либо неметилированными. Однако согласно другому предпочтительному альтернативному варианту С (цитозин) и G (гуанин) CpG-мотива могут присутствовать также в метилированной форме.

Настоящее изобретение относится также к некоторым вариантам применения предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции, предлагаемого в изобретении иммуностимулирующего агента или адьюванта и предлагаемой в изобретении вакцины, содержащей 30 вышеуказанные субстанции, и к включающим их наборам.

Согласно одному из конкретных вариантов осуществления изобретения настоящее изобретение относится к первому медицинскому применению предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, в качестве лекарственного средства, предпочтительно в качестве иммуностимулирующего агента, адьюванта или вакцины или в области 35 генной терапии.

Согласно другому варианту осуществления изобретения настоящее изобретение относится ко второму медицинскому применению предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, для лечения заболеваний, указанных в настоящем описании, предпочтительно к применению предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего 40 полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, фармацевтической композиции, вакцины, иммуностимулирующего агента, адьюванта или содержащей их вакцины или содержащих их наборов для приготовления лекарственного средства, предназначенного для профилактики, лечения и/или 45

уменьшения интенсивности любых заболеваний и нарушений, представленных в настоящем описании. Предпочтительно для этих целей фармацевтическую композицию, иммуностимулирующий агент, адьювант или вакцину применяют или вводят пациенту, который нуждается в этом.

- 5 Предпочтительно указанные в настоящем описании заболевания выбирают из раковых заболеваний, инфекционных болезней, предпочтительно (вирусных, бактериальных или протозойных) инфекционных болезней, аутоиммунных заболеваний, аллергий или аллергических заболеваний, моногенных заболеваний, т.е. (наследственных) заболеваний или генетических заболеваний в целом, заболеваний, которые имеют
- 10 генетически наследуемую основу и которые, как правило, вызываются дефектом одного гена и наследуются согласно законам Менделя, сердечно-сосудистых заболеваний, нервных болезней или любых заболеваний, на которые можно оказывать воздействие с помощью настоящего изобретения.

Такие заболевания включают раковые или опухолевые заболевания, предпочтительно

- 15 выбранные из группы, включающей меланомы, злокачественные меланомы, карциномы ободочной кишки, лимфомы, саркомы, бластомы, карциномы почки, опухоли желудочно-кишечного тракта, глиомы, опухоли предстательной железы, рак мочевого пузыря, ректальные опухоли, рак желудка, эзофагеальный рак, рак поджелудочной железы, рак печени, карциномы молочной железы (или рак молочной железы), рак
- 20 матки, рак шейки матки, острый миелолейкоз (AML), острый лимфолейкоз (ALL), хронический миелолейкоз (CML), хронический лимфолейкоз (CLL), гепатомы, различные индуцируемые вирусами опухоли, такие, например, как карцинома, вызываемая вирусом папилломы (например, карцинома шейки матки или рак шейки матки),adenокарциномы, опухоли, вызываемые вирусом герпеса (например, лимфома Беркитта, В-клеточная
- 25 лимфома, индуцируемая вирусом Эпштейна-Барра (EBV) лимфома), опухоли, индуцируемые вирусом гепатита В (печеночно-клеточная карцинома), лимфомы, вызываемые HTLV-1 и HTLV-2, невриному слухового нерва, карциномы легкого (т.е. рак легкого или бронхиальная карцинома), мелкоклеточные карциномы легкого, рак глотки, анальную карциному, глиобластому, ректальную карциному, астроцитому,
- 30 опухоли головного мозга, ретинобластому, базалиому, метастазы в головной мозг, медуллобластомы, вагинальный рак, рак поджелудочной железы, рак яичек, синдром Ходжкина, менингиомы, болезнь Шнеебергера, опухоль гипофиза, грибовидный микоз, карциноиды, невриномы, спиналиому, лимфому Беркитта, рак гортани, рак почки, тимому, карциному тела матки, рак кости, не-ходжкинские лимфомы, рак
- 35 мочеиспускательного канала, CUP-синдром (синдром рака с невыявленным первичным очагом), опухоли головы/шеи, олигодендроглиому, рак вульвы, рак кишечника, карциному ободочной кишки, эзофагеальную карциному (или эзофагеальный рак), связанные с бородавками состояния, опухоли тонкого кишечника, крациофарингеомы, карциному яичника, опухоли гениталий, рак яичника (или карцинома яичника),
- 40 карциному поджелудочной железы (или рак поджелудочной железы), карциному эндометрия, метастазы в печень, рак полового члена, рак языка, рак желчного пузыря, лейкозы, плазмоцитому, опухоль века, рак предстательной железы (или опухоли предстательной железы) и т.д.

Еще в одном конкретном варианте осуществления изобретения заболевания,

- 45 указанные в настоящем описании, включают инфекционные заболевания, предпочтительно инфекционные заболевания, вызываемые вирусами, бактериями или простейшими. Указанные инфекционные заболевания, предпочтительно инфекционные заболевания, вызываемые вирусами, бактериями или простейшими, как правило,

выбирают из группы, включающей грипп, малярию, SARS (синдром острого респираторного заболевания), желтую лихорадку, СПИД, боррелез Лайма, лейшманиоз, сибирскую язву, менингит, такие вирусные инфекционные заболевания, как СПИД, заболевание, вызываемое *Condyloma acuminata*, пустотельные бородавки, лихорадка Денге, 5 трехдневная лихорадка, болезнь, вызываемая вирусом Эбола, простуда, весенне-летний менингоэнцефалит (FSME), лихорадка, опоясывающий герпес, гепатит, заболевание, вызываемое вирусом герпеса простого типа I, вирусом герпеса простого типа II, опоясывающий лишай, грипп, японский энцефалит, лихорадка Ласса, болезнь, вызываемая вирусом Марбург, корь, ящур, мононуклеоз, эпидемический паротит, 10 инфекция, вызываемая вирусом Норвальк, железистая лихорадка Пфейффера, натуральная оспа, полиомиелит (детская хромота), ложный круп, инфекционная эритема (пятая болезнь), бешенство, бородавки, лихорадка Западного Нила, ветряная оспа, заболевание, вызываемое цитомегаловирусом (CMV), заболевания, вызываемые бактериальными инфекциями, такие как выкидыши (воспаление предстательной железы), 15 сибирская язва, аппендицит, боррелез, ботулизм, заболевание, вызываемое микроорганизмами *Campylobacter*, хламидийная трахома (воспаление уретры, конъюнктивит), холера, дифтерия, донованоз, эпиглottitis, сыпной тиф, газовая гангрена, гонорея, туляремия, заболевание, вызываемое *Helicobacter pylori*, коклюш, венерическая лимфогранулема, остеомиелит, болезнь легионеров, проказа, листериоз, пневмония, 20 менингит, бактериальный менингит, сибирская язва, средний отит, заболевание, вызываемое *Mycoplasma hominis*, сепсис новорожденных (хориоамнионит), нома, паратиф, чума, синдром Рейтера, пятнистая лихорадка Скалистых гор, паратиф, вызываемый *Salmonella*, тиф, вызываемый *Salmonella*, скарлатина, сифилис, столбняк, трехдневная лихорадка, триппер, японская речная лихорадка, туберкулез, тиф, вагинит 25 (кольпит), мягкий шанкр, и инфекционные болезни, вызываемые паразитами, простейшими или грибами, такие как амебиаз, шистомоз, болезнь Шагаса, болезни, вызываемые *Echinococcus*, дифиллоботриоз, пищевое отравление рыбами (сигуатера), болезни, вызываемые птичьим цепнем, эпидермофия стопы, болезнь, вызываемая собачим солитером (эхинококк), кандидоз, пятнистость, вызываемая дрожжевыми 30 грибками, чесотка, кожный лейшманиоз, лямблиоз (протозойная инвазия, вызываемая *Lamblia intestinalis*), педикулез, малярия (определенная по методу микроскопии толстой капли), онхоцеркоз (речная слепота), болезни, вызываемые грибами, бычьим цепнем, шистоматоз, болезнь, вызываемая свиным цепнем, токсоплазмоз, трихомониаз, трипаносомоз (сонная болезнь), индийский висцеральный лейшманиоз, «подгузниковый»/«пеленоочный» дерматит, болезнь, вызываемая карликовым цепнем.

В другом конкретном варианте осуществления изобретения заболевания, указанные в настоящем описании, включают аутоиммунные заболевания, указанные ниже. Аутоиммунные нарушения или заболевания можно в широком смысле подразделять в зависимости от принципиальных клинико-патологических особенностей каждого 40 заболевания на системные и специфические для органа и на локализованные аутоиммунные нарушения. Аутоиммунные заболевания можно подразделять на категорию системных синдромов, включающих такие заболевания как системная красная волчанка (SLE), синдром Шегрена, склеродерма, ревматоидный артрит и полимиозит, и категорию локальных синдромов, которые могут относиться к 45 эндокринологическому типу (диабет типа I (сахарный диабет типа 1), тиреоидит Хашимото, болезнь Аддисона и т.д.), дерматологическому типу (пузырчатка обыкновенная), гематологическому типу (аутоиммунная гемолитическая анемия), невральному типу (рассеянный склероз), или они могут затрагивать фактически любую

указанную часть ткани организма. Подлежащие лечению аутоиммунные заболевания можно выбирать из группы, включающей аутоиммунные заболевания типа I или аутоиммунные заболевания типа II, или аутоиммунные заболевания типа III, или аутоиммунные заболевания типа IV, такие, например, как рассеянный склероз (MS),

5 ревматоидный артрит, диабет, диабет типа I (сахарный диабет типа 1), хронический полиартрит, базедова болезнь, аутоиммунные формы хронического гепатита, неспецифический язвенный колит, аллергические болезни типа I, аллергические болезни типа II, аллергические болезни типа III, аллергические болезни типа IV, фибромиалгию, потерю волос, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, тяжелую перемежающуюся хромоту,

10 нейродермит, ревматическую полимиалгию, прогрессирующий системный склероз (PSS), синдром Рейтера, ревматоидный артрит, псориаз, васкулит и т.д., или диабет типа II. Хотя до настоящего времени остается невыясненным точный механизм, посредством которого иммунная система индуцирует иммунную реакцию на

15 аутоантигены, известен ряд данных, касающихся их этиологии. Так, аутореакция может являться результатом отсутствия необходимости в Т-клетках. В здоровой иммунной системе требуется активация В-клеток Т-клетками перед тем как первые приобретают способность продуцировать антитела в больших количествах. Указанная необходимость в Т-клетках, может отсутствовать в редких случаях, таких как заражение организмами, производящими супер-антигены, которые могут инициировать поликлональную

20 активацию В-клеток или даже Т-клеток, путем непосредственного неспецифического связывания с β-субъединицей Т-клеточных рецепторов. Другим возможным объяснением механизма аутоиммунных заболеваний является молекулярная мимикрия. Экзогенный антиген может обладать структурными сходствами с определенными антигенами хозяина; в результате чего любое антитело, вырабатываемое к этому антигену (который

25 имитирует аутоантигены), может теоретически связываться также с антигенами хозяина и усиливать иммунный ответ. Наиболее сильная форма молекулярной мимикрии обнаружена в группе А бета-гемолитических стрептококков, антигены которых соответствуют человеческому миокарду и которые ответственны за воздействие на сердце ревматической атаки.

30 Кроме того, еще в одном конкретном варианте осуществления изобретения заболевания, указанные в настоящем описании, включают различные типы аллергий или аллергических заболеваний, а именно, заболеваний, связанных с аллергиями. Аллергия представляет собой состояние, которое, как правило, обусловлено аномальной приобретенной иммунологической гиперчувствительностью к определенным чужим

35 антигенам или аллергенам, таким как указанные в настоящем описании аллергические антигены. Такие аллергические антигены или аллергены можно выбирать из числа указанных в настоящем описании аллергических антигенов, таких как антигены, происходящие из различных источников, например, из животных, растений, грибов, бактерий и т.д. В данном контексте к аллергенам относятся, например, травы, пыльца,

40 плесени, лекарственные средства и многочисленные обладающие провоцирующим действием факторы окружающей среды. Как правило, аллергии приводят к местному или системному воспалительному ответу на указанные антигены или аллергены и вызывают иммунную реакцию в организме на указанные антигены. Не ограничиваясь какой-либо конкретной теорией, можно считать, что в развитии аллергий участвуют

45 несколько различных вызывающих заболевание механизмов. Согласно схеме классификации, предложенной P. Gell и R. Coombs, понятие «аллергия» было ограничено различными видами гиперчувствительности типа I, которые вызываются классическим механизмом с участием IgE. Гиперчувствительность типа I характеризуется избыточной

активацией тучных клеток и базофилов с помощью IgE, что вызывает системный воспалительный ответ, который может приводить к таким доброкачественным симптомам, как ринорея, к опасному для жизни анафилактическому шоку и смерти. К широко известным типам аллергий относятся (но не ограничиваясь только ими)

- 5 аллергическая астма (вызывающая опухание слизистой оболочки носа), аллергический конъюнктивит (вызывающий покраснение и зуд конъюнктивы), аллергический ринит («сенная лихорадка»), анафилаксия, ангиодема, атопический дерматит (экзема), крапивница (сыпь), эозинофилия, респираторные заболевания, аллергии на укусы насекомых, кожные аллергии (вызывающие и включающие различные сыпи, такие как
- 10 экзема, сыпи (крапивница) и (контактный) дерматит), аллергии на пищу, аллергии на лекарственные средства и т.д. Лечение таких аллергических нарушений или заболеваний предпочтительно следует осуществлять путем десенсибилизации иммунной реакции, которая «запускает» специфический иммунный ответ. Такую десенсибилизацию можно осуществлять путем введения в эффективном количестве аллергена или аллергического
- 15 антигена, кодируемого указанной в настоящем описании нуклеиновой кислотой, которую предпочтительно включают в состав фармацевтической композиции, с целью индуцирования слабой иммунной реакции. Затем количество аллергена или аллергического антигена можно постепенно повышать при осуществлении последующих введений до тех пор, пока иммунная система пациента, подлежащего лечению, способна
- 20 переносить конкретное количество аллергена или аллергического антигена.

Кроме того, заболевания, которые можно лечить согласно настоящему изобретению, включают также (наследственные) заболевания или генетические заболевания в целом, моногенные заболевания, т.е. (наследственные) заболевания, или генные заболевания в целом. Такие (моно)генные заболевания, (наследственные) заболевания или

- 25 генетические заболевания в целом, как правило, вызываются генетическими дефектами, например, обусловленными генными мутациями, которые приводят к потере активности белка, или регуляторными мутациями, которые не дают осуществляться транскрипции или трансляции белка. Часто указанные заболевания приводят к метаболическим нарушениям или другим симптомам, например, к мышечной дистрофии. Настоящее изобретение позволяет лечить следующие (наследственные) заболевания или
- 30 генетические заболевания: дефицит 3-бета-гидроксистероиддегидрогеназы (типа II); дефицит 3-кетотиолазы; чувствительность к 6-меркаптопурину; синдром Аарскога-Скотта; абеталипопротеинемию; акаталаземию; ахондрогенез; ахондрогенез-гипохондрогенез; ахондроплазию; ахроматопсию; акромезомельную дисплазию (Гунтер-Томпсоновского типа); дефицит адренокортикотропного гормона (АСТН); дефицит ацил-СоА-дегидрогеназы жирных кислот (с короткой цепью, средней цепью, длинной цепью); аденоатозный полипоз толстой кишки (Coli); дефицит аденоциндеаминазы; дефицит аденилсукциназы; адхалинопатию; гиперплазию коры надпочечников, врожденную (обусловленную дефицитом 11-бета-гидроксилазы; обусловленную
- 35 дефицитом 17-альфа-гидроксилазы; обусловленную дефицитом 21-гидроксилазы); гипоплазию коры надпочечников, врожденную, сопровождающуюся гипогонадотропным гипогонадизмом; адреногенитальный синдром; адренолейкодистрофию; адреномиелоневропатию; афибриногенемию; агаммаглобулинемию; синдром Алажиля; альбинизм (коричневый, глазной, глазо-
- 40 кожный, рыжий); острую непереносимость алкоголя; дефицит альдолазы A; альдостеронизм, глюкокортикоид-корригируемый; болезнь Александера; алкантонурию; алопецию универсальную; дефицит альфа-1-антитрипсина; дефицит альфа-метилацил-СоА-рацемазы; синдром альфа-талассемии/задержки умственного развития;
- 45

- синдром Альпорта; болезнь Альцгеймера типа 1 (связанную с APP); болезнь Альцгеймера типа 3; болезнь Альцгеймера типа 4; амелогенез несовершенный; амилоидную невропатию (семейную, несколько аллельных типов); амилоидоз (датского типа; финского типа; наследственный почечный; почечный; старческий системный);
- 5 амиотрофический боковой склероз; анальбуминемию; андрогенную нечувствительность; анемию (Даймонда-Блекфена); анемию (гемолитическую, обусловленную дефицитом пируваткиназы (РК)); анемию (гемолитическую, Rh-нулевую, супрессорного типа); анемию (гемолитическую новорожденных, фатальную и почти фатальную); анемию (сидеробластную/ (сидеробластную, сопровождающуюся атаксией); анемию (сидеробластную/ гипохромную); анемию, вызываемую дефицитом G6PD; аневризму (семейную артериальную); синдром Ангельмана; ангиоэдему; аниридию; аномалии переднего сегмента и катаракту; мезенхимальный дисгенез переднего сегмента; мезенхимальный дисгенез переднего сегмента и катаракту; дефицит антитромбина III; индивидуальные особенности, связанные со страхом; синдром Апера; апноэ (после наркоза); дефицит
- 10 АроA-I и ароC-III (комбинированный); дефицит аполипопротеина A-II; аполипопротеин B-100 (лиганд-дефектный); синдром кажущегося избытка минералкортикоидов (обуславливающий гипертензию); аргининемию; аргининсукинат-ацидурию; артропатию (прогрессирующую псевдоревматоидную, детскую); аспартилглюказаминурию; атаксию (эпизодическую); атаксию с селективным дефицитом
- 15 витамина Е; атаксию-телеангиэктиазию; ателостеогенез типа II; дефицит АТФ-зависимой ДНК-лигазы I; дефект межпредсердной перегородки, сопровождающийся нарушениями (замедлением) атриовентрикулярной проводимости; алопецию с повреждениями фолликул по типу папул; аутизм (сукцинилпуринемический); аутоиммунное полигlandулярное заболевание типа I; дисфункцию вегетативной нервной системы;
- 20 аномалию Аксенфельда; азоспермию; синдром Бамфорта-Лазаруса; синдром Баннаяна-Зонана; синдром Барта; синдром Бартера (типа 2 или типа 3); базально-клеточную карциному; синдром базально-клеточногоnevуса; инфекцию, вызываемую BCG; синдром морщинистой кожи (cutis gyrate) Бира-Стивенса; мышечную дистрофию Беккера; синдром Бекуита-Видеманна; синдром Бернара-Сулье (типа В; типа С); миопатию Бетлема;
- 25 мальабсорбицию желчных кислот, первичную; дефицит биотинидазы; рак мочевого пузыря; приводящие к кровотечению нарушения, обусловленные дефектом рецептора A2 тромбоксана; синдром Блума; брахиодактилию (типа B1 или типа C); бранхио-отический синдром; бранхио-ото-ренальный синдром; рак молочной железы (инвазивный внутрипротоковый; дольковый; у мужчин, с синдромом Рейфенштейна; спорадический);
- 30 рак молочной железы на стадии 1 (ранний); рак молочной железы на стадии 2 (ранний); миопатия Броди; синдром Бругада; синдром Бруннера; лимфому Беркитта; паттерн-дистрофию сетчатки в форме «крыльев бабочки»; дефицит C1q (типа A; типа B; типа C); дефицит C1r/C1s; дефицит C1s, селективный; дефицит C2; дефицит C3; дефицит инактиватора C3b; дефицит C4; дефицит C8, типа II; дефицит C9; кампомелическую
- 35 дисплазию, сопровождающуюся аутосомальной реверсией пола; синдром камптонаутилии-артропатии-Кокса Вара-перикардита; болезнь Канавана; дефицит карбамоилфосфатсингетазы I; синдром углеводного дефицита гликопротеинов (типа I; типа Ib; типа II); карциноидную опухоль легкого; кардиоэнцефаломиопатию (фатальную детскую, обусловленную дефицитом цитохром C-оксидазы);
- 40 кардиомиопатию (дилатационную; X-сцепленную дилатационную; семейная гипертрофическую, гипертрофическую); дефицит карнитина (системный первичный); дефицит карнитин-ацилкарнитинтранслоказы; карпальный туннельный синдром (семейный); катаракту (с нарушением синтеза церулоплазмина; врожденную;
- 45 кардиомиопатию (дилатационную; X-сцепленную дилатационную; семейная гипертрофическая, гипертрофическая); дефицит карнитина (системный первичный); дефицит карнитин-ацилкарнитинтранслоказы; карпальный туннельный синдром (семейный); катаракту (с нарушением синтеза церулоплазмина; врожденную;

- елочкообразную с игловидными отложениями кристаллина; юношескую; полиморфную и слоистую (зонулярную); точечную; зонулярную с пылевидными частицами в наружных слоях ядра); катаракту, порошкообразную Коппок-типа; дефицит CD59; болезнь центрального стержня; мозжечковую атаксию; церебральную амилоидную ангиопатию;
- 5 церебральную артериопатию, сопровождающуюся субкортикальными инфарктами, и лейкоэнцефалопатию; церебральные каверновые мальформации типа 1; церебро-окулофацио-скелетный синдром; церебротендинозный ксантоматоз; цереброваскулярное заболевание; цероидный липофусциноз (нейрональный, юношеский вариантного типа, сопровождающийся гранулярными осмиофильными отложениями); цероидный
- 10 липофусциноз (нейрональный типа 1, детский); цероидный липофусциноз (нейрональный типа 3, юношеский); синдром Чар; болезнь Шарко-Мари-Тута; невропатию Шарко-Мари-Тута; атаксия Шарлевуа-Сагенау-типа; синдром Шедьяка-Хигаси; хлоридную диарею (финского типа); холестаз (добропачественный рецидивирующий внутрипеченочный); холестаз (семейный внутрипеченочный); холестаз (прогрессирующий
- 15 семейный внутрипеченочный); болезнь накопления холестеринового эфира; точечную хондродисплазию (брахителефалангальную; ризомелическую; X-сцепленную доминантную; X-сцепленную рецессивную; Гребе-типа); хондросаркому; хороидеремию; хроническое грануломатозное заболевание (аутосомальное, обусловленное дефицитом белка CYBA); хроническое грануломатозное заболевание (X-сцепленное); хроническое
- 20 грануломатозное заболевание, обусловленное дефицитом белка NCF-1; синдром семейной хиломикронемии; цитруллинемию; классический синдром Коккейна-1; расщелину губы (заячья губа), расщелину челюсти, расщелину неба; синдром эктодermalной дисплазии с расщелиной губы/неба; клейдокраниальная дисплазию; дефицит СМО II; болезнь Коутса; синдром Коккейна-2, типа В; синдром Коффина-
- 25 Лоури; устойчивость к колхицину; адено карцину ободочной кишки; рак ободочной кишки; цветовую слепоту (дейтан-дефект, протан-дефект, тритан-дефект); колоректальный рак; комбинированный дефицит фактора V и фактора VIII; комбинированную гиперлипемию (семейную); комбинированный иммунодефицит (X-сцепленный, умеренно выраженный); дефицит комплекса I; комплексное неврологическое
- 30 нарушение; дистрофию колбочек на стадии 3; дистрофию колбочек-палочек на стадии 3; дистрофию колбочек-палочек на стадии 6; дистрофию колбочек-палочек сетчатки на стадии 2; врожденное билатеральное отсутствие семявыносящих протоков; фиброзный конъюнктивит; контрактуральную арахнодактилию; копропорфирию; врожденное уплощение роговицы; помутнение роговицы; дистрофию роговицы
- 35 (Авеллино-типа; с желатиновыми капельнообразными утолщениями; дистрофии Гроеноу типа I; решетчатой типа I; Рейс-Буклера-типа); устойчивость к кортизолу; устойчивость к кумарину; болезнь Коудена; дефицит СРТ, печеночный (типа I; типа II); судороги (семейные, усугубляемые дефицитом калия); крациофициальный синдром с глухотой и дефектами рук; краиносинтоз (типа 2); кретинизм; болезнь Крейтцфельдта-Якоба;
- 40 синдром Криглера-Найяра; синдром Крузона; синдром Куррарино; синдром вялой кожи; циклический гематопоэз; циклический ихтиоз; цилиндроматоз; муковисцидоз; цистиноз (нефропатический); цистинурия (типа II; типа III); дальтонизм; болезнь Дарье; дефицит D-бифункционального белка; глухоту, аутосомно-доминантную 1; глухоту, аутосомно-доминантную 11; глухоту, аутосомно-доминантную 12; глухоту, аутосомно-
- 45 доминантную 15; глухоту, аутосомно-доминантную 2; глухоту, аутосомно-доминантную 3; глухоту, аутосомно-доминантную 5; глухоту, аутосомно-доминантную 8; глухоту, аутосомно-доминантную 9; глухоту, аутосомно-рецессивную 1; глухоту, аутосомно-рецессивную 2; глухоту, аутосомно-рецессивную 21; глухоту, аутосомно-рецессивную

- 3; глухоту, аутосомно-рецессивную 4; глухоту, аутосомно-рецессивную 9; глухоту, несиндромальную сенсоневральную 13; глухоту, X-сцепленную 1; глухоту, X-сцепленную 3; дебризохиновую чувствительность; болезнь Дежерина-Сотта; деменцию (семейную датского типа); деменцию (фронтотемпоральную (лобно-височную), сопровождающуюся 5 паркинсонизмом); болезнь Дента; зубные патологии; дентаторубро-паллиодолюисову атрофию; синдром Дениса-Драша; дерматофиброзаркому выпирающую; десмоидное заболевание; несахарный диабет (нефрогенный); несахарный диабет (нейрогипофизный); сахарный диабет (инсулиннезависимый); сахарный диабет (редко встречающиеся 10 формы); сахарный диабет (типа II); дистрофическую дисплазию; дигидропирамидинурию; зависимую от дозы реверсию пола; сотовидную дегенерацию сетчатки Дойна; синдром Дубина-Джонсона; мышечную дистрофию Дюшенна; дисэритропоэтическую анемию, сопровождающуюся тромбоцитопенией; дисфибриногенемию (альфа-типа; бета-типа; гамма-типа); врожденный дискератоз 1; диспротромбинемию; дистонию (ДОФА-чувствительную); дистонию (миоклональную); дистонию-1 (торсионную); 15 эктодермальную дисплазию; эктопию хрусталика; эктопию зрачка; эктродактилию (эктодермальную дисплазию и синдром расщепленной губы/неба 3); синдром Элерса-Данло (прогероидную форму); синдром Элерса-Данло (типа I; типа II; типа III; типа IV; типа VI; типа VII); ассоциированный с эластином надклапанный стеноз аорты; эллиптоцитоз-1; эллиптоцитоз-2; эллиптоцитоз-3; синдром Эллиса-ван-Кревельда; 20 мышечную дистрофию Эмери-Дрейфуса; эмфизему; энцефалопатию; эндокардиальный фиброэластоз-2; карцину эндометрия; дефицит ацетилхолинэстеразы на концевой пластинке; синдром усиленного ответа S-колбочек; увеличенный вестибулярный проток; буллезный эпидермолиз; дистрофический буллезный эпидермолиз (доминантный или рецессивный); простой буллезный эпидермолиз; эпидермолитический гиперкератоз; 25 эпидермолитическую ладонно-подошвенную кератодерию; эпилепсию (генерализованную; юношескую; миоклоническую; ночную лобную; прогрессирующую миоклоническую); эпилепсию, доброкачественную, младенческую (типа 1 или типа 2); эпифизеальную дисплазию (множественную); эпизодическую атаксию (типа 2); синдром эпизодической атаксии/миокимии; различные типы эритремий (болезнь тяжелых альфа-цепей; дисплазию); эритроцитоз; эритрокератодерию; устойчивость к эстрогену; миоглобинурию маршевую, обусловленную дефицитом LDH-A; экзостозы, множественные (типа 1; типа 2); эксудативную витреоретинопатию, X-сцепленную; болезнь Фабри; дефицит фактора H; дефицит фактора VII; дефицит фактора X; дефицит фактора XI; дефицит фактора XII; дефицит фактора XIIIА; дефицит фактора XIIIВ; 30 семейную средиземноморскую лихорадку; анемию Фанкони; синдром Фанкони-Бикела; липогрануломатоз Фарбера; жировой метаморфоз печени (острый); фавизм; синдром рыбьего глаза; фовеальную гипоплазию; синдром ломкой X-хромосомы; синдром Фразера; атаксию Фридрайха; непереносимость фруктозы (фруктозо-бисфосфатазы); фукозидоз; дефицит фумаразы; белоточечное глазное дно (Fundus albipunctatus); 35 желтопятнистое глазное дно (Fundus flavimaculatus); дефицит G6PD; дефицит GABA-трансаминазы; дефицит галактокиназы, сопровождающейся катаректой; дефицит галактозоэпимеразы; галактосемию; галактосиалидоз; дефицит GAMT; синдром Гарднера; рак желудка; болезнь Гоше; генерализованную эпилепсию с фебрильными судорогами плюс; опухоли из зародышевых клеток; болезнь Герстманна-Штросслера; 40 гигантоклеточный гепатит (новорожденных); синдром (нарушение) гигантских тромбоцитов; гигантоклеточную фибробластому; синдром Гительмана; тромбастению Гланцманна (типа A; типа B); глаукому 1A; глаукому 3A; глиобластому мультиформную; гломерулосклероз (фокально-сегментарный); нарушение транспорта глюкозы (через 45

- гематоэнцефалический барьер); мальабсорбцию глюкозы/галактозы; дефицит глюказидазы I; глютарикацидурию (типа I; типа II; типа III); дефицит глутатионсинтетазы; дефицит глициролкиназы; нарушение функции глицинового рецептора (полипептид альфа-1); болезнь накопления гликогена типа I; болезнь накопления гликогена типа II; болезнь накопления гликогена типа III; болезнь накопления гликогена типа IV; болезнь накопления гликогена типа VI; болезнь накопления гликогена типа VII; гликогеноз (печеночный, аутосомальный); гликогеноз (печеночный X-сцепленный); GM1-гангиозидоз; GM2-гангиозидоз; зоб (подростковый многоузловой; зоб (врожденный); зоб (неэндемический, простой); гонадный дисгенез (XY-типа); грануломатоз, септический; болезнь Грейвса; синдром цефалополисиндактилии Грэга; синдром Грисцелли; карликовость, обусловленную дефицитом гормона роста; замедление роста, сопровождающееся глухотой и задержкой умственного развития; гинекомастию (семейную, обусловленную повышенной ароматазной активностью); гиратную атрофию сосудистого сплетения глаза и сетчатки, сопровождающуюся орнитинемией (B6-реагирующими или нереагирующими); болезнь Хейли-Хейли; синдром Хайма-Мунка; синдром рука-нога-матка; хардеропорфиринурию; дефицит HDL (семейный); блокаду сердца (непрогрессирующую или прогрессирующую); анемию телец Гейнца; синдром HELLP; гематурию (семейную доброкачественную); дефицит гемоксигеназы-1; гемиплегическую мигрень; гемохроматоз; болезнь гемоглобина H; гемолитическую анемию, обусловленную избытком аденоизиндезаминазы (АДА); гемолитическую анемию, обусловленную дефицитом аденилаткиназы; гемолитическую анемию, обусловленную дефектом белка полосы 3; гемолитическую анемию, обусловленную дефицитом глутатионсинтетазы; гемолитическую анемию, обусловленную дефицитом гексокиназы; гемолитическую анемию, обусловленную дефицитом фосфоглицераткиназы (PGK); гемолитическо-уремический синдром; гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз; гемофилю A; гемофилю B; геморрагический диатез, обусловленный дефицитом фактора V; гемосидероз (системный, обусловленный ацерулоплазминемией); дефицит печеночной липазы; гепатобластому; гепатоцеллюлярную карциному; врожденную геморрагическую телангиэктузию-1; врожденную геморрагическую телангиэктузию-2; синдром Херманского-Пудлака; гетеротаксию (висцеральную X-сцепленную); гетеротопию (перивентрикулярную); синдром Гиппеля-Линдау; болезнь Гиршспрунга; тромбофилию, обусловленную высоким уровнем богатого гистидином гликопротеина в плазме вследствие дефицита HRG; дефицит HMG-CoA-лиазы; голопрозенцефалию-2; голопрозенцефалию-3; голопрозенцефалию-4; голопрозенцефалию-5; синдром Холта-Орама; гомоцистинурию; синдром Хойераала-Хрейдарссона; наследственное персистирование фетального гемоглобина (HPFH) (делеционного типа или неделеционного типа); подагру, обусловленную дефицитом HPRT (гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансфераза); болезнь Гентингтона; гидроцефалию, обусловленную сужением сильвииева водопровода; водянку плода; гипербеталиппротеинемию; гиперхолестеролемию, семейную; синдром гиперферритенемии с катарактой; гиперглицеролемию; гиперлицинемию; синдром гипериммуноглобулинемии D с периодической лихорадкой; гиперинсулинизм; синдром гиперинсулинизма и гипераммонемии; гиперкалиемический периодический паралич; гиперлиппротеинемию; гиперлизинемию; гиперметиониемию (персистентную, аутосомно-домinantную, обусловленную дефицитом метионин-аденозилтрансферазы I/III); синдром гиперорнитинемии-гипераммонемии-гомоцитуллинемии; гипероксалурию; гиперпаратиреоидизм; гиперфенилаланинемию, обусловленную

- дефицитом птерин-4-акарбиноламин-дегидратазы; гиперпроинсулинемию; гиперпролинемию; гипертензию; гипертриоидизм (врожденный); гипертриглицеридемию; гипо-альфа-липопротеинаемию; гипо-бета-липопротеинемию; гипокальциемию; гипохондроплазию; гипохромную макроцитарную анемию; гиподонтию;
- 5 гипофибриногенемию; гипоглобулинемию и отсутствие В-клеток; гипогонадизм (гипергонадотропный); гипогонадизм (гипогонадотропный); гипокалиемический периодический паралич; гипомагнеземию; гипомиелинизацию (врожденную); гипопаратиреоидизм; гипофосфатазию (взрослых, детскую, инфантильную, врожденную); гипопротромбинемию; гипотиреоидизм (врожденный; наследственный;
- 10 незобный); ихтиозiformную эритродермию; ихтиоз; буллезный ихтиоз Сименса; дефицит IgG2; синдром неподвижных ресничек-1; синдром иммунодефицита (Т-клеточный рецептор/CD3-комплекс); синдром иммунодефицита (Х-сцепленного, гипер-IgM); синдром иммунодефицита, обусловленного дефектом CD3-гамма; синдром иммунодефицита, центромерной нестабильности и лицевых аномалий; синдром недержания пигмента;
- 15 нечувствительность к боли (врожденную с ангидрозом); бессонницу (семейную фатальную); дефицит рецептора интерлейкина-2 (альфа-цепь); болезнь межпозвоночных дисков; иридогониодискинез; изолированный дефицит гормона роста (типа Иллига с отсутствием GH и типа Коварски с биологически неактивным GH); изовалериановую ацидемию; синдром Джексона-Вейсса; синдром Дженсена; синдром Джервелла и Ланге-
- 20 Нильсена; синдром Жобера; синдром Джаберга-Марсида; синдром Колмэна; болезнь Канзаки; кератит; кератодермию (ладонно-подошвенную); кератоз ладонно-подошвенный полосчатый I; кератоз ладонно-подошвенный полосчатый II; кератоз, обусловленный дефицитом SCOT; синдром Койтеля; синдром Клиппеля-Тrenaуrnaу; дисплазию Книста; нейтропению Костманна; болезнь Краббе; синдром коротких ребер-
- 25 полидактилии; лактатацидемию, обусловленную дефицитом PDX1; мезомелическую дисплазию Лангера; карликовость лароновского типа; синдром Лоренса-Муна-Бидля-Барде; дефицит LCHAD; врожденный амавроз Лебера; лево-право-осевую мальформацию; синдром Ли; лейомиоматоз (диффузный, с синдромом Альпорта); лепрехаунизм; дисхондростеоз Лери-Вейлля; синдром Леша-Найхана; лейкоз (острый
- 30 миелоидный; острый промиелоцитарный; острый Т-клеточный лимфобластный; хронический миелоидный; юношеский миеломоноцитарный; лейкоз-1 (Т-клеточный острый лимфоцитарный); дефицит адгезии лейкоцитов; аденоому из клеток Лейдига; синдром Лермитта-Дюкло; синдром Лиддла; синдром Ли-Фраумени; дефицит липоамилд-дегидрогеназы; липодистрофию; гиперплазию липоидно-адренальную гиперплазию;
- 35 дефицит липопротеин-липазы; лиссенцефалию (Х-сцепленную); лиссенцефалию типа 1; болезнь накопления гликогена в печени (типа 0); синдром-1 удлиненного интервала QT; синдром-2 удлиненного интервала QT; синдром-3 удлиненного интервала QT; синдром-5 удлиненного интервала QT; синдром-6 удлиненного интервала QT; синдром Лоу; рак легкого; рак легкого (немелкоклеточный); рак легкого (мелкоклеточный);
- 40 лимфедему; лимфому (В-клеточную неходжкинскую); лимфому (диффузную крупноклеточную); лимфому (фолликулярную); лимфому (ассоцииированную с лимфоидной тканью слизистых оболочек (MALT)); лимфому (из клеток зоны мантии); лимфопролиферативный синдром (Х-сцепленный); непереносимость лизинурического белка; болезнь Мачадо-Джозефа; макроцитарную рефракторную анемию (5q-синдром);
- 45 макулярную дистрофию; злокачественную мезотелиому; дефицит малонил-СоА-декарбоксилазы; маннозидоз, (альфа- или бета-); болезнь мочи с запахом кленового сиропа (типа Ia; типа Ib; типа II); синдром Марфана; синдром Марото-Лами; синдром Маршалла; синдром MASA (умственная отсталость, афазия, шаркающая походка,

- приведенный большой палец кисти); лейкоз тучных клеток; мастоцитоз, ассоциированный с гематологическим нарушением; болезнь Мак-Ардла; полиостотическую фиброзную дисплазию Мак-Кьюна-Олбрихта; синдром Мас-Кьюсика-Кауфмана; фенотип Mac-Leода; медуллярную тиреоидную карциному;
- 5 медуллобластому; дистрофию роговицы Месманна; мегалобластную анемию-1; меланому; мембранопролиферативный гломерулонефрит; болезнь Меньера; менингиому (связанную с нейрофибромином 2 (NF2); связанную с онкогеном SIS); болезнь Менкеса; синдром замедления умственного развития (Х-сцепленный); недостаточный метаболизм мефентоина; мезотелиому; метахроматическую лейкодистрофию; метафизеальную
- 10 хондродисплазию (типа Мурка Янсена; типа Шмида); метемглобинемию; дефицит метионинаденозилтрансферазы (аутосомно-рецессивный); дефицит метилкобаламина (cbl G-типа); метилмалоновую ацидурию (с дефицитом мутазы); мевалоновую ацидурию; дефицит ГКГ класса II; микрофтальмию (катаракты и аномалии радужной оболочки); миопатию Мийоши; MODY (сахарный диабет взрослого типа у молодых); синдром
- 15 Мора-Транебьерга; дефицит кофактора молибдена (типа А или типа В); монилетрикс; болезнь Фабри (Morbus Fabry); болезнь Гоше (Morbus Gaucher); мукополисахаридоз; муковисцидоз; синдром Мюнке; синдром Муира-Торре; нанизм Мюлибрея; множественный дефицит карбоксилазы (чувствительный к биотину); множественную эндокринную неоплазию; мышечный гликогеноз; мышечную дистрофию (врожденную
- 20 мерозин-дефицитную); мышечную дистрофию (врожденную Фукуяма-типа); мышечную дистрофию (конечностей, плечевого и тазового пояса); мышечную дистрофию (типа Дюшенна); мышечную дистрофию с простым буллезным эпидермолизом; миастенический синдром (врожденный синдром «медленного канала»); микробактериальную инфекцию (атипическую, семейную диссеминированную);
- 25 миелодиспластический синдром; миелогенный лейкоз; злокачественное миелоидное заболевание; дефицит миелопероксидазы; дефицит миоаденилат-деаминазы; миоглобинурию/гемолиз вследствие дефицита PGK; синдром мионейрогастроинтестинальной энцефаломиопатии; миопатию (актиновую; врожденную; десмин-ассоциированную; кардиоскелетную; дистальную; немалиновую);
- 30 миопатию, обусловленную дефицитом СРТ II; миопатию, обусловленную дефицитом фосфоглицератмутазы; миотонию врожденную; миотонию доброкачественную; миотоническую дистрофию; миксOIDную липосаркому; дефицит альфа-N-глюказамиnidазы (NAGA); синдром нейл-пателла; немалиновую миопатию 1 (аутосомно-домinantную); немалиновую миопатию 2 (аутосомно-рецессивную);
- 35 неонатальный гиперпаратиреоз; нефролитиаз; нефронофтиз (ювенильный); нефропатию (хроническую гипокомплементемическую); нефроз-1; нефротический синдром; синдром Нетертона; нейробластому; нейрофиброматоз (типа 1 или типа 2); нейролеммоматоз; нейрональный цероидный липофусциноз, тип 5; невропатию; нейтропению (аллоиммунную неонатальную); болезнь Ниманна-Пика (типа А; типа В; типа C1; типа D); ночную слепоту (стационарную врожденную); синдром хромосомных поломок Ниймен; синдром некомпактности миокарда левого желудочка; неэпидермолитический ладонно-подошвенный кератодермит; болезнь Норри; болезнь Норума; дефицит нуклеозидфосфорилазы; ожирение; синдром затылочного рога головного мозга; глазной альбинизм (Нетлшипа-Фолза-типа); окулофарингальную мышечную дистрофию;
- 40 болезнь Огучи; олигодонтию; синдром Омена; синдром Опица (синдром G); колобому зрительного нерва, сопровождающуюся почечным заболеванием; дефицит орнитинтранскарбамилазы; оротическую ацидурию; ортостатическую непереносимость; синдром отоспондиломегаэпифизеальной дисплазии (OSMED); оссификацию задней

- продольной связки позвоночника; остеоартроз; остеогенез несовершенный; остеолиз; остеопетроз (рецессивный или идиопатический); остеосаркому; саркому яичника; дисгенез яичника; врожденную пахионихию (Джексона-Лоулера типа или Ядассона-Левандовского типа); болезнь Пэджета костной ткани; синдром Паллистера-Холла;
- 5 панкреатический агенезис; рак поджелудочной железы; панкреатит; синдром Папийона-Лефевра; параганглиомы; врожденную парамиотонию; париетальные отверстия; болезнь Паркинсона (семейную или ювенильную); пароксизмальную ночную гемоглобинурию; болезнь Пелицеуса-Мерцбахера; синдром Пендреда; перинеальные гипоспадии; периодическую лихорадку; пероксисомальное пероксисомальное биогенное
- 10 нарушение; персистентную гиперинсулинемическую гипогликемию детей; синдром персистентности мюллерова протока (типа II); аномалию Петерса; синдром Пейтца-Егерса; синдром Пфейфера; фенилкетонурию; подагру, связанную с фосфорибозил-пирофосфатсинтетазой; дефицит киназы фосфорилазы в печени и мышцах; пиебалдизм; пиломатрикуму; pineалому с билатеральной ретинобластомой; аденому гипофиза,
- 15 секретирующую аденокортicotропный гормон (АКТГ); дефицит гормонов гипофиза; опухоль гипофиза; дефицит плацентарной стероидной сульфатазы; дефицит ингибитора плазмина; дефицит плазминогена (типов I и II); болезнь плазминогена Тохиги; тромбоцитарное нарушение; дефицит тромбоцитарного гликопротеина IV; дефицит ацетилгидралазы тромбоцитактивирующего фактора; поликистозное заболевание
- 20 почек; поликистозную липомембранные остеодисплазию, сопровождающую склерозирующющей лейкоэнцефалопатией; полидактилию, постаксиальную; полипоз; синдром попliteального птеригиума; порфирию (острую печеночную или острую перемежающуюся, или врожденную эритропоэтическую); позднюю порфирию кожи; порфирию гепатоэритропоэтическую; порфирию вариегатную; синдром Прадера-Вилли;
- 25 преждевременное половое созревание; преждевременное угасание функции яичников; прогерию типа I; прогерию типа II; прогрессирующую внешнюю офтальмоплегию; прогрессирующий внутрипеченочный холестаз-2; пролактиному (гиперпаратиреодизм, карциноидный синдром); дефицит пролидазы; пропионовую ацидемию; рак предстательной железы; дефицит белка S; протеинурию; протопорфирию
- 30 (эритропоэтическую); псевдоахондроплазию; псевдогермафродитизм; псевдогипоальдостеронизм; псевдогипопаратиреоидизм; псевдовагинальные перинеоскротальные гипоспадии; псевдо-витамин D дефицитные рахиты; псевдоксантому эластичную (аутосомно-доминантную; аутосомно-рецессивную); легочно-альвеолярный протеиноз; легочную гипертензию; пурпуре молниеносную гангренозную;
- 35 пикнодисостоз; пиропоикилоцитоз; дефицит пируваткарбоксилазы; дефицит пируватдегидрогеназы; синдром Рэбсона-Менденхолла; болезнь Рефсума; почечно-клеточную карциному; почечный тубулярный ацидоз; почечный тубулярный ацидоз, сопровождающийся глухотой; синдром почечного тубулярного ацидоза-остеопетроза; ретикулоз (семейный гистиоцитарный); дегенерацию сетчатки; дистрофию сетчатки;
- 40 пигментозный ретинит; белоточечный пигментный ретинит; ретинобластому; дефицит ретинолсвязывающего белка; ретиноназис, синдром Ретта; синдром дефицита Rh-антител; синдром предрасположенности к рабдоидной опухоли; рабдоидные опухоли; рабдомиосаркому; рабдомиосаркому (альвеолярную); хондроплазию пунктату, относящуюся к тазобедренному или плечевому суставу; синдром Риббинга; рахит
- 45 (витамин D-устойчивый), аномалию Ригера; синдром Робиноу; синдром Ротмунда-Томсона; синдром Рубинстайна-Тейби; сахаропинурию; синдром Сэтре-Хотцена; болезнь Салла; синдром Сэндхоффа (детская, ювенильная и взрослая формы); синдром Санфилипп (типа А или типа В); болезнь Шиндлера; шизэнцефалию; шизофрению

- (хроническую); шванному (спорадическую); SCID (тяжелый комбинированный иммунодефицит) (аутосомно-рецессивный, Т-негативного/В-позитивного типа); секреторный путь w/TMD; врожденную SED (спондилоэпифизарную дисплазию); синдром Сегава; селективный Т-клеточный дефект; SEMD (спондилоэпиметафизическая дисплазия) (пакистанского типа); SEMD (Струдвик-типа); септооптическую дисплазию; тяжелый комбинированный иммунодефицит (с низким содержанием В-клеток); тяжелый комбинированный иммунодефицит (с низким содержанием Т-клеток, с высоким содержанием В-клеток/естественных клеток-киллеров); тяжелый комбинированный иммунодефицит (Х-сцепленный); тяжелый комбинированный иммунодефицит,
- обусловленный дефицитом ADA; реверсию пола (XY, с недостаточностью надпочечников); синдром Сезари; синдром Шаха-Ваарденбурга; синдром низкорослости; синдром Шпринтцена-Гольдберга; нарушение накопления сиаловой кислоты; сиалидоз (типа I или типа II); сиалурию; серповидноклеточную анемию; синдром Симпсона-Голаби-Бемела; синдром гетеротаксии (*Situs ambiguus*); синдром Шегрена-Ларссона;
- синдром Смита-Финемана-Майера; синдром Смита-Лемли-Опитца (типа I или типа II); соматотропиному; дистрофию глазного дна Сорсби; спастическую параплегию; сфероцитоз; сфероцитоз-1; сфероцитоз-2; спинальную и бульбарную мышечную атрофию Кеннеди; спинальную мышечную атрофию; спиноцеребральную атаксию; спондилокостальный дисостоз; позднюю спондилоэпифизальную дисплазию;
- спондилометафизальную дисплазию (японского типа); болезнь Штаргардта-1; мультиплексную стеатоцистому; синдром Стиклера; синдром Стерджа-Вебера; субкортикальную ламинальную гетеропию; субкортикальную ламинарную гетеропию; дефицит сукцинат-полуальдегид-дегидрогеназы; непереносимость сахарозы; синдром Сазерленда-Хаана; повышение хлоридов пота без кистозного фиброза (CF);
- симфалангизм; синдром синостозов; синполидактилию; болезнь Танжера; болезнь Тэя-Сакса; острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз; Т-клеточный иммунодефицит; Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз; талассемию (альфа - или дельта-); талассемию, обусловленную гемоглобином Лепора (*Hb Lepore*); танатофорную дисплазию (типа I или типа II); синдром чувствительной к тиамину мегалобластной анемии;
- тромбоцитемию; тромбофилию (дисплазминогенную); тромбофилию, обусловленную дефицитом гепаринового кофактора II; тромбофилию, обусловленную дефицитом белка C; тромбофилию, обусловленную дефектом тромбомодулина; аденоциту щитовидной железы; устойчивость к тиреоидному гормону; дефицит йодпероксидазы щитовидной железы; синдром Тица; синдром слабого метаболизма толбутамида; синдром Таунса-Брокса; дефицит транскобаламина II; мандибуло-фациальный дизостоз Тречера Коллинза; синдром трихо-денто-осцеусный; трихо-рино-фалангальный синдром; трихотиодистрофию; дефицит трифункционального белка (типа I или типа II); дефицит трипсиногена; туберозный склероз-1; туберозный склероз-2; синдром Тюрко; синдром тирозинфосфатазы; тирозинемию; синдром аномалий локтевой кости и грудных желез;
- уролитиаз (2,8-дигидроксиаденин); синдром Ашера (типа 1B или типа 2A); венозные мальформации; желудочковую тахикардию; вирилизацию; дефект витамин K-зависимой коагуляции; недостаточность сверхдлинных цепей ацил-СоА-дегидрогеназы (VLCAD); синдром Фовинкеля; синдром фон Гиппеля-Линдау; болезнь фон Виллебранда; синдром Ваарденбурга; синдром Ваарденбурга/глазной альбинизм; неврологический вариант синдрома Ваарденбурга-Шаха; синдром Ваарденбурга-Шаха; синдром Вагнера; чувствительность к варфарину; синдром Уотсона; синдром Вейссенбахера-Цвеймюллера; синдром Вернера; акродентальный дицистоз Вейера; белый губчатый невус; синдром Вильямса-Берена; опухоль Вильмы (типа 1); болезнь Вильсона; синдром Вискотта-

Олдрича; синдром Волкотта-Раллисон; синдром Вольфрама; болезнь Вольмана; ксантинурию (типа I); пигментную ксеродерму; X-SCID; синдром йеменской глухоты-слепоты и гипопигментации; гиперкальциемия гипокальциурическая (типа I); синдром Зелльвегера; синдром Злотогура-Огуря.

- 5 Болезни, которые можно лечить согласно настоящему изобретению, включают также болезни, которые имеют генетическую наследуемую природу и которые, как правило, обусловлены дефектом одного гена и передаются по наследству в соответствии с законами Менделя, предпочтительно выбирают из группы, включающей аутосомно-рецессивные наследственные болезни, такие, например, как дефицит аденоzinдеаминазы,
- 10 семейная гиперхолестеринемия, синдром Канавана, болезнь Гоше, анемия Фанкони, нейрональный цероидный липофусциноз, муковисцидоз (кистозный фиброз), серповидноклеточная анемия, фенилкетонурия, алkaptonурия, альбинизм, гипотиреоз, галактоземия, дефицит альфа-1-анти-трипсина, пигментозная ксеродерма, синдром Риббинга, мукополисахаридозы, расщепленная губа, челюсть, небо, синдром Лоренса-
- 15 Муна-Бидля-Барде, синдром короткореберной полидактилии, кретинизм, синдром Жобера, прогерия типа II, брахидаактилия, адреногенитальный синдром, и наследуемые связанные с X-хромосомой болезни, такие, например, как цветовая слепота, например, слепота на зеленый/красный цвет, синдром «хрупкой X-хромосомы», мышечная дистрофия (типа Дюшенна и Бекера-Кинера), гемофилия А и В, дефицит G6PD, болезнь
- 20 Фабри, мукополисахаридоз, синдром Норрье, пигментозный ретинит, септический грануломатоз, X-SCID, дефицит орнитин-транскарбамоилазы, синдром Леша-Нихана, или аутосомно-домinantные наследственные болезни, такие, например, как наследственная ангиоэдема, синдром Марфана, нейрофиброматоз, прогерия типа I, несовершенный остеогенез, синдром Клиппеля-Тrenaунау, синдром Стерджа-Вебера,
- 25 синдром Гиппеля-Линдау и туберозный склероз.

Настоящее изобретение позволяет также осуществлять лечение болезней, которые не являются наследственными, или которые не подпадают под указанные выше категории. Такие болезни могут включать, например, заболевания, при которых требуется лечение пациентов, нуждающихся в конкретном белковом факторе, например, в специфическом терапевтически активном белке, указанном выше. Они могут включать, например, диализ пациентов, например, пациентов, подвергающихся (регулярному) почечному или ренальному диализу, и которые могут нуждаться в специфических терапевтически активных белках, указанных в настоящем описании, например, эритропоэтине (EPO) и т.д.

- 30 35 В контексте настоящего изобретения заболевания могут представлять собой также сердечно-сосудистые заболевания, выбранные из группы, включающей (но не ограничиваясь только ими) коронарную болезнь сердца, артериосклероз, апоплексию и гипертензию и т.д.

И, наконец, заболевания в контексте настоящего изобретения можно выбирать из нервных болезней, включая, например, болезнь Альцгеймера, амиотрофический боковой склероз, дистонию, эпилепсию, рассеянный склероз и болезнь Паркинсона и т.д.

- 40 45 Согласно следующему варианту осуществления изобретения настоящее изобретение относится ко второму медицинскому применению предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, указанного в настоящем описании, для лечения заболеваний, указанных в настоящем описании, с помощью генной терапии.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-

молекулу, можно применять для приготовления фармацевтической композиции, иммуностимулирующего агента, адьюванта или вакцины.

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию,

иммуностимулирующий агент, адьюvant или вакцину можно применять также для 5 лечения заболевания или нарушения, указанного в настоящем описании.

И, наконец, последним объектом настоящего изобретения являются также наборы, в частности, состоящие из частей наборы, содержащие в качестве компонентов, индивидуально или в сочетании с дополнительными ингредиентами по меньшей мере один предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и

10 карго-молекулу, указанный в настоящем описании, по меньшей мере одну/один фармацевтическую композицию, иммуностимулирующий агент, адьюvant или вакцину, и необязательно технические инструкции с информацией об особенностях введения и дозах молекулы полимерного носителя, нуклеиновой кислоты, предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель, и/или предлагаемой в

15 изобретении фармацевтической композиции. Указанные наборы, предпочтительно состоящие из частей наборы, можно применять для многих или любой из вышеуказанных целей или вариантов применения. Указанные наборы, когда они представляют собой состоящие из частей наборы, могут содержать также каждый компонент предлагаемой/ предлагаемого в изобретении фармацевтической композиции, иммуностимулирующего

20 агента, адьюванта или вакцины в виде различных частей набора.

В настоящем изобретении, если не указано иное, то, если это возможно, различные особенности альтернатив и вариантов осуществления изобретения можно объединять друг с другом. Кроме того, понятие «содержащий» не должно ограничиваться значением «состоящий из», если специально не указано иное. Однако в контексте настоящего 25 изобретения понятие «содержащий», если это возможно, можно заменять на понятие «состоящий из».

Описание чертежей

Приведенные ниже чертежи предназначены для дополнительной иллюстрации изобретения. Они не направлены на ограничение объекта изобретения.

30 На чертежах показано:

на фиг.1 - данные об экспрессии люциферазы в НерG2-клетках после трансфекции комплексами, содержащими полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают 5 мкг мРНК, кодирующей люциферазу (R1180). CR₁₂C/R1180 обозначает предлагаемый

35 в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно сшитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C (Cys-Arg₁₂-Cys) и мРНК R1180 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой

карго-молекулу. R₁₂/R1180 обозначает не являющийся объектом изобретения комплекс, содержащий носитель и карго-молекулу, который состоит из неполимеризующегося

40 катионного пептида R₁₂ (Arg₁₂) и мРНК R1180 в качестве нуклеиновой кислоты,

представляющей собой карго-молекулу, который применяют для сравнения.

Представлены результаты, полученные для комплексов, в которых массовое соотношение катионного пептида и нуклеиновой кислоты составляет 1:2 (мас./мас.) или 2:1 (мас./мас.).

45 R1180 обозначает клетки, трансфектированные не входящей в комплекс РНК.

Буфер представляет собой отрицательный контроль для нетрансфектированных клеток.

Через 24 ч оценивают уровень люциферазы в лизатах, измеряя хемилюминесценцию

в результате окисления люциферина.

Экспериментальные точки соответствуют индивидуальным биологическим повторностям.

Результаты, во-первых, демонстрируют, что предлагаемые в изобретении комплексы, 5 содержащие полимерный носитель и карго-молекулу ($CR_{12}C/R1180$), индуцируют более высокие уровни экспрессии люциферазы по сравнению с не являющимися объектом изобретения комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу ($R_{12}/R1180$), которые включают неполимеризованный пептид R_{12} . Во-вторых, результаты 10 демонстрируют, что величины отношений N/P, превышающие 1, являются предпочтительными для трансфекции *in vitro*.

На фиг.2 - данные об экспрессии (*in vitro*) люциферазы в клетках НерG2 и В16F10 после трансфекции комплексами, содержащими полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают 5 мкг мРНК, кодирующей люциферазу ($R1180$). $CR_{12}C/R1180$ 15 обозначает предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно сшитый дисульфидными связями катионный пептид $CR_{12}C$ (Cys-Arg₁₂-Cys) и мРНК $R1180$ в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу. $R_{12}/R1180$ обозначает не являющийся 20 объектом изобретения комплекс, содержащий носитель и карго-молекулу, который состоит из неполимеризующегося катионного пептида R_{12} (Arg₁₂) и мРНК $R1180$ в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, который применяют для сравнения. $CR_9C/R1180$ обозначает предлагаемый в изобретении 25 комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно сшитый дисульфидными связями катионный пептид CR_9C (Cys-Arg₉-Cys) и мРНК $R1180$ в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу.

Представлены результаты, полученные для комплексов, в которых массовое соотношение катионного пептида и нуклеиновой кислоты составляет 2:1 (мас/мас).

$R1180$ обозначает клетки, трансфектированные не входящей в комплекс РНК.

Буфер представляет собой отрицательный контроль для нетрансфектированных 30 клеток.

Через 24 ч уровень люциферазы оценивают в лизатах, измеряя хемилюминесценцию в результате окисления люциферина.

Экспериментальные точки соответствуют индивидуальным биологическим 35 повторностям.

Результаты, во-первых, демонстрируют, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу ($CR_{12}C/R1180$ и $CR_9C/R1180$), индуцируют более высокие уровни экспрессии люциферазы по сравнению с не 40 предлагаемыми в изобретении комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу ($R_{12}/R1180$ и $R_9/R1180$), которые включают неполимеризованные пептиды R_9 и R_{12} .

На фиг.3 - данные об экспрессии *in vivo* люциферазы после внутрикожной инъекции самкам мышей линии BALB/c 5 мкг мРНК, кодирующей люциферазу ($R1180$). $CR_{12}C/R1180$ обозначает предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно сшитый дисульфидными 45 связями катионный пептид $CR_{12}C$ (Cys-Arg₁₂-Cys) и мРНК $R1180$ в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу. $R_{12}/R1180$ обозначает не являющийся объектом изобретения комплекс, содержащий носитель и карго-молекулу, который

состоит из неполимеризующегося катионного пептида R₁₂ (Arg₁₂) и мРНК R1180 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, который применяют для сравнения.

Представлены результаты, полученные для комплексов, в которых массовое соотношение катионного пептида и нуклеиновой кислоты составляет 1:2 (мас/мас) или 2:1 (мас/мас).

Через 24 ч оценивают уровень люциферазы в лизатах ткани с помощью анализа хемиллюминесценции.

Результаты, во-первых, демонстрируют, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу (CR₁₂C/R1180), индуцируют более высокие уровни экспрессии люциферазы по сравнению с не являющимися объектом изобретения комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу (R₁₂/R1180), которые включают неполимеризованный пептид R₁₂ (фактически в образце с неполимеризованным пептидом R₁₂ экспрессию люциферазы не удалось обнаружить). Во-вторых, результаты демонстрируют, что величины отношений N/P ниже 1, являются предпочтительными для трансфекции *in vivo*.

На фиг.4 - первичная корреляционная кривая для предлагаемых в изобретении комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают в качестве носителя поперечно сшитые дисульфидными мостиками катионные пептиды CR₁₂C и CR₇C, после лиофилизации в сравнении с не являющимися объектом изобретения комплексами, содержащими неполимеризующиеся катионные пептиды (R₁₂ и R₇) в качестве носителя, которую получают путем измерения динамического рассеяния света с помощью устройства Zetasizer Nano (фирма Malvern Instruments, Малверн, Великобритания). Гидродинамические диаметры оценивают с использованием свежеприготовленных комплексов и восстановленных комплексов после лиофилизации. Массовое соотношение пептид:РНК составляет 1:2. Результаты демонстрируют, что у предлагаемых в изобретении комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают цистеинсодержащие пептиды в качестве катионных компонентов, приводящих к полимеризации полимерного носителя с помощью дисульфидных связей, размер не изменяется в отличие от комплексов, образованных из неполимеризующихся пептидов, у которых размер увеличивается, и которые следовательно являются нестабильными в процессе стадии лиофилизации. Таким образом, комплексы, содержащие полимеризованные пептиды в качестве полимерных носителей, обладают предпочтительными свойствами в отношении лиофилизации.

На фиг.5 - дзета-потенциалы предлагаемых в изобретении комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сшитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и R722 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в различных массовых соотношениях, предлагаемых в изобретении. Продемонстрировано, что дзета-потенциалы изменяются с положительных на отрицательные при изменении массового соотношения от избыточного количества пептида до соотношения 1:1 (пептид/РНК).

На фиг.6А - данные о секреции цитокина hIFNa (*in vitro*) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сшитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и CpG 2216 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в массовом соотношении 1:2,5 (мас./мас.) (CR₁₂C/CpG 2216), предлагаемом в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.6Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерных носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и CpG 2216 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в массовом соотношении 1:2,5 (мас./мас.) (CR₁₂C/CpG 2216), предлагаемом в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, не приводят к повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.7А - данные о секреции цитокина hIFNa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и мРНК R491, которая кодирует люциферазу, в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в массовом соотношении 1:2 (мас/мас) (CR₁₂C/R491), предлагаемом в изобретении. Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.7Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и мРНК R491, которая кодирует люциферазу, в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в массовом соотношении 1:2 (мас/мас) (CR₁₂C/R491), предлагаемом в изобретении. Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.8А - данные о секреции цитокина hIFNa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и короткий богатый GU РНК-олигонуклеотид (короткая богатая GU РНК), в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в массовом соотношении 1:2,5 (мас/мас) (CR₁₂C/ короткая богатая GU РНК), предлагаемом в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.8Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и

короткий богатый GU РНК-олигонуклеотид (короткая богатая GU РНК), в качестве нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в массовом соотношении 1:2,5 (мас/мас) (CR₁₂C/ короткая богатая GU РНК), предлагаемом в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие 5 полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с применением только нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.9А - данные о секреции цитокина hIFNa (in vitro) в hPBMC после стимуляции 10 с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₇C и длинную некодирующую богатую GU isPHK R722, в качестве нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, предлагаемой в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие 15 полимерный носитель и карго-молекулу (CR₇C/R722), приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с не являющимися объектом изобретения комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу (R₇/R722), образованными из неполимеризованного пептида R₇.

На фиг.9Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции 20 с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₇C и длинную некодирующую богатую GU isPHK R722, в качестве нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, предлагаемой в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие 25 полимерный носитель и карго-молекулу (CR₇C/R722), приводят лишь к небольшому повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с не являющимися объектом изобретения комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу (R₇/R722), образованными из неполимеризованного пептида R₇.

На фиг.10А - данные о секреции цитокина hIFNa (in vitro) в hPBMC после стимуляции 30 с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₉C и длинную некодирующую богатую GU isPHK R722, в качестве нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, предлагаемой в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие 35 полимерный носитель и карго-молекулу (CR₉C/R722), приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с не являющимися объектом изобретения комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу (R₉/R722), образованными из неполимеризованного пептида R₉.

На фиг.10Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции 40 с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно сплитый дисульфидными связями катионный пептид CR₉C и длинную некодирующую богатую GU isPHK R722, в качестве нукleinовой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, предлагаемой в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие 45 полимерный носитель и карго-молекулу (CR₉C/R722), не приводят к повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с не являющимися объектом

изобретения комплексами, содержащими носитель и карго-молекулу ($R_9/R722$), образованными из неполимеризованного пептида R_9 .

На фиг.11А - данные о секреции цитокина hIFNa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно спитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и isPHK R722, в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в различных массовых соотношениях, предлагаемых в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.11Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, которые включают поперечно спитый дисульфидными связями катионный пептид CR₁₂C и isPHK R722, в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, в различных массовых соотношениях, предлагаемых в изобретении.

Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.12А - данные о секреции цитокина hIFNa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих катионные пептиды CH₆R₄H₆C, CH₃R₄H₃C и CHK₇HC и isPHK R722 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, с различными величинами отношения N/P, предлагаемыми в изобретении. Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hIFNa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионного пептида.

На фиг.12Б - данные о секреции цитокина hTNFa (in vitro) в hPBMC после стимуляции с помощью комплексов, содержащих поперечно спитые дисульфидными мостиками катионные пептиды CH₆R₄H₆C, CH₃R₄H₃C и CHK₇HC и isPHK R722 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, с различными величинами отношения N/P, предлагаемыми в изобретении. Продемонстрировано, что предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, приводят к повышению высвобождения цитокина hTNFa в hPBMC по сравнению с применением только нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, или только катионный пептид. В частности, предлагаемые в изобретении комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, в которых величина отношения N/P превышает или равна 1, приводят к секреции TNFальфа.

На фиг.13 - данные о воздействии (in vivo) добавления предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно спитый с помощью дисульфидных связей катионный пептид CR₁₂C в качестве носителя и isPHK R722 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, к белковой вакцине на основе овалбумина (белок OVA) при использовании в качестве адьюванта в экспериментах по заражению опухолями. Продемонстрировано, что предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-

молекулу, очень значительно снижает рост опухолей по сравнению с применением только белковой вакцины, которая не оказывает воздействия на опухоль по сравнению с применяемым в качестве контроля буфером.

На фиг.14 - данные о воздействии (*in vivo*) добавления предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно сшитый с помощью дисульфидных связей катионный пептид CR₁₂C в качестве носителя и isPHK R722 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, к белковой вакцине на основе овальбумина (белок OVA) при использовании в качестве адьюванта в отношении индукции специфических для овальбумина антител типа IgG2a. Продемонстрировано, что предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, значительно усиливает В-клеточный ответ, что свидетельствует о полезной активности в качестве адьюванта предлагаемых в изобретении комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего в отношении индукции сдвинутого в сторону Th1 иммунного ответа.

На фиг.15 - данные о воздействии (*in vivo*) добавления предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, который включает поперечно сшитый с помощью дисульфидных связей катионный пептид CR₁₂C в качестве носителя и isPHK R722 в качестве нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу, к белковой вакцине на основе овальбумина (белок OVA) или вакцине на основе специфического для овальбумина пептида SIINFEKL при использовании в качестве адьюванта в отношении индукции специфических для овальбумина цитотоксических Т-клеток. Продемонстрировано, что предлагаемый в изобретении комплекс, содержащий полимерный носитель и карго-молекулу, значительно усиливает индукцию специфических для овальбумина цитотоксических Т-клеток по сравнению с вакцинацией только белком или пептидом, что свидетельствует также о полезной активности в качестве адьюванта предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, прежде всего в отношении индукции сдвинутого в сторону Th1 иммунного ответа.

Примеры

Приведенные ниже примеры предназначены для дополнительной иллюстрации изобретения. Они не направлены на ограничение объекта изобретения.

1. Реагенты:

Катионные пептиды, используемые в качестве катионного компонента:

R₇: Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg (Arg₇),

CR₇C: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (CysArg₇Cys),

R₉: Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg (Arg₉),

R₁₂: Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg (Arg₁₂),

CR₉C: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Cys (Cys-Arg₉-Cys),

CR₁₂C: Cys-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg (Cys-Arg₁₂-Cys).

Нуклеиновые кислоты, используемые в качестве карго-молекул:

R1180: мPHK, кодирующая люциферазу (SEQ ID NO:384),

R722: длинная некодирующая богатая GU isPHK (SEQ ID NO:385),

R491: мPHK, кодирующая люциферазу (SEQ ID NO:386),

CpG 2216: CpG-олигонуклеотид (SEQ ID NO:387),

короткая богатая GU PHK: богатый GU PHK-олигонуклеотид (SEQ ID NO:369).

2. Получение нуклеотидных последовательностей:

В рассматриваемых примерах получали нуклеотидные последовательности, указанные в примере 1, и применяли для создания предлагаемых в изобретении комплексов, содержащих полимеризованный полимерный носитель и карго-молекулу, или

используемых сравнения комплексов, содержащих неполимеризованный носитель и карго-молекулу. Указанные комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, применяли для трансфекции *in vitro* и *in vivo*, для иммуностимуляции *in vitro* и для характеристики размеров частиц.

Для получения первого препарата создавали последовательности ДНК, кодирующие соответствующие последовательности РНК R1180, R722 и R491. Последовательности соответствующих РНК, представлены в перечне последовательностей (SEQ ID NO:384, 385 и 386).

Короткие богатые GU последовательности и CpG 2216-олигонуклеотиды получали путем автоматического твердофазного синтеза на основе фосфороамидной химии. Последовательности представлены в перечне последовательностей (SEQ ID NO:387 и 369).

3. Транскрипция *in vitro*:

Соответствующие для R1180, R722 и R491 ДНК-плазмиды, полученные согласно методу, описанному в примере 2, транскрибировали *in vitro* с помощью T7-полимеразы (набор T7-Opti mRNA, фирма Cure Vac, Тюбинген, Германия) согласно инструкциям производителя. Затем мРНК очищали с помощью набора PureMessenger[®] (фирма Cure Vac, Тюбинген, Германия).

4. Синтез комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу:

Нуклеиновые кислоты, последовательности которых указаны выше в примере 1, смешивали с катионными компонентами, указанными в примере 1. Для этого нуклеиновые кислоты, взятые в указанных количествах, смешивали с соответствующим катионным компонентом в указанных массовых соотношениях, получая тем самым комплекс. Если применяли полимеризующиеся катионные компоненты, указанные в настоящем изобретении, то полимеризация катионных компонентов происходила одновременно с образованием комплекса с нуклеиновой кислотой, применяемой в качестве карго-молекулы. Затем объем образовавшегося раствора доводили водой до конечного объема 50 мкл и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. Различные соотношения катионного компонента/нуклеиновой кислоты, применяемые в экспериментах, представлены в таблице 1.

35

Таблица 1			
Образец (катионный пептид/ нукleinовая кислота)	Массовое соотношение	Отношение N/P	Молярное соотношение
CR ₁₂ C/R1180	1:2	0,9	44:1
CR ₁₂ C/R1180	2:1	3,6	185:1
R ₁₂ /R1180	1:2	0,7	48:1
R ₁₂ /R1180	2:1	2,5	146:1
CR ₉ C/R1180	2:1	0,9	55:1
R ₉ /R1180	2:1	1,1	65:1
CR ₇ C	1:2	0,8	70:1
R ₇	1:2	1,0	85:1
CR ₁₂ C/CpG	1:2,5	4,9	8:1
CR ₁₂ C/R491	1:2	0,9	150:1
CR ₁₂ C/короткая богатая	1:2,5	4,9	8:1

GUPHK			
5	CR ₁₂ C/R722	5:1	9,6
	CR ₁₂ C/R722	4:1	7,6
	CR ₁₂ C/R722	3:1	5,7
	CR ₁₂ C/R722	2:1	3,8
	CR ₁₂ C/R722	1:1	1,9
	CR ₁₂ C/R722	1:2	0,9
	CR ₁₂ C/R722	1:3	0,6
	CR ₁₂ C/R722	1:4	0,5
	CR ₁₂ C/R722	1:5	0,4
			17:1

Величина отношения N/P является мерой ионного заряда катионного компонента полимерного носителя или самого полимерного носителя. В случае, когда катионные свойства катионного компонента обусловлены атомами азота, то величина отношения N/P представляет собой отношение содержания основных атомов азота к содержанию фосфатных остатков, с учетом того, что атомы азота придают положительные заряды, а фосфат фосфатного каркаса нуклеиновой кислоты придает отрицательный заряд.

15 Величину N/P предпочтительно рассчитывают с помощью следующей формулы:

$$N / P = \frac{\text{пмоля [РНК]} \cdot \text{отношение катионный AS}}{\text{мкг РНК} \cdot 3 \cdot 1000}$$

20 Например, применяли РНК R722, последовательность которой представлена в SEQ ID NO:385, которая имеет молекулярную массу 186 кДа. Таким образом, 1 мкг РНК R722 соответствует 5,38 пмоля РНК.

5. Трансфекция клеток HepG2 и B16F10:

Получали указанные в примере 4 комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, которые включали 5 мкг мРНК, кодирующую люциферазу (R1180).

Клетки HepG2 или B16F10s (150×10^3 /лунку) высевали за 1 день до трансфекции в 24-луночные титрационные микропланшеты, и они достигали стадии 70% конфлюэнтности ко времени осуществления трансфекции. Для трансфекции смешивали 50 мкл раствора комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, с 250 мкл

30 бессывороточной среды и добавляли к клеткам (конечная концентрация РНК: 13 мкг/мл). Перед добавлением бессывороточного раствора для трансфекции клетки тщательно и осторожно отмывали дважды, используя по 1 мл среды Optimen (фирма Invitrogen) на лунку. Затем добавляли к клеткам раствор для трансфекции (300 мкл на лунку) и клетки инкубировали в течение 4 ч при 37°C. После этого добавляли по 100 мкл на лунку среды

35 RPMI (фирма Camprex), содержащей 10% FCS, и клетки инкубировали в течение еще 20 ч при 37°C. Раствор для трансфекции отсасывали через 24 ч после трансфекции и клетки лизировали в 300 мкл буфера для лизиса (25 мМ Трис-РО₄, 2 мМ ЭДТК, 10% глицерина,

40 1% Тритона-X 100, 2 мМ ДТТ). Затем супернатанты смешивали с буфером для люциферина (25 мМ глицилглицин, 15 мМ MgSO₄, 5 мМ АТФ, 62,5 мкМ люциферин) и оценивали люминесценцию с помощью люменометра (Lumat LB 9507, фирма Berthold Technologies, Бад Вильдбад, Германия).

6. Экспрессия люциферазы *in vivo*:

Получали указанные в примере 3 комплексы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, которые включали 5 мкг мРНК, кодирующую люциферазу (R1180).

Затем объем полученного раствора доводили с помощью лактированного раствора Рингера до конечного объема 100 мкл и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, получая раствор с концентрацией комплексов, содержащих полимерный

носитель и карго-молекулу, равной 0,1 г/л. 100 мкл указанного раствора вводили внутрькожно (в область спины) 7-недельным мышам линии BALB/c. Через 24 ч мышей умерщвляли и получали образцы (кожи со спиной), замораживали при -78°C и лизировали в течение 3 мин при максимальной скорости в устройстве для лизиса тканей (фирма 5 Qiagen, Хильден, Германия). Затем добавляли 600 мкл буфера для лизиса и полученные растворы обрабатывали в течение еще 6 мин при максимальной скорости в устройстве для лизиса тканей. После центрифугирования в течение 10 мин при 13500 об/мин при 10 4°C супернатанты смешивали с буфером для люциферина (25 мМ глицилглицин, 15 мМ MgSO₄, 5 мМ АТФ, 62,5 мКМ люциферин) и оценивали люминесценцию с помощью люменометра (Lumat LB 9507, фирма Berthold Technologies, Бад Вильдбад, Германия).

7. Стимуляция цитокинов в hPBMC:

hPBMC-клетки из периферической крови здоровых доноров выделяли в градиенте Фиколла и затем отмывали 1×3ФР (забуференный фосфатом физиологический раствор).

15 Затем клетки высевали в 96-луночные титрационные микропланшеты (200×10^3 /лунку). Клетки hPBMC инкубировали в течение 24 ч с 10 мкл предлагаемого в изобретении комплекса, содержащего полимерный носитель и карго-молекулу, описанного в примере 4, который содержал в указанном количестве нуклеиновую кислоту в среде X-VIVO 15 (фирма BioWhittaker). Иммуностимулирующее действие оценивали, определяя производство клетками hPBMC цитокина (фактор некроза опухолей альфа и интерферон альфа). Для этой цели титрационные микропланшеты для ELISA (фирма Nunc Maxisorb) инкубировали в течение ночи (о/п) с буфером для связывания (0,02% NaN₃, 15 мМ Na₂CO₃, 15 мМ NaHCO₃, pH 9,7), дополнительно содержащим специфическое в

отношении цитокина антитело. Затем клетки блокировали 1×3ФР, содержащим 1%

25 БСА (бычий сывороточный альбумин). Добавляли супернатантов клеток и инкубировали в течение 4 ч при 37°C. Затем титрационный микропланшет отмывали 1×3ФР, содержащим 0,05% Твин-20, и затем инкубировали с меченым биотином вторичным антителом (фирма BD Pharmingen, Гейдельберг, Германия). В планшет добавляли сашитую со стрептавидином пероксидазу из хрена. Затем планшет вновь отмывали 1×3ФР, 30 содержащим 0,05% Твин-20, и добавляли в качестве субстрата ABTS (2,2'-азинобис(3-этилбензиазолин-6-сульфоновая кислота). Количество цитокинов определяли, измеряя абсорбцию при 405 нм (ОП₄₀₅), используя стандартную кривую для рекомбинантных цитокинов (фирма BD Pharmingen, Гейдельберг, Германия), с помощью ридера для ELISA Sunrise фирма Tecan (Крайльсхайм, Германия).

35 8. Измерение дзета-потенциалов:

Дзета-потенциалы комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, оценивали методом лазерного допплеровского электрофореза, используя устройство Zetasizer Nano (фирма Malvern Instruments, Малверн, Великобритания). Измерения проводили при 25°C и использовали угол рассеяния 173°.

40 9. Стабильность комплексов после лиофилизации

Гидродинамические диаметры комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу, полученные выше, измеряли методом динамического рассеяния света с помощью устройства Zetasizer Nano (фирма Malvern Instruments, Малверн, Великобритания) согласно инструкциям производителя. Измерения осуществляли при 45 25°C в буфере, используя объединенный метод для определения гидродинамических диаметров и коэффициентов полидисперстности комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу. Комpleксы, содержащие полимерный носитель и карго-молекулу, получали согласно примеру 4, и измеряли гидродинамические диаметры

свежеприготовленных комплексов и восстановленных комплексов после лиофилизации.

10. Эксперименты по иммунизации:

Для осуществления иммунизации вакцины на основе белка овальбумина (OVA) (5 мкг) или специфического для овальбумина пептида SIINFEKL (50 мкг) объединяли с 5 предлагаемыми в изобретении комплексами, содержащими полимерный носитель и карго-молекулу, R722/CR₁₂C (в соотношении 2:1 мас/мас) (30 мкг R722/15 мкг CR₁₂C), в качестве адьюванта и инъектировали внутрикожно самкам мышей линии C57BL/6 (7 мышей на группу при заражении опухолями и 5 мышей на группу для определения иммунного ответа). Вакцинацию повторяли 2 раза в течение 2 недель. Для сравнения 10 мышам вводили раствор без предлагаемых в изобретении комплексов, содержащих полимерный носитель и карго-молекулу.

11. Обнаружение антигенспецифического иммунного ответа (В-клеточный иммунный ответ):

Обнаружение антигенспецифического иммунного ответа (В-клеточный иммунный 15 ответ) осуществляли с помощью антигенспецифических антител. Для этой цели получали образцы крови из организма вакцинированных мышей через 5 дней после последней вакцинации и приготавливали образцы сыворотки. MaxiSorb-планшеты (фирма Nalgene Nunc International) сенсибилизировали белком овальбумином из Gallus gallus. После блокады 1×3ФР, содержащим 0,05% Твин-20 и 1% БСА, планшеты инкубировали с 20 разбавленной мышиной сывороткой. Затем добавляли сшитое с биотином вторичное антитело (антимышиный IgG2a, фирма Pharmingen). После отмычки планшеты инкубировали с комплексом пероксидаза из хрена-стрептавдин и затем измеряли превращение ABTS-субстрата (2,2'-азинобис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновая кислота).

25 12. Обнаружение антигенспецифического клеточного иммунного ответа с помощью метода ELISPOT:

Через 5 дней после последней вакцинации мышей умерщвляли, удаляли селезенку и выделяли спленоциты. Для обнаружения INF γ покрытый мультиэкраном

30 (MultiScreen) планшет (фирма Millipore) инкубировали в течение ночи с буфером для сенсибилизации (0,1М карбонатный-бикарбонатный буфер pH 9,6, 10,59 г/л Na₂CO₃, 8,4 г/л NaHCO₃), содержащим антитело к INF γ (фирма BD Pharmingen, Гейдельберг,

Германия). На следующий день добавляли 1×10⁶ клеток/лунку и повторно стимулировали, используя 1 мкг/лунку соответствующего пептида (SIINFEKL 35 овальбумина); несоответствующего пептида (коннексин, представляющий собой контрольный пептид) или буфера без пептида. Затем клетки инкубировали в течение 24 ч при 37°C. На следующий день планшеты трижды отмывали ЗФР, один раз водой и один раз ЗФР/0,05% Твин-20, после чего инкубировали со сшитым с биотином вторичным антителом в течение 11-24 ч при 4°C. Затем планшеты отмывали ЗФР/0,05%

40 Твин-20 и инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре со сшитым со щелочной фосфатазой стрептавдином в блокирующем буфере. После отмычки с помощью ЗФР/0,05% Твин-20 в планшет добавляли в качестве субстрата жидкую систему (5-бром-4-хлор-3-индолилфофат /нитроголубой тетразолий) фирмы Sigma Aldrich, Тауфкирхен, Германия) и визуально оценивали превращение субстрата. После 45 этого реакцию прекращали, отмывая планшет водой. Затем высушенные планшеты считывали с помощью планшет-ридера для ELISPOT. Для визуализации уровней в точках полученные значения корректировали, вычитая фоновый уровень.

13. Заражение опухолями:

Через 1 неделю после последней вакцинации вакцинированным мышам имплантировали подкожно по 1×10^6 клеток E.G7-OVA (опухолевые клетки, стабильно экспрессирующие овальбумин). Осуществляли мониторинг роста, измеряя размер опухолей в трех направлениях с помощью кронциркуля.

5

Формула изобретения

1. Комплекс для применения в способе адьювантной терапии у нуждающегося в таком лечении пациента, содержащий:

а) полимерный носитель, образованный из поперечно сшитых дисульфидными

10 связями катионных компонентов, где поперечно сшитыми дисульфидными связями катионными компонентами являются катионные пептиды, причем указанные дисульфидные связи образованы остатками цистеина, входящими в состав катионных пептидов, которые локализованы вблизи терминальных концов катионных пептидов, и

15 б) карго молекулу, представляющую собой по меньшей мере одну одноцепочечную молекулу РНК.

2. Комплекс по п. 1, в котором по меньшей мере одна молекула РНК представляет собой иммуностимулирующую РНК (isРНК) или мРНК.

3. Комплекс по п. 1 или 2, в котором величина отношения азот/fosфат (N/P) в 20 катионных компонентах и по меньшей мере в одной молекуле РНК находится в пределах 0,1-20 или в пределах 0,1-5, или в пределах 0,1-1.

4. Комплекс по п. 1 или 2, в котором поперечно сшитые дисульфидными связями катионные пептиды дополнительно содержат функциональные пептиды или белки.

5. Комплекс по п. 4, в котором функциональные пептиды или белки представляют собой пептидные или белковые антигены или эпитопы антигенов.

6. Комплекс по п. 1, в котором полимерный носитель дополнительно содержит лиганд.

7. Комплекс по п. 6, в котором лиганд представляет собой маннозу.

8. Комплекс по п. 7, в котором катионные пептиды выбраны из пептидов формулы 30 (I)

$(\text{Arg})_1; (\text{Lys})_m; (\text{His})_n; (\text{Orn})_o; (\text{Xaa})_x,$

в которой

$1+m+n+o+x=3-100$ и

35 1, m, n или o каждый независимо друг от друга обозначает любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90 и 91-100, при условии, что общее содержание Arg, Lys, His и Orn составляет по меньшей мере 10% от всех аминокислот катионного пептида; и Xaa обозначает любую аминокислоту, выбранную из нативных (т.е. встречающихся в естественных условиях) или не встречающихся в естественных условиях аминокислот 40 за исключением Arg, Lys, His или Orn; и

х обозначает любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90, при условии, что общее содержание Xaa не превышает 90% от всех аминокислот катионного пептида,

или выбраны из пептидов подформулы (Ia)

45 $\{(\text{Arg})_1; (\text{Lys})_m; (\text{His})_n; (\text{Orn})_o; (\text{Xaa}')_x (\text{Cys})_y\}$

или из пептидов подформулы (Ib)

$\text{Cys}_1 \{(\text{Arg})_1; (\text{Lys})_m; (\text{His})_n; (\text{Orn})_o; (\text{Xaa})_x\} \text{Cys}_2,$

в которых $(\text{Arg})_1; (\text{Lys})_m; (\text{His})_n; (\text{Orn})_o$; и x имеют указанные выше значения; Xaa' обозначает любую аминокислоту, выбранную из нативных (т.е. встречающихся в естественных условиях) или не встречающихся в естественных условиях аминокислот за исключением Arg, Lys, His, Orn или Cys, у обозначает любое число, выбранное из 0, 5 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 10 71-80 и 81-90, при условии, что общее содержание Arg (аргинин), Lys (лизин), His (гистидин) и Orn (орнитин) составляет по меньшей мере 10% от всех аминокислот олигопептида, и в которых Cys_1 и Cys_2 представляют собой остатки цистеина, расположенные проксимально или терминально относительно $(\text{Arg})_1; (\text{Lys})_m; (\text{His})_n; (\text{Orn})_o; (\text{Xaa})_x$.

9. Комплекс по п. 1, в котором остаток цистеина находится на концах катионных пептидов.

10 15 10. Вакцина для стимуляции иммунного ответа, которая включает комплекс по любому из пп. 1-9 и антиген.

20

25

30

35

40

45

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> КУРЕВАК ГМБХ

<120> Получение комплексов нуклеиновых кислот и поперечно сшитых дисульфидными связями катионных полимеров, предназначенных для трансфекции и иммуностимуляции

<130> CU01P094WO

<160> 387

<170> PatentIn, версия 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид формулы (Ib) : Cys { (Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x } Cys

<400> 1

Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys

1 5

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности: катионный или поликатионный пептид формулы (Ib) : Cys { (Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x } Cys

<400> 2

Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys

1 5 10

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид формулы (Ib) : Cys { (Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x } Cys

<400> 3

Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys
1 5 10

<210> 4

<211> 12

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x} Cys

<400> 4

Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys
1 5 10

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x} Cys

<400> 5

Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys
1 5 10

<210> 6

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x} Cys

<400> 6

Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Cys
1 5 10

<210> 7
<211> 15
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)l;(Lys)m;(His)n;(Orn)o;(Xaa)x} Cys

<400> 7

Cys	Arg	Cys											
1													15

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)l;(Lys)m;(His)n;(Orn)o;(Xaa)x} Cys

<400> 8

Cys	Arg	Cys										
1												15

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)l;(Lys)m;(His)n;(Orn)o;(Xaa)x} Cys

<400> 9

Cys	Arg											
1												15

Cys

<210> 10
<211> 18
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид формулы (Ib): Cys { (Arg)_l; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x } Cys

<400> 10

Arg Cys

<210> 11

<211> 19

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид формулы (Ib): Cys { (Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x } Cys

<400> 11

Arg Arg Cys

<210> 12

<211> 20

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys { (Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x } Cys

<400> 12

Arg Arg Arg Cys

20

<210> 13
<211> 21
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x} Cys

<400> 13

Arg Arg Arg Arg Cys
20

<210> 14
<211> 22
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : катионный или поликатионный пептид
формулы (Ib): Cys {(Arg)₁; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x} Cys

<400> 14

Cys Arg
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg Arg Cys
20

<210> 15
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 15

Trp Tyr
1

<210> 16
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 16

Tyr Trp
1

<210> 17
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 17

Trp Trp
1

<210> 18
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 18

Tyr Tyr
1

<210> 19
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 19

Trp Tyr Trp
1

<210> 20
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 20

Tyr Trp Tyr
1

<210> 21
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 21

Trp Trp Trp
1

<210> 22
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 22

Tyr Tyr Tyr
1

<210> 23
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 23

Trp Tyr Trp Tyr

1

<210> 24

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 24

Tyr Trp Tyr Trp

1

<210> 25

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 25

Trp Trp Trp Trp

1

<210> 26

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 26

Phe Tyr

1

<210> 27
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 27

Tyr Phe
1

<210> 28
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 28

Phe Phe
1

<210> 29
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 29

Phe Tyr Phe
1

<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 30

Tyr Phe Tyr

1

<210> 31

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 31

Phe Phe Phe

1

<210> 32

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 32

Phe Tyr Phe Tyr

1

<210> 33

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 33

Tyr Phe Tyr Phe

1

<210> 34

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 34

Phe Phe Phe Phe

1

<210> 35

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 35

Phe Trp

1

<210> 36

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 36

Trp Phe

1

<210> 37

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 37

Phe Phe

1

<210> 38

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 38

Phe Trp Phe

1

<210> 39

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 39

Trp Phe Trp

1

<210> 40

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 40

Phe Trp Phe Trp

1

<210> 41

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 41

Trp Phe Trp Phe

1

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 42

Tyr Tyr Tyr Tyr
1

<210> 43
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 43

Cys Tyr Cys
1

<210> 44
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 44

Cys Trp Cys
1

<210> 45
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 45

Cys Trp Tyr Cys
1

<210> 46
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 46

Cys Tyr Trp Cys
1

<210> 47
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 47

Cys Trp Trp Cys
1

<210> 48
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 48

Cys Tyr Tyr Cys
1

<210> 49
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 49

Cys Trp Tyr Trp Cys
1 5

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 50

Cys Tyr Trp Tyr Cys
1 5

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 51

Cys Trp Trp Trp Cys
1 5

<210> 52

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 52

Cys Tyr Tyr Tyr Cys
1 5

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 53

Cys Trp Tyr Trp Tyr Cys

1 5

<210> 54

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 54

Cys Tyr Trp Tyr Trp Cys

1 5

<210> 55

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 55

Cys Trp Trp Trp Trp Cys

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 56

Cys Tyr Tyr Tyr Tyr Cys
1 5

<210> 57
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 57

Cys Phe Cys
1

<210> 58
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 58

Cys Phe Tyr Cys
1

<210> 59
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 59

Cys Tyr Phe Cys
1

<210> 60
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 60

Cys Phe Phe Cys
1

<210> 61

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 61

Cys Tyr Tyr Cys
1

<210> 62

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 62

Cys Phe Tyr Phe Cys
1 5

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 63

Cys Tyr Phe Tyr Cys
1 5

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 64

Cys Phe Phe Phe Cys

1 5

<210> 65

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 65

Cys Tyr Tyr Tyr Cys

1 5

<210> 66

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 66

Cys Phe Tyr Phe Tyr Cys

1 5

<210> 67

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 67

Cys Tyr Phe Tyr Phe

1 5

<210> 68
<211> 6
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 68

Cys Phe Phe Phe Phe Cys
1 5

<210> 69
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 69

Cys Phe Trp Cys
1

<210> 70
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 70

Cys Trp Phe Cys
1

<210> 71
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 71

Cys Phe Phe Cys

1

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 72

Cys Phe Trp Phe Cys

1

5

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 73

Cys Trp Phe Trp Cys

1

5

<210> 74

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 74

Cys Phe Trp Phe Trp Cys

1

5

<210> 75

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример ароматического аминокислотного компонента (АК)

<400> 75

Cys Trp Phe Trp Phe Cys

1 5

<210> 76

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 76

Ser Thr

1

<210> 77

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 77

Thr Ser

1

<210> 78

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 78

Ser Ser

1

<210> 79

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 79

Thr Thr

1

<210> 80

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 80

Ser Thr Ser

1

<210> 81

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 81

Thr Ser Thr

1

<210> 82
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 82

Ser Ser Ser
1

<210> 83
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 83

Thr Thr Thr
1

<210> 84
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 84

Ser Thr Ser Thr
1

<210> 85
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 85

Thr Ser Thr Ser

1

<210> 86

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 86

Ser Ser Ser Ser

1

<210> 87

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 87

Thr Thr Thr Thr

1

<210> 88

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 88

Gln Asn

1

<210> 89

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 89

Asn Gln

1

<210> 90

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 90

Gln Gln

1

<210> 91

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 91

Asn Asn

1

<210> 92
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 92

Gln Asn Gln
1

<210> 93
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 93

Asn Gln Asn
1

<210> 94
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 94

Gln Gln Gln
1

<210> 95

<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 95

Asn Asn Asn
1

<210> 96
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 96

Gln Asn Gln Asn
1

<210> 97
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 97

Asn Gln Asn Gln
1

<210> 98
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 98

Gln Gln Gln Gln

1

<210> 99

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 99

Asn Asn Asn Asn

1

<210> 100

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 100

Ser Asn

1

<210> 101

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 101

Asn Ser

1

<210> 102

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 102

Ser Ser

1

<210> 103

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 103

Asn Asn

1

<210> 104

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 104

Ser Asn Ser

1

<210> 105
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 105

Asn Ser Asn
1

<210> 106
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 106

Ser Ser Ser
1

<210> 107
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 107

Asn Asn Asn
1

<210> 108

<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 108

Ser Asn Ser Asn
1

<210> 109
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 109

Asn Ser Asn Ser
1

<210> 110
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 110

Ser Ser Ser Ser
1

<210> 111
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 111

Asn Asn Asn Asn

1

<210> 112

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 112

Cys Thr Cys

1

<210> 113

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 113

Cys Ser Cys

1

<210> 114

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 114

Cys Ser Thr Cys

1

<210> 115

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 115

Cys Thr Ser Cys

1

<210> 116

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 116

Cys Ser Ser Cys

1

<210> 117

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 117

Cys Thr Thr Cys

1

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 118

Cys Ser Thr Ser Cys
1 5

<210> 119
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 119

Cys Thr Ser Thr Cys
1 5

<210> 120
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 120

Cys Ser Ser Ser Cys
1 5

<210> 121
<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 121

Cys Thr Thr Thr Cys

1

5

<210> 122

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 122

Cys Ser Thr Ser Thr Cys

1

5

<210> 123

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 123

Cys Thr Ser Thr Ser Cys

1

5

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 124

Cys Ser Ser Ser Ser Cys
1 5

<210> 125

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 125

Cys Thr Thr Thr Thr Cys
1 5

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 126

Cys Asn Cys
1

<210> 127

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 127

Gln Cys Gln

1

<210> 128

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 128

Cys Gln Asn Cys

1

<210> 129

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 129

Cys Asn Gln Cys

1

<210> 130

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (AK)

<400> 130

Cys Gln Gln Cys

1

<210> 131
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 131

Cys Asn Asn Cys
1

<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 132

Cys Gln Asn Gln Cys
1 5

<210> 133
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 133

Cys Asn Gln Asn Cys
1 5

<210> 134
<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 134

Cys Gln Gln Gln Cys
1 5

<210> 135

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 135

Cys Asn Asn Asn Cys
1 5

<210> 136

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 136

Cys Gln Asn Gln Asn Cys
1 5

<210> 137

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 137

Cys Asn Gln Asn Gln Cys
1 5

<210> 138

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 138

Cys Gln Gln Gln Gln Cys
1 5

<210> 139

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 139

Cys Asn Asn Asn Asn Cys
1 5

<210> 140

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 140

Cys Asn Cys

1

<210> 141

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 141

Cys Ser Cys

1

<210> 142

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 142

Cys Ser Asn Cys

1

<210> 143

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 143

Cys Asn Ser Cys

1

<210> 144
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 144

Cys Ser Ser Cys
1

<210> 145
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 145

Cys Asn Asn Cys
1

<210> 146
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 146

Cys Ser Asn Ser Cys
1 5

<210> 147
<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 147

Cys Asn Ser Asn Cys

1 5

<210> 148

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 148

Cys Ser Ser Ser Cys

1 5

<210> 149

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 149

Cys Asn Asn Asn Cys

1 5

<210> 150

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 150

Cys Ser Asn Ser Asn Cys
1 5

<210> 151

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 151

Cys Asn Ser Asn Ser Cys
1 5

<210> 152

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 152

Cys Ser Ser Ser Ser Cys
1 5

<210> 153

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример гидрофильного (и предпочтительно незаряженного полярного) аминокислотного компонента (АК)

<400> 153

Cys Asn Asn Asn Asn Cys
1 5

<210> 154

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 154

Leu Val

1

<210> 155

<211> 1

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 155

Leu

1

<210> 156

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 156

Leu Leu

1

<210> 157

<211> 0

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 157

000

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 158

Leu Val Leu

1

<210> 159

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 159

Val Leu Val

1

<210> 160

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 160

Leu Leu Leu

1

<210> 161

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 161

Val Val Val

1

<210> 162

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 162

Leu Val Leu Val

1

<210> 163

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 163

Val Leu Val Leu

1

<210> 164

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 164

Leu Leu Leu Leu

1

<210> 165
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 165

Val Val Val Val
1

<210> 166
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 166

Ile Ala
1

<210> 167
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 167

Ala Ile
1

<210> 168
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 168

Ile Ile

1

<210> 169

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 169

Ala Ala

1

<210> 170

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 170

Ile Ala Ile

1

<210> 171

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 171

Ala Ile Ala

1

<210> 172

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 172

Ile Ile Ile
1

<210> 173

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 173

Ala Ala Ala
1

<210> 174

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 174

Ile Ala Ile Ala
1

<210> 175

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 175

Ala Ile Ala Ile
1

<210> 176

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 176

Ile Ile Ile Ile

1

<210> 177

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 177

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 178

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 178

Met Ala

1

<210> 179

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 179

Ala Met

1

<210> 180
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 180

Met Met
1

<210> 181
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 181

Ala Ala
1

<210> 182
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 182

Met Ala Met
1

<210> 183
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 183

Ala Met Ala

1

<210> 184

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 184

Met Met Met

1

<210> 185

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 185

Ala Ala Ala

1

<210> 186

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 186

Met Ala Met Ala

1

<210> 187

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 187

Ala Met Ala Met

1

<210> 188

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 188

Met Met Met Met

1

<210> 189

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 189

Cys Val Cys

1

<210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 190

Cys Leu Cys

1

<210> 191
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 191

Cys Leu Val Cys
1

<210> 192
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 192

Cys Val Leu Cys
1

<210> 193
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 193

Cys Leu Leu Cys
1

<210> 194
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 194

Cys Val Val Cys

1

<210> 195

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 195

Cys Leu Val Leu Cys

1 5

<210> 196

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 196

Cys Val Leu Val Cys

1 5

<210> 197

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 197

Cys Leu Leu Leu Cys

1 5

<210> 198

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 198

Cys Val Val Val Cys
1 5

<210> 199

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 199

Cys Leu Val Leu Val Cys
1 5

<210> 200

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 200

Cys Val Leu Val Leu Cys
1 5

<210> 201

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 201

Cys Leu Leu Leu Leu Cys
1 5

<210> 202

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 202

Cys Val Val Val Val Cys

1 5

<210> 203

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 203

Cys Ala Cys

1

<210> 204

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 204

Cys Ile Cys

1

<210> 205

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 205

Cys Ile Ala Cys

1

<210> 206
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 206

Cys Ala Ile Cys
1

<210> 207
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 207

Cys Ile Ile Cys
1

<210> 208
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 208

Cys Ala Ala Cys
1

<210> 209
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 209

Cys Ile Ala Ile Cys
1 5

<210> 210

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 210

Cys Ala Ile Ala Cys
1 5

<210> 211

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 211

Cys Ile Ile Ile Cys
1 5

<210> 212

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 212

Cys Ala Ala Ala Cys
1 5

<210> 213

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 213

Cys Ile Ala Ile Ala Cys

1 5

<210> 214

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 214

Cys Ala Ile Ala Ile Cys

1 5

<210> 215

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 215

Cys Ile Ile Ile Ile Cys

1 5

<210> 216

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 216

Cys Ala Ala Ala Ala Cys

1 5

<210> 217
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 217

Cys Met Cys
1

<210> 218
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 218

Cys Met Ala Cys
1

<210> 219
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 219

Cys Ala Met Cys
1

<210> 220
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 220

Cys Met Met Cys

1

<210> 221

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 221

Cys Ala Ala Cys

1

<210> 222

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 222

Cys Met Ala Met Cys

1 5

<210> 223

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 223

Cys Ala Met Ala Cys

1 5

<210> 224

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 224

Cys Met Met Met Cys
1 5

<210> 225

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 225

Cys Ala Ala Ala Cys
1 5

<210> 226

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 226

Cys Met Ala Met Ala Cys
1 5

<210> 227

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 227

Cys Ala Met Ala Met Cys
1 5

<210> 228

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 228

Cys Met Met Met Met Cys

1 5

<210> 229

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример липофильного аминокислотного компонента (АК)

<400> 229

Cys Ala Ala Ala Ala Cys

1 5

<210> 230

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 230

Asp His

1

<210> 231

<211> 2

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 231

His Asp

1

<210> 232
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 232

Asp Asp
1

<210> 233
<211> 2
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 233

His His
1

<210> 234
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 234

Asp His Asp
1

<210> 235
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 235

His Asp His

1

<210> 236

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 236

Asp Asp Asp

1

<210> 237

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 237

His His His

1

<210> 238

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 238

Asp His Asp His

1

<210> 239

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 239

His Asp His Asp

1

<210> 240

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 240

Asp Asp Asp Asp

1

<210> 241

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 241

His His His His

1

<210> 242

<211> 3

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 242

Cys His Cys

1

<210> 243
<211> 3
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 243

Cys Asp Cys
1

<210> 244
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 244

Cys Asp His Cys
1

<210> 245
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 245

Cys His Asp Cys
1

<210> 246
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 246

Cys Asp Asp Cys

1

<210> 247

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 247

Cys His His Cys

1

<210> 248

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 248

Cys Asp His Asp Cys

1

5

<210> 249

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 249

Cys His Asp His Cys

1

5

<210> 250

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 250

Cys Asp Asp Asp Cys
1 5

<210> 251

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 251

Cys His His His Cys
1 5

<210> 252

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 252

Cys Asp His Asp His Cys
1 5

<210> 253

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 253

Cys His Asp His Asp Cys
1 5

<210> 254

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 254

Cys Asp Asp Asp Asp Cys

1 5

<210> 255

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Пример слабооснбвного аминокислотного компонента (АК)

<400> 255

Cys His His His His Cys

1 5

<210> 256

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 256

Lys Asp Glu Leu

1

<210> 257

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 257

Asp Asp Glu Leu

1

<210> 258
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации <400>
258

Asp Glu Glu Leu
1

<210> 259
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 259

Gln Glu Asp Leu
1

<210> 260
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации <400>
260

Arg Asp Glu Leu
1

<210> 261
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 261

Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn
1 5

<210> 262

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 262

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
1 5

<210> 263

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 263

Pro Gln Lys Lys Ile Lys Ser
1 5

<210> 264

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 264

Gln Pro Lys Lys Pro
1 5

<210> 265
<211> 4
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 265

Arg Lys Lys Arg
1

<210> 266
<211> 12
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 266

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala His Gln
1 5 10

<210> 267
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 267

Arg Gln Ala Arg Arg Asn Arg Arg Arg Trp Arg Glu Arg Gln Arg
1 5 10 15

<210> 268
<211> 19
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 268

Met	Pro	Leu	Thr	Arg	Arg	Arg	Pro	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Leu	Ala	Pro
1				5						10					15

Pro Thr Pro

<210> 269

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации <400>
269

Gly	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Leu	Val
1				5			

<210> 270

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 270

Gly	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Leu	Gly
1				5			

<210> 271

<211> 15

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или
последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 271

Met Asp Asp Gln Arg Asp Leu Ile Ser Asn Asn Glu Gln Leu Pro		
1	5	10
		15

<210> 272

<211> 32

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(8)

<223> Хаа может обозначать любую встречающуюся в естественных условиях аминокислоту

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Хаа может обозначать любую встречающуюся в естественных условиях аминокислоту

<400> 272

Met Leu Phe Asn Leu Arg Xaa Xaa Leu Asn Asn Ala Ala Phe Arg His		
1	5	10
		15

Gly His Asn Phe Met Val Arg Asn Phe Arg Cys Gly Gln Pro Leu Xaa		
20	25	30

<210> 273

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 273

Gly Cys Val Cys Ser Ser Asn Pro		
1	5	

<210> 274
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 274

Gly Gln Thr Val Thr Thr Pro Leu
1 5

<210> 275
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 275

Gly Gln Glu Leu Ser Gln His Glu
1 5

<210> 276
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 276

Gly Asn Ser Pro Ser Tyr Asn Pro
1 5

<210> 277
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 277

Gly Val Ser Gly Ser Lys Gly Gln
1 5

<210> 278
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 278

Gly Gln Thr Ile Thr Thr Pro Leu
1 5

<210> 279
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 279

Gly Gln Thr Leu Thr Thr Pro Leu
1 5

<210> 280
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 280

Gly Gln Ile Phe Ser Arg Ser Ala
1 5

<210> 281
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 281

Gly Gln Ile His Gly Leu Ser Pro
1 5

<210> 282
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 282

Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser
1 5

<210> 283
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации
<400> 283

Gly Cys Thr Leu Ser Ala Glu Glu
1 5

<210> 284
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 284

Gly Ala Gln Val Ser Ser Gln Lys
1 5

<210> 285

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 285

Gly Ala Gln Leu Ser Arg Asn Thr
1 5

<210> 286

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 286

Gly Asn Ala Ala Ala Ala Lys Lys
1 5

<210> 287

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 287

Gly Asn Glu Ala Ser Tyr Pro Leu

1

5

<210> 288

<211> 8

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание последовательности : сигнальный пептид, сигнал или последовательность локализации или сигнал ядерной локализации

<400> 288

Gly Ser Ser Lys Ser Lys Pro Lys

1

5

<210> 289

<211> 20

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 289

gguiiiiiiiii uiuiuiuiugggg

20

<210> 290

<211> 20

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 290

gggggguiiiii uiuiuiuggggg

20

<210> 291

<211> 40

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 291	gggggииииии иииииииии иииииииии ииииииууууу	40
<210> 292		
<211> 39		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 292	гуууууууууу гииииииии ииииииииуууу иуууууууу	39
<210> 293		
<211> 39		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 293	гиииииуууу иииииииии ииииииииуууу иуууууууу	39
<210> 294		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 294	гуууууууууу гииииииии ииииииииуууу иуууууууу	20
<210> 295		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 295	гуууууууууу гииииииии ииииииииуууу иуууууууу	20

<210> 296		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 296		
gggggggguiiiii uuuuuggggggg		20
<210> 297		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 297		
gggggggguiiiii uuuuuggggggg		20
<210> 298		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 298		
gggggggguiiiii uuuuuggggggg		20
<210> 299		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 299		
gggggggguiiiii uuuuuggggggg		20
<210> 300		
<211> 20		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		

<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	300	
	ggggggiiiiii uiuiuiuugggg	20
<210>	301	
<211>	20	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	301	
	ggggggiiiiii uiuiuiuugggg	20
<210>	302	
<211>	20	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	302	
	ggggggiiiiii uiuiuiuugggg	20
<210>	303	
<211>	20	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	303	
	ggggggiiiiii uiuiuiuugggg	20
<210>	304	
<211>	20	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	

<p><400> 304 гддииииии ииииииииуу 20</p> <p><210> 305 <211> 20 <212> РНК <213> Искусственная последовательность</p> <p><220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)</p> <p><400> 305 гддииииии ииииииииуу 20</p> <p><210> 306 <211> 20 <212> РНК <213> Искусственная последовательность</p> <p><220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)</p> <p><400> 306 гииииииии ииииииииуу 20</p> <p><210> 307 <211> 22 <212> РНК <213> Искусственная последовательность</p> <p><220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)</p> <p><400> 307 гггггггггггг гиииуууууууууууу 22</p> <p><210> 308 <211> 22 <212> РНК <213> Искусственная последовательность</p> <p><220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)</p> <p><400> 308 гггггггггггг гиииуууууууууууу 22</p>	
--	--

<210> 309		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 309		
ggggggggggиии иииииgggggg gg		22
<210> 310		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 310		
ggggggggggиии иииииgggggg gg		22
<210> 311		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 311		
ggggggggggиии иииииgggggg gg		22
<210> 312		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 312		
ggggggggggиии иииииgggggg gg		22
<210> 313		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 313

gggggggguiiiii uuuuuuuuuggg gg

22

<210> 314

<211> 22

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 314

gggggggguiiiii uuuuuuuuuggg gg

22

<210> 315

<211> 22

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 315

gggggggguiiiii uuuuuuuuuggg gg

22

<210> 316

<211> 22

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 316

gggggggguiiiii uuuuuuuuuggg gg

22

<210> 317

<211> 22

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 317	ggggggiiiiii uuuuuuuuuuug gg	22
<210> 318		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 318		
ggggiiiiiiii uuuuuuuuuuug gg		22
<210> 319		
<211> 22		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 319		
ggggiiiiiiii uuuuuuuuuuug gg		22
<210> 320		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 320		
ggggggggggggg guuuuggggggg gggg		24
<210> 321		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 321		
ggggggggggggg uuuuuggggggg gggg		24

<210> 322		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 322		
ggggggggggui iiiiuiiigggg gggg		24
<210> 323		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 323		
ggggggggggui iiiiuiiigggg gggg		24
<210> 324		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 324		
ggggggggggui iiiiuiiigggg gggg		24
<210> 325		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 325		
ggggggggggui iiiiuiiiuiiigggg gggg		24
<210> 326		
<211> 24		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 326
 ggggggggиии ииииииииugg gggg

24

<210> 327
 <211> 24
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 327
 ggggggggиии ииииииииugg gggg

24

<210> 328
 <211> 24
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 328
 ggggggggиии ииииииииug gggg

24

<210> 329
 <211> 24
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 329
 gggggggиии ииииииииug gggg

24

<210> 330
 <211> 24
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 330
ggggggggiiiiii iiuiuiuiuiiiii ggggg

24

<210> 331
<211> 24
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 331
ggggiiiiiiii iiuiuiuiuiiiii ggggg

24

<210> 332
<211> 24
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 332
ggggiiiiiiii iiuiuiuiuiiiii ugggg

24

<210> 333
<211> 32
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 333
uiiiiiiiiiii uiuiuiuiuiii uiuiuiuiuiii ug

32

<210> 334
<211> 34
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 334
gguiuiuiuiii uiuiuiuiuiii uiuiuiuiuiii uiugg

34

<210>	335	
<211>	36	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	335	
	gggиииииии ииииииииии ииииииииии иииииggg	36
<210>	336	
<211>	37	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	336	
	gggиииииии ииииииииии ииииииииии иииииggg	37
<210>	337	
<211>	39	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	337	
	ggggиииииии ииииииииии ииииииииии иииииuggg	39
<210>	338	
<211>	41	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	338	
	ggggиииииии ииииииииии ииииииииии иииииииuggg 9	41
<210>	339	
<211>	43	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	

<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	339	
gggggggguuuu uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuggg ggg		43
<210>	340	
<211>	45	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	340	
ggggggggddii uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuugg ggggg		45
<210>	341	
<211>	47	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	341	
gggggggggggi uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuug gggggggg		47
<210>	342	
<211>	7	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	342	
gguuuugg		7
<210>	343	
<211>	8	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	

<400> 343

gguiiiuugg

8

<210> 344

<211> 9

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 344

gguiiiuugg

9

<210> 345

<211> 10

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 345

gguiiiuugg

10

<210> 346

<211> 11

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 346

gguiiiuugg

11

<210> 347

<211> 12

<212> РНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 347

gguiiiuugg

12

<210> 348
<211> 13
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 348
гдиииииии иgg 13

<210> 349
<211> 14
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 349
гдиииииии ииugg 14

<210> 350
<211> 15
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 350
гдиииииии иииugg 15

<210> 351
<211> 16
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 351
гдиииииии иииugg 16

<210> 352
<211> 17
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 352
 гдииииииии иииииugg

17

<210> 353
 <211> 18
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 353
 гдииииииии иииииugg

18

<210> 354
 <211> 19
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

 <400> 354
 гдииииииии иииииugg

19

<210> 355
 <211> 9
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 355
 ггииииugg

9

<210> 356
 <211> 10
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> нуклеотидная последовательность формулы (II)

<400> 356	
ggggiiiiuuuggg	10
<210> 357	
<211> 11	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400> 357	
ggggiiiiuuugg g	11
<210> 358	
<211> 12	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400> 358	
ggggiiiiuuugg gg	12
<210> 359	
<211> 13	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400> 359	
ggggiiiiuuugg ggg	13
<210> 360	
<211> 14	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400> 360	
ggggiiiiuuugg ugggg	14

<210> 361		
<211> 15		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 361		
gggиииииии ииuggg		15
<210> 362		
<211> 16		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 362		
gggиииииии иииuggg		16
<210> 363		
<211> 17		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 363		
gggиииииии иииииuggg		17
<210> 364		
<211> 18		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> нуклеотидная последовательность формулы (II)		
<400> 364		
gggиииииии иииииuggg		18
<210> 365		
<211> 19		
<212> РНК		
<213> Искусственная последовательность		

<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	365	
	ggggiiiiiiii uiuiuiiuggg	19
<210>	366	
<211>	57	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	366	
	ggggiiiiiiii uiuiuiiuggg gggggiiiiiiii uiuiuiiuggg uiuiuiiuiii uiuiiuggg	57
<210>	367	
<211>	42	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II)	
<400>	367	
	ggggiiiiiiii uiuiuiiuggg gggggiiiiiiii uiuiuiiuiiug gg	42
<210>	368	
<211>	51	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (III)	
<400>	368	
	ggggiiiiuggg uiugggiiuggg gggggiiiiiii gggggiiiiuggg uiugggiiuggg g	51
<210>	369	
<211>	20	
<212>	РНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (II) - Short GU rich	

<400> 369 гдиииииии ииииииииggg	20
<210> 370 <211> 57 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (III)	
<400> 370 сccиииииии иииииииисс сиииииииии иииииииссси ииииииииии ииииссс	57
<210> 371 <211> 51 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (III)	
<400> 371 сccииииссси иисссиииссс сииисссиии сссииииссси иисссиииссс с	51
<210> 372 <211> 42 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (III)	
<400> 372 сccиииииии иииииииисс сссиииииии ииииииииииссс с	42
<210> 373 <211> 60 <212> РНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> нуклеотидная последовательность формулы (IV)	
<400> 373 иаацдааацси сиуggaccua гдиииииии ииииииииggg игсдиисссua гаагуасасг	60

<210>	374					
<211>	120					
<212>	РНК					
<213>	Искусственная последовательность					
<220>						
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (IV)					
<400>	374					
uaagcdaaacsu	cuuggaccua	gguiiiiiiiii	uiiiiiiiuggg	ugcguuccua	gaaguacacsg	60
aucgsuuicga	gaaccuggau	ccaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaccc	acgcaaggau	ciucauugsc	120
<210>	375					
<211>	229					
<212>	РНК					
<213>	Искусственная последовательность					
<220>						
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (IV)					
<400>	375					
gggagaaaagc	ucaagcuiugg	agcaauggccc	gcacauugag	gaaaccgagu	ugcauaucsuc	60
agaguauuugg	cccccgugua	gguiuaucsuii	gacagacagu	ggagcuiuauii	cacucccagg	120
auccgagucg	cauacuacgg	uacuggugac	agaccauaggu	cgucaguuga	ccaguccgccc	180
acuagacgug	aguccgucaa	agcaguuaaga	uguuacacusc	uaauagauuc		229
<210>	376					
<211>	547					
<212>	РНК					
<213>	Искусственная последовательность					
<220>						
<223>	нуклеотидная последовательность формулы (IV)					
<400>	376					
gggagaaaagc	ucaagcuiugg	agcaauggccc	gcacauugag	gaaaccgagu	ugcauaucsuc	60
agaguauuugg	cccccgugua	gguiuaucsuii	gacagacagu	ggagcuiuauii	cacucccagg	120
auccgagucg	cauacuacgg	uacuggugac	agaccauaggu	cgucaguuga	ccaguccgccc	180
acuagacgug	aguccgucaa	agcaguuaaga	uguuacacusc	uaauagauuc	cggaauacag	240
cuggaaggag	caggaguagu	guuucsugcuc	uaaguaccga	gugugcccaa	uacccgauca	300
gcuiuaaiaac	gaacggcucc	uccsucuuaga	cugcagcguua	agugcgaaau	cuggggauca	360

aauuacugac ugccuggauu acccucggac auauaaccuu guagcacgcu guugcuguaau	420
aggugaccaa cgcccacucg aguagaccag cucucuuagu ccggacaaug auaggaggcg	480
cggucaaucu acuucuggcu aguuuagaau aggugcacc gaccucuaaua aguagcgugu	540
ccucuuag	547
<210> 377	
<211> 1083	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (IV)	
<400> 377	
gggagaaaagc ucaagcuugg agcaaugccc gcacauugag gaaaccgagu ugcauaucuc	60
agaguauugg cccccgugua gguuaauucuu gacagacagu ggagcuaauu cacucccagg	120
auccgagucg cauacuacgg uacuggugac agaccuaggu cgucaguuga ccaguccgccc	180
acuagacgug aguccgucaa agcaguaga uguuacacuc uauuagaucu cgauuacag	240
cuggaaggag caggaguagu guucuugcuc uaaguaccga gugugcccaa uacccgauca	300
gcuuauuaac gaacggcucc uccucuuaga cugcagcgua agugcgaaau cugggauca	360
aauuacugac ugccuggauu acccucggac auauaaccuu guagcacgcu guugcuguaau	420
aggugaccaa cgcccacucg aguagaccag cucucuuagu ccggacaaug auaggaggcg	480
cggucaaucu acuucuggcu aguuuagaau aggugcacc gaccucuaaua aguagcgugu	540
ccucuuagagc uacgcagguu cgcaauaaaa gcuugauua gugugcauag aacagaccuc	600
uuauuucggug aaacgccaga augcuuauu ccaauaacuc uuuccaaaac gcguacggcc	660
gaagacgcgc gcuuauuuug uguacguucu cgacauugga agaucagcg ggcauggugg	720
uagggcaaua ggggagcugg guagcagcga aaaaggccc cugcgcacgu agcuiucgcug	780
uucgucugaa acaacccggc auccguugua gcgaucggc uaucaguguu auucuugugc	840
gcacuaagau ucauggugua gucgacaaua acagcgucuu ggcaugcggc ggucacgugc	900
ccuaugcccg ggcuugugcc ucucaggugc acagcgauac uuuaagccuu caagguacuc	960
gacgugggua ccgauucgug acaciuuccua agauuauucc acuguguuag ccccgacccg	1020

ccgaccuaaa cugguccaaau guauacgcau ucgcugagcg gaucgauaaau aaaagcuuga	1080
aauu	1083
<210> 378	
<211> 229	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (IV)	
<400> 378	
gggagaaagc ucaagcuaau ccaaguaggc ugguccaccug uacaacguag ccgguauiii	60
uiiiiiiiiiiiii uiuiuiuiiuga ccgucucaag guccaaguua gucugccuaau aaaggugcgg	120
auccacagcu gaugaaagac uiugugcggua cgguuaaucu cccccuiiiiiii uiuiuiuiiiii	180
uiuiuiaguua augcgucuac ugaauccagc gaugaugcug gcccagauic	229
<210> 379	
<211> 546	
<212> РНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> нуклеотидная последовательность формулы (IV)	
<400> 379	
gggagaaagc ucaagcuaau ccaaguaggc ugguccaccug uacaacguag ccgguauiii	60
uiiiiiiiiiiiii uiuiuiuiiuga ccgucucaag guccaaguua gucugccuaau aaaggugcgg	120
auccacagcu gaugaaagac uiugugcggua cgguuaaucu cccccuiiiiiii uiuiuiuiiiii	180
uiuiuiaguua augcgucuac ugaauccagc gaugaugcug gcccagauic ucgaccacaa	240
gugcauauag uagucaucga gggucgcccii uiuiuiuiiiii uiuiuiuiiiii ugcccaguu	300
cugagacuuc gcuagagacu acaguuaacag cugcaguagu aaccacugcg gcuauugcag	360
gaaaauccgu ucaggguiiiii uiuiuiuiiiii uiuiuiuccgc ucacuaugau uaagaaccag	420
guggaguguc acugcucucg aggucucacg agagcgucug auacaguccu uggaagaauc	480
uiuiuiuiiiii uiuiuiuiiiii uiugugcggacg aucacagaga aciuucuauiuc augcaggucu	540
gcucua	546

<210> 380
<211> 1083
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (IV)

<400> 380
gggagaaagc ucaagcuaau ccaaguaggc uggucaccug uacaacguag ccgguauiii 60
uiiiuiuiuiiiii uiuiuiuiuuga ccgucucaag guccaaguua gucugccuau aaaggugcgg 120
auccacagcu gaugaaagac uugugcggua cgguuaaucu cccciuiuiii uiuiuiuiuiii 180
uiuiuiaguua auctgucuac ugaauccagc gaugaugcug gcccagaucu ucgaccacaa 240
gugcauauag uagucaucga gggucgccuu uiuiuiuiuii uiuiuiuiuii ugcccaguu 300
cugagaciuic gcuagagacu acaguuacag cugcaguagu aaccacugcg gcuauiugcag 360
gaaaucccgu ucagguuiii uiuiuiuiuii uiuiuiuccgc ucacuaugau uaagaaccag 420
guggaguguc acugcucucg aggucucacg agagcgcucg auacaguccu uggaagaauc 480
uiuiuiuiuii uiuiuiuiuii uugugcgcacg aucacagaga aciuicuauic augcaggucu 540
gcucuagaac gaacugaccu gacgcccugaa cuuaugagcg ugctguauuu uiuiuiuiuii 600
uiuiuiuiuii cucccaacaa augucgauca auagcugggc uguuggagac gcgcucagcaa 660
augccguggc uccauaggac guguagacuu cuauuiuiuii uiuiuiuiuii uiuiucccggg 720
accacaaaua auauicuugc uugguugggc gcaagggccc cguaucaggu cauaaacggg 780
uacauguugc acagggcuuccu uiuiuiuiuii uiuiuiuiuii uucgcugagu uauuccgguc 840
ucaaaagacg gcagacguca gucgacaaca cggucuaag cagugcuaca aucugccgug 900
uiucguguiii uiuiuiuiuii uiuiuiuguga accuacacgg cgugcacugu aguucgcaau 960
ucauagggua ccggcucaga guuaugccuu gguugaaaac ugcccagcau acuiuiuiuii 1020
uiuiuiuiuii uiucauauucc caugcuaagc aagggaugcc gcgagucaug uuaagcuauga 1080
auu 1083

<210> 381
<211> 59

<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (V)

<400> 381
uagcgaagcu ciuggaccua cciiiiiiiiii iiuiiiiiuccci gcsiiuccuaq aaguacacg 59

<210> 382
<211> 120
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> нуклеотидная последовательность формулы (V)

<400> 382
uagcgaagcu ciuggaccua cciiiiiiiiii iiuiiiiiucccc ugsdiuccua gaaguacacg 60
auccsuisca gaaccuggau ggaaaaaaaaaaa aaaaaaaaggg acgcaaggau ciiscaugugc 120

<210> 383
<211> 15
<212> РНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание последовательности: стабилизирующая последовательность общей формулы (C/U)CCANxCCC(U/A)PyxC(C/U)CC

<220>
<221> вариация
<222> (1)..(1)
<223> /замена="цитозин" /замена="урацил"

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> нуклеиновая кислота = цитозин или uracil

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Nx = a, g, c или u или любая другая нуклеиновая кислота

<220>
<221> вариация
<222> (5)..(5)

```

<223> /замена="цитозин" /замена="урацил" /замена="гуанозин"
      /замена="аденозин", или любая другая нуклеиновая кислота

<220>
<221> повторяющаяся_единица
<222> (5)..(5)
<223> x = любое число

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> нуклеиновая кислота = урацил или аденоzin

<220>
<221> вариация
<222> (9)..(9)
<223> /замена="урацил" /замена="аденоzin"

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Py = пиримидин

<220>
<221> повторяющаяся_единица
<222> (10)..(10)
<223> x = любое число

<220>
<221> вариация
<222> (10)..(10)
<223> /замена="пиримидин"

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> нуклеиновая кислота = цитозин или урацил

<220>
<221> вариация
<222> (13)..(13)
<223> /замена="цитозин" /замена="урацил"

<400> 383
nccanccnn ucnc

```

```

<210> 384
<211> 1845
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

```

<220>

<223> R1180 - пример нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу

<400> 384

gggagaaaac	uugaggau	aggacgc	aa	gaacaucaag	aaggcccgg	cgc	ccuu	ucua	60								
cccgcuggag	gacgggaccg	ccggc	gagca	gcuccacaag	gc	cauga	aagc	gguac	gccc	120							
ggugccgggc	acgaucg	ccu	ucaccgacgc	ccaca	aucgag	gu	cgaca	cu	acgcg	gga	180						
guacuucgag	augagc	gugc	gccuggccg	ggcca	ugaag	cg	guac	ggcc	u	gaacac	caa	240					
ccaccggauc	guggugug	cu	cg	gagaac	ag	ccugc	agu	u	ucaug	ccgg	ugcug	ggc	300				
ccucuucauc	ggcg	ugggccc	ucg	ccccggc	ga	acg	aca	u	acaac	gagc	gg	gugc	ugc	360			
gaacagcaug	ggga	aucag	cc	gacc	gac	gg	uguu	u	ca	acg	agg	cc	ugc	ugc	420		
gauccugaac	gugc	agaaga	ag	cug	ccc	cau	ca	u	cau	cau	ca	u	gg	acag	caa	480	
gaccgacuac	cagg	gcu	u	ag	ucg	au	g	ac	g	ac	g	cc	g	cc	gg	540	
cuucaacgag	uac	gac	uu	cc	gg	ag	ag	g	ac	g	ac	cc	u	gg	cc	u	600
caugaacagc	agc	ggc	ag	ca	ccg	u	g	g	gg	g	g	cc	u	gg	cc	g	660
cugcgu	gc	gc	ac	g	cc	gg	ac	cc	ca	u	cc	gg	g	ac	ac	720	
cgc	ca	cc	u	g	cc	u	cc	g	g	u	u	u	u	u	u	780	
ccu	ca	u	u	cc	gg	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	840	
gag	cc	u	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	900	
cgcc	ca	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	960	
gg	gg	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	1020	
cau	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	1080	
gg	ac	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	1140	
cc	u	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	1200	
ga	u	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	1260	
gg	cc	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	1320	
cg	ac	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	1380	
g	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	1440	

cgacgccggc gagcugccgg ccgcgguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
cggugguuuc guggacgagg ucggaaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaaua	1680
agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua	1740
auaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaaaaaa	1800
aaaaaaaaauuu ccccccccccc ccccccccccc ccccccccccc ucuag	1845

<210> 385

<211> 547

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> R722 – пример нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу

<400> 385

gggagaaagc ucaagcuaau ccaaguaggc uggucaccug uacaacguag ccgguauiiiii	60
uiuiuiuiuiii uiuiuiuiiuga ccgucucaag guccaaguua gucugccuau aaaggugcgg	120
auccacacgu gaugaaagac uugugcggua cgguuaaucu cccciuiiiii uiuiuiuiuiii	180
uiuiiuaguua augcguciac ugaauccagc gaugaugcug gcccagaucu ucgaccacaa	240
gugcauauag uagucaucga gggucgcccii uiuiuiuiuiii uiuiuiuiuiii uggcccaguu	300
cugagacuuc gcuagagacu acaguuaacag cugcaguagu aaccacugcg gcuauugcag	360
gaaaauccsgu ucagguiuiii uiuiuiuiuiii uiuiuiiuccgc ucacuaugau uaagaaccag	420
guggaguguc acugcucucg aggucucacg agagcgcucg auacaguccu uggaagaauc	480
uiuiuiuiuiii uiuiuiuiuiii uugugcgaacg aucacagaga aciuicuauuc augcaggucu	540
gcucuag	547

<210> 386

<211> 1857

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> R491 - пример нуклеиновой кислоты, представляющей собой карго-молекулу

<400> 386

gggagaaagc uugaggauug aggacgccaa gaacaucaag aaggggcccg cgccciucsua	60
cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc	120
ggugccgggc acgaucgccc ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga	180
guaciuucgag augagcugc gccuggccga ggccaugaag cgguaacggcc ugaacaccaa	240
ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcgc	300
ccucuucauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
gaacagcaug gggaucaagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
gauccugaac gugcagaaga agcugccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgcggg	540
cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
caugaacagc agcggcagca cggccugcc gaagggggug gcccugccgc accggaccgc	660
cugcugcgc uucucgcacg cccggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
cgccauccug agcugggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcua	780
ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgacccugu ucagcuiucuu	900
cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgcccagcgg	960
ggcgcccccg cugagcaagg aggugggcga ggccgugggc aagcgguucc accucccggg	1020
cauccgcccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccccgggg	1080
ggacgacaag cggggcgccg ugcccagggu ggucccguuc uucgaggcca aggugggugga	1140
ccuggacacc ggcaagaccc ugcccggugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggccc	1200
gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgcccggc guggccgggc ugcccggacga	1440
cgacgcccggc gagcugccgg cgcgguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500

gaaggagagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaaagaac ugccccgcgg	1560
cgggguguuc guggacgagg ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
ccgcgagauc cugaucagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguaua	1680
agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua	1740
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
aaaaaaaauuu cccccccccc cccccccccc cccccccccc ucuagacaau uggaauu	1857

<210> 387

<211> 20

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

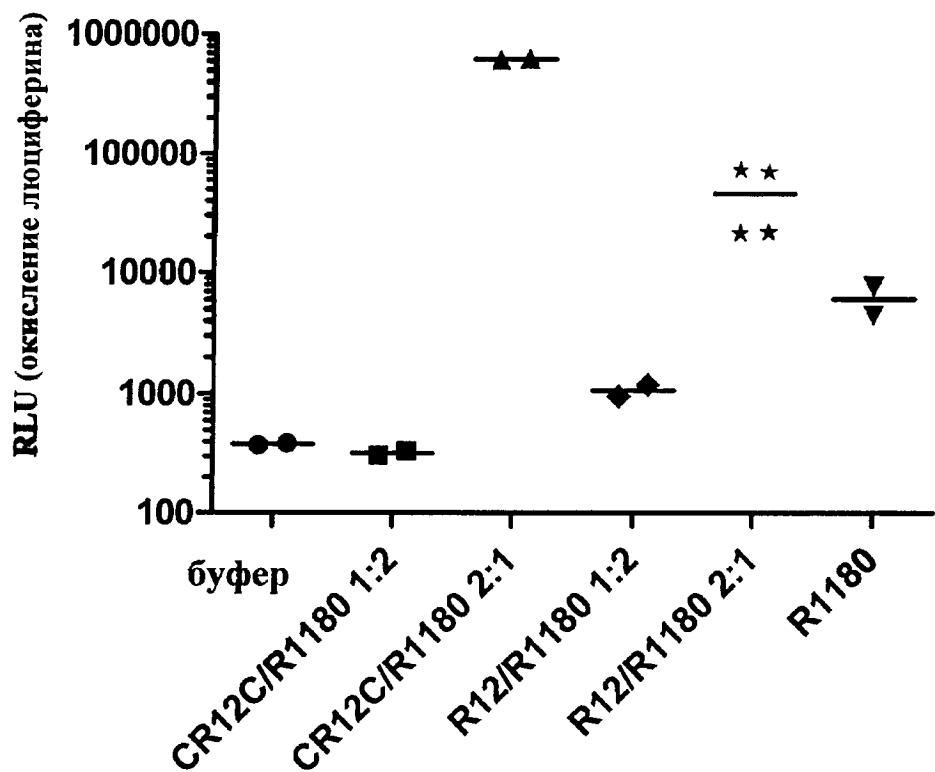
<223> CpG 2216 – пример нуклеиновой кислоты, представляющей собой каргомолекулу

<400> 387

gggggacgat cgtcgaaaaa

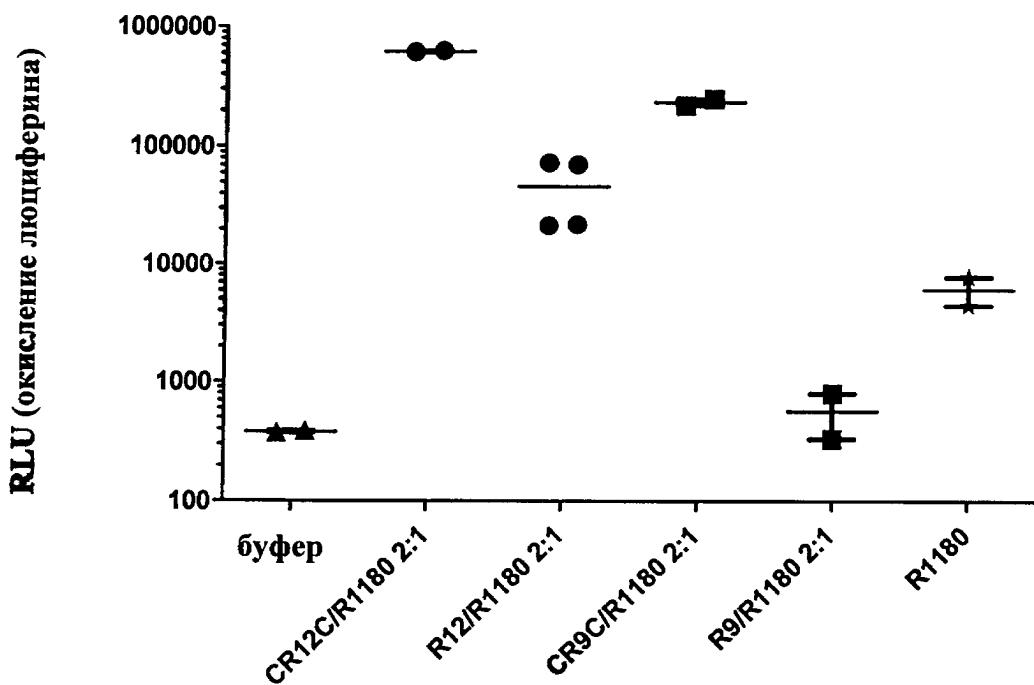
20

Экспрессия люциферазы в клетках линии HepG2

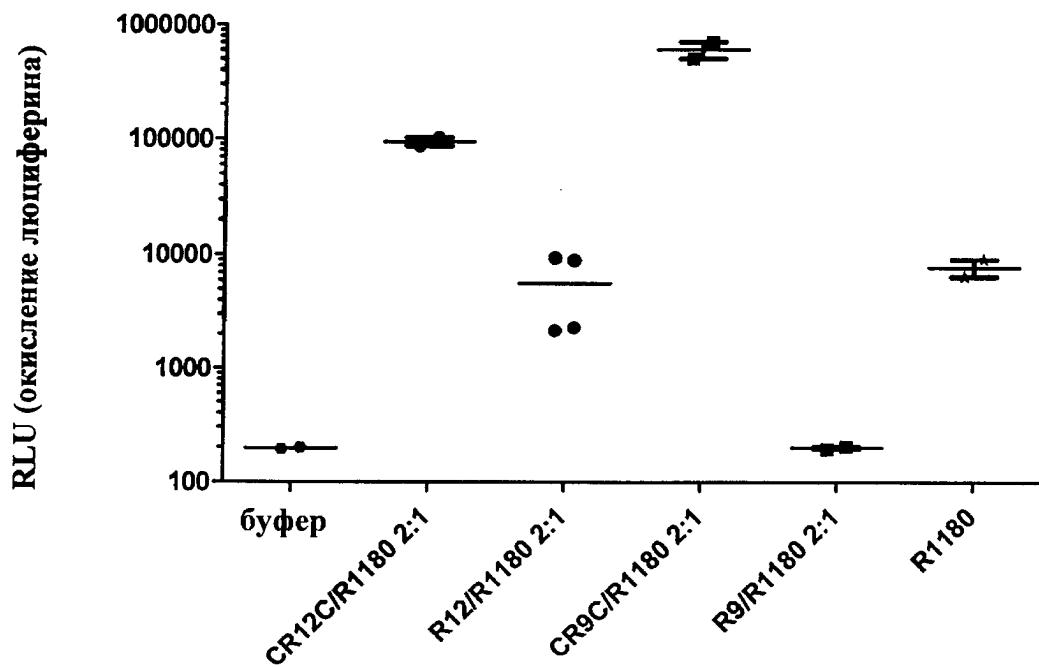


Фиг. 1

Экспрессия люциферазы в клетках линии HepG2

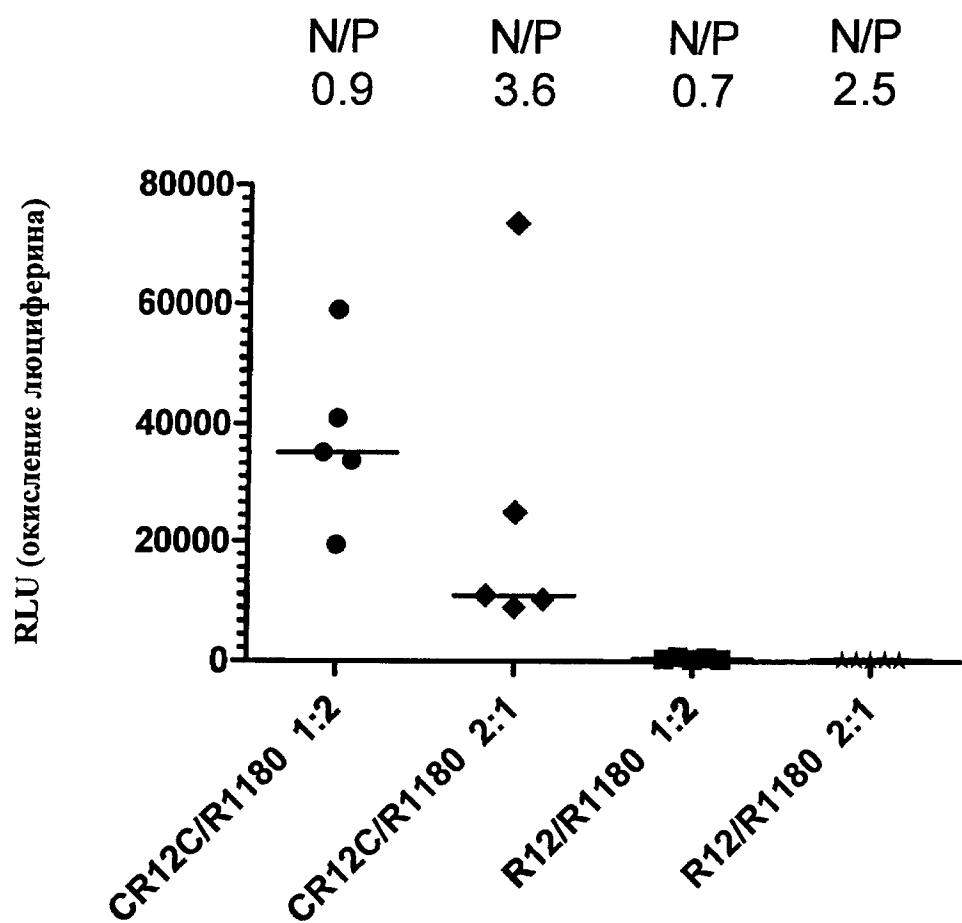


Экспрессия люциферазы в клетках линии B16F10

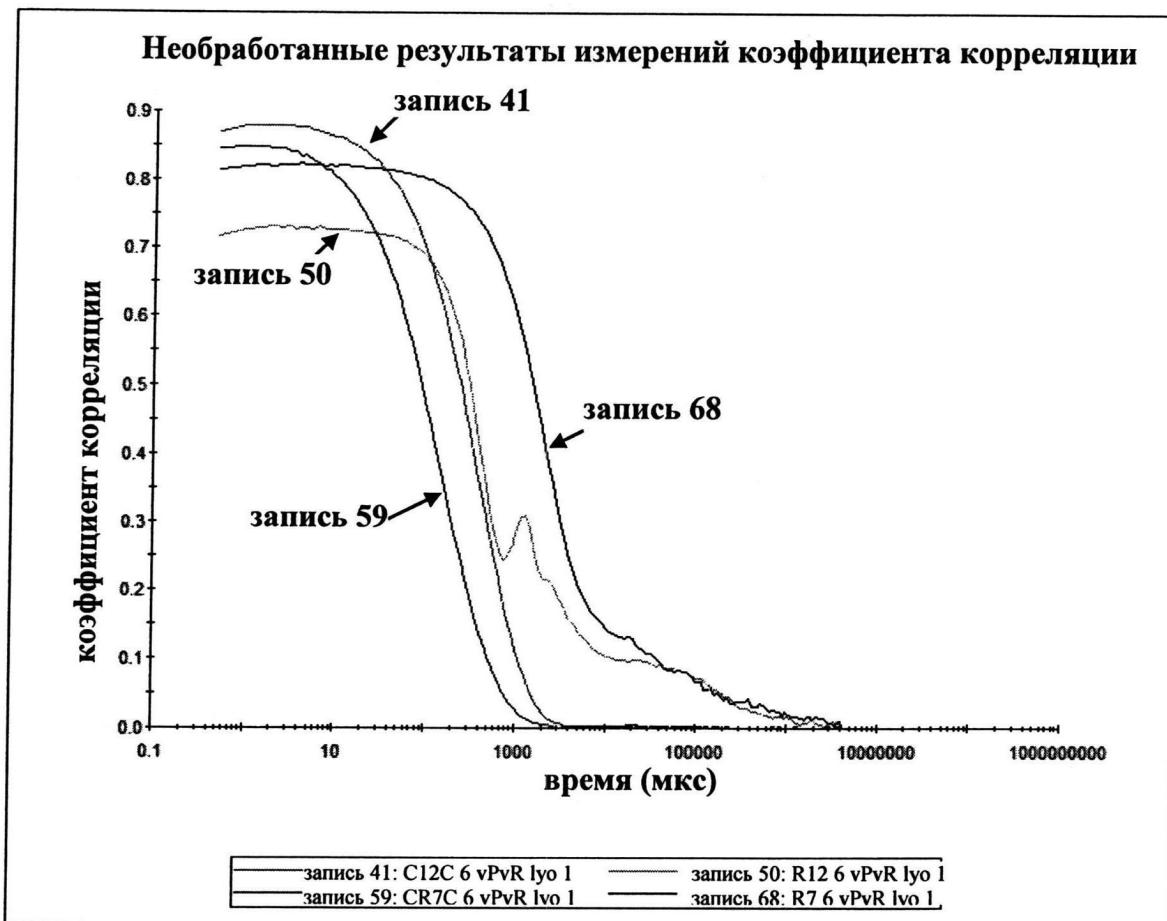


Фиг. 2

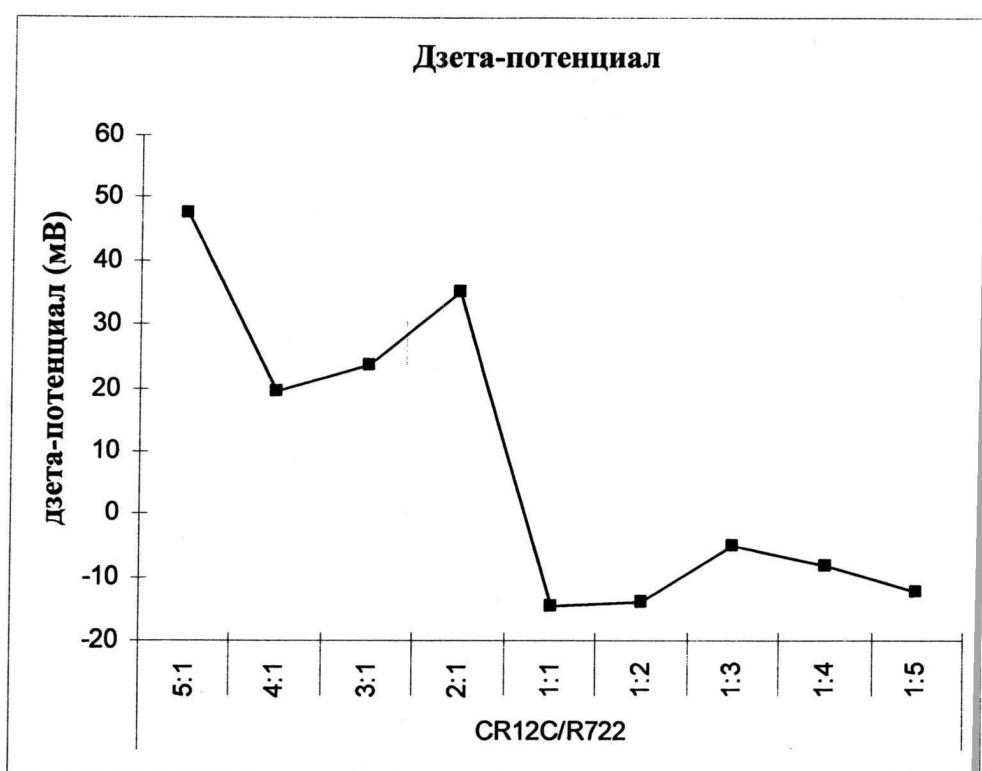
Экспрессия люциферазы в клетках линии Balb/c



Фиг. 3

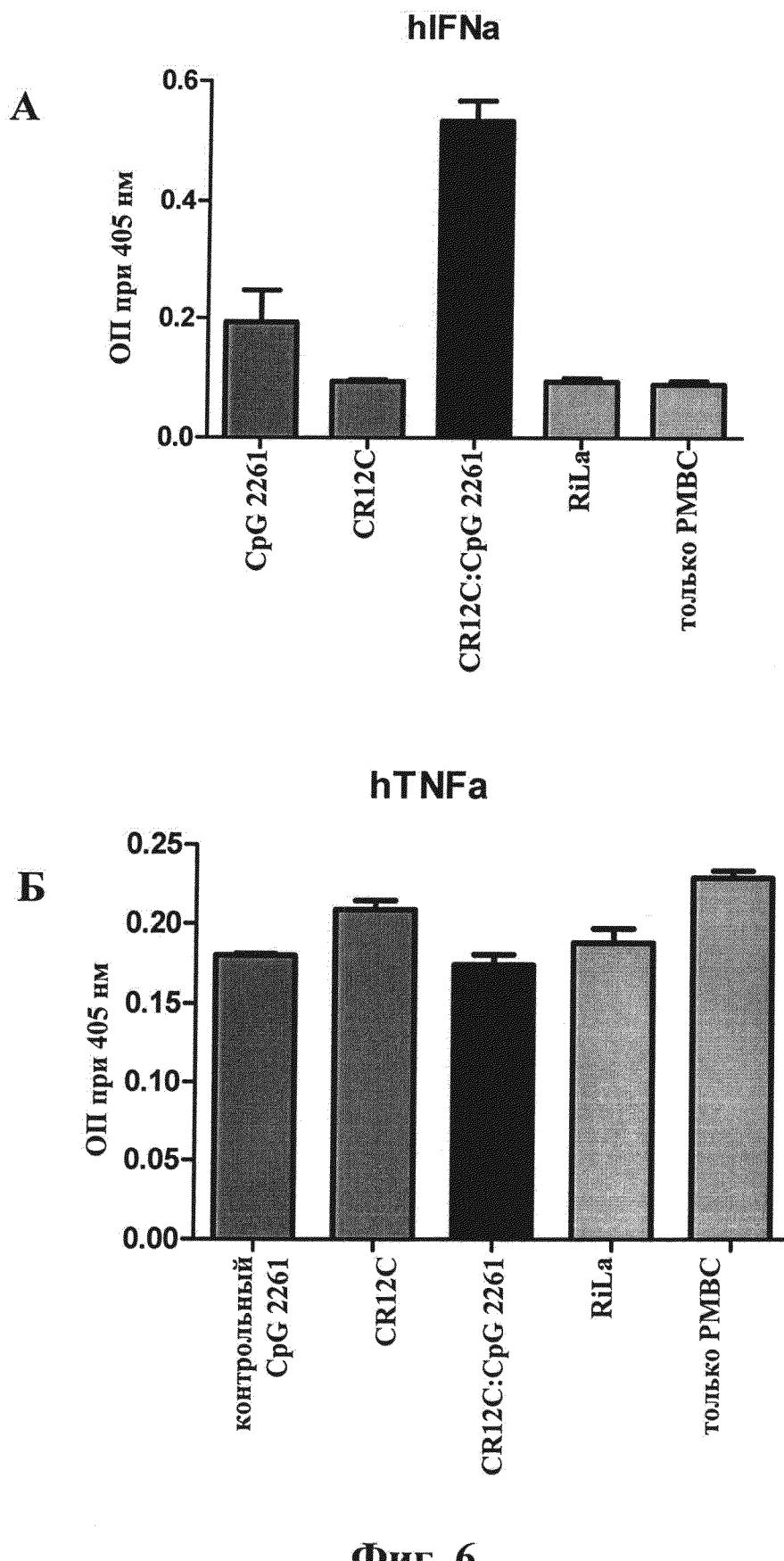


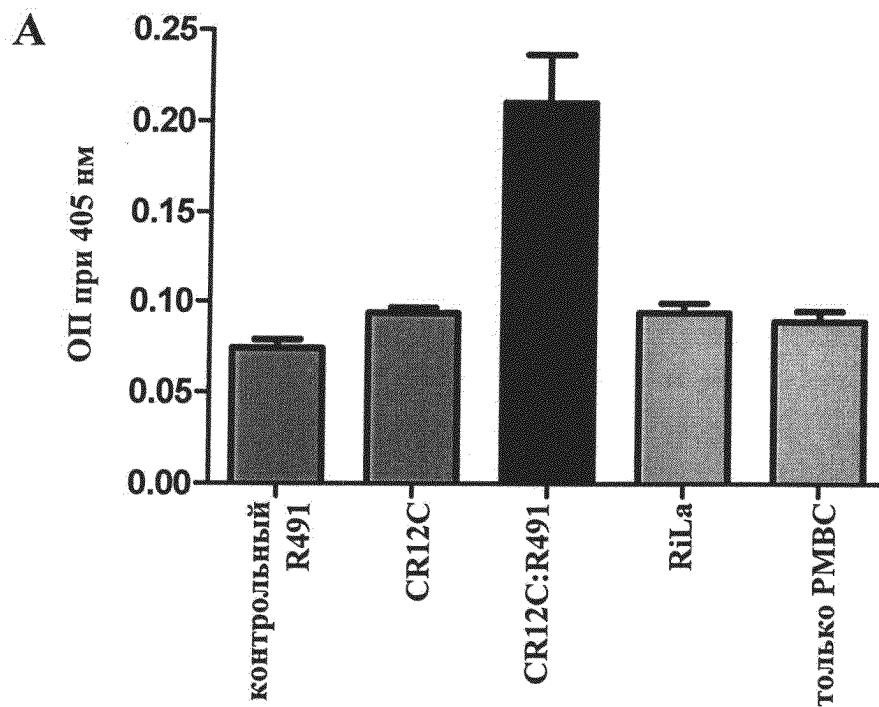
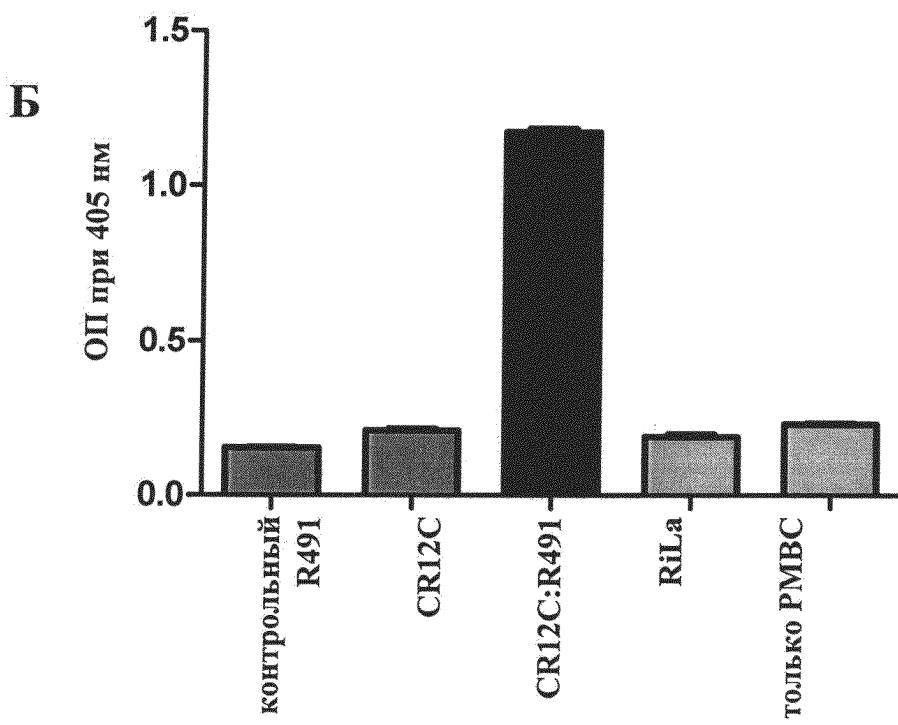
Фиг. 4

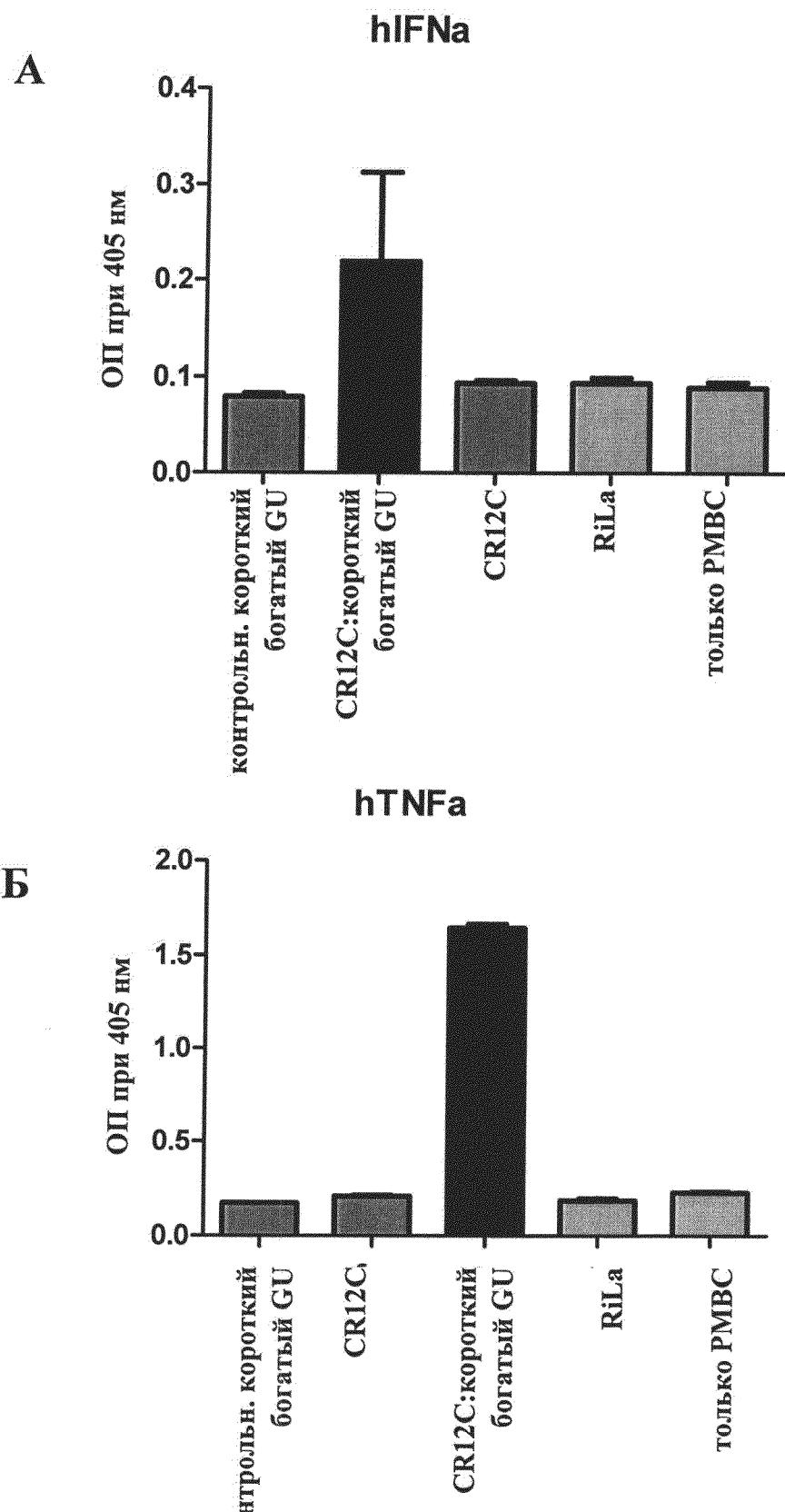


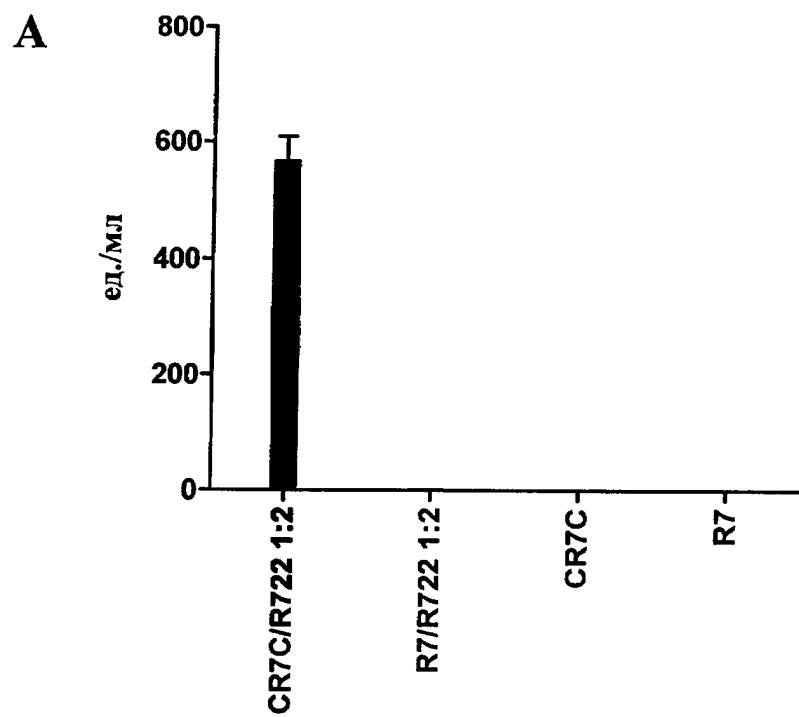
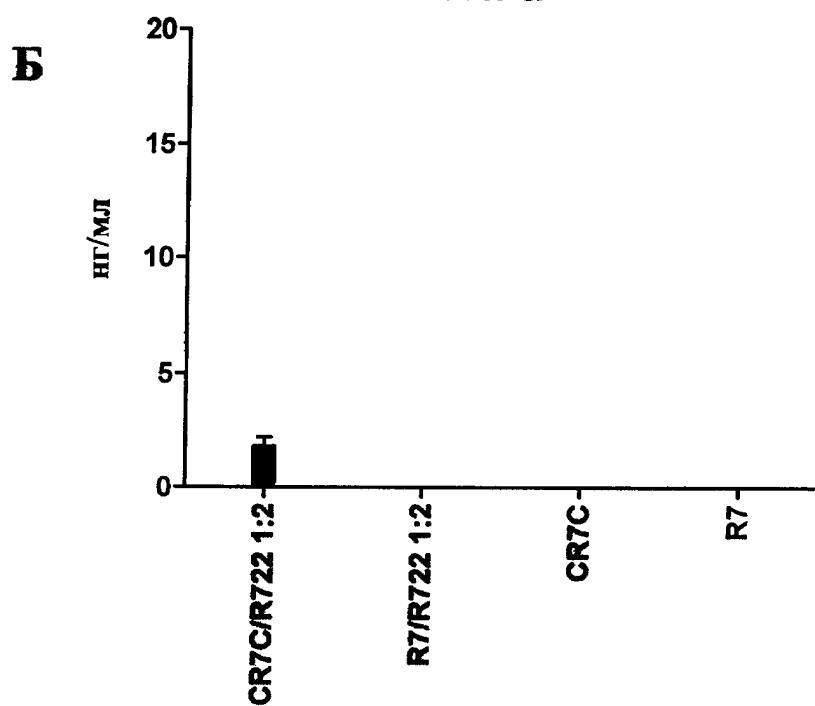
Катионный компонент/нуклеиновая кислота	Соотношение (мас./мас.)	ZP мВ
CR ₁₂ C/R722	5:1	47,5
CR ₁₂ C/R722	4:1	19,6
CR ₁₂ C/R722	3:1	23,8
CR ₁₂ C/R722	2:1	35
CR ₁₂ C/R722	1:1	-14,5
CR ₁₂ C/R722	1:2	-14
CR ₁₂ C/R722	1:3	-5,16
CR ₁₂ C/R722	1:4	-8,07
CR ₁₂ C/R722	1:5	-12,4

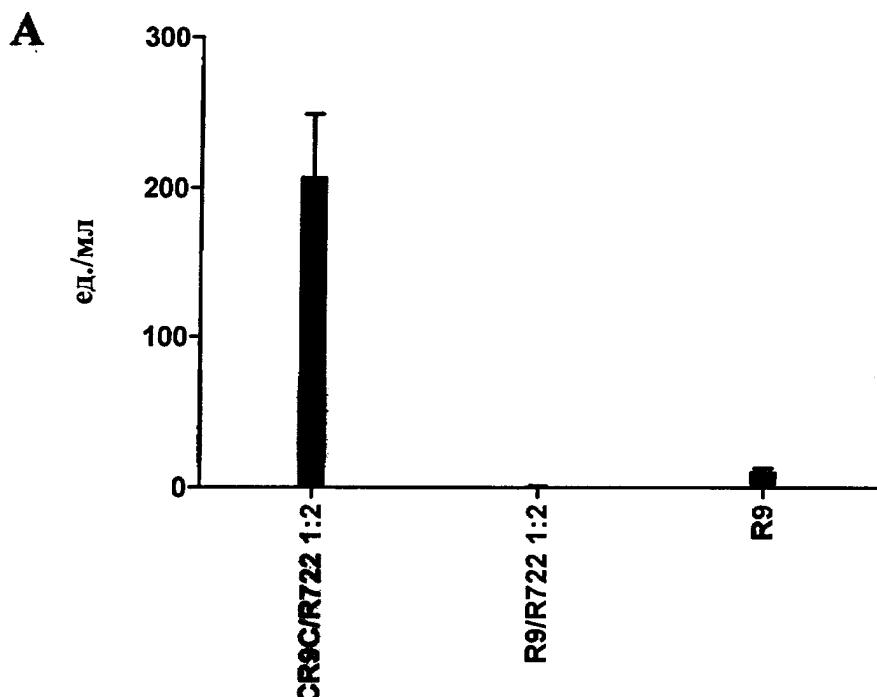
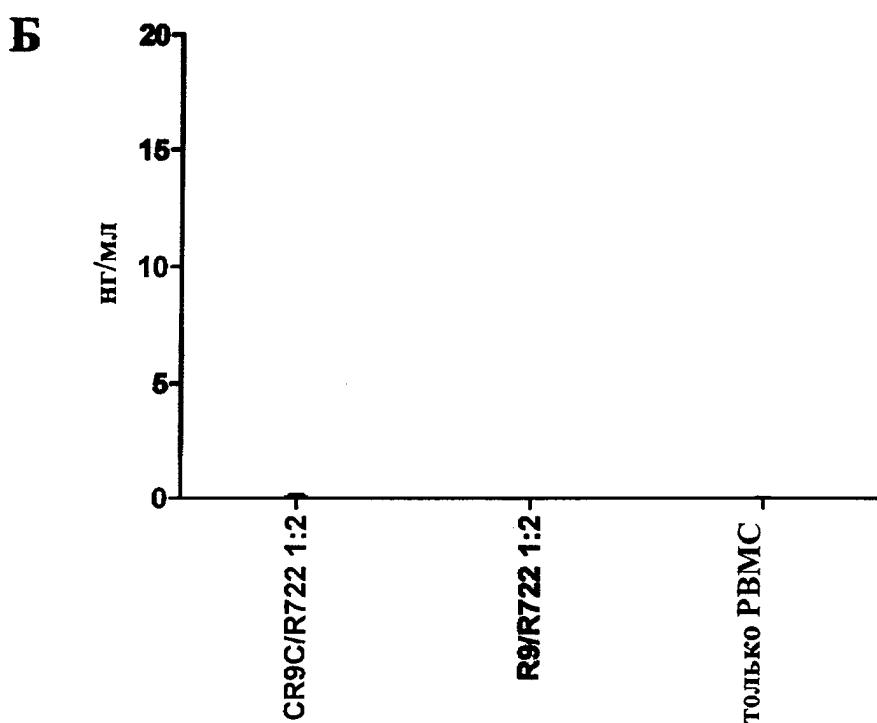
Фиг. 5

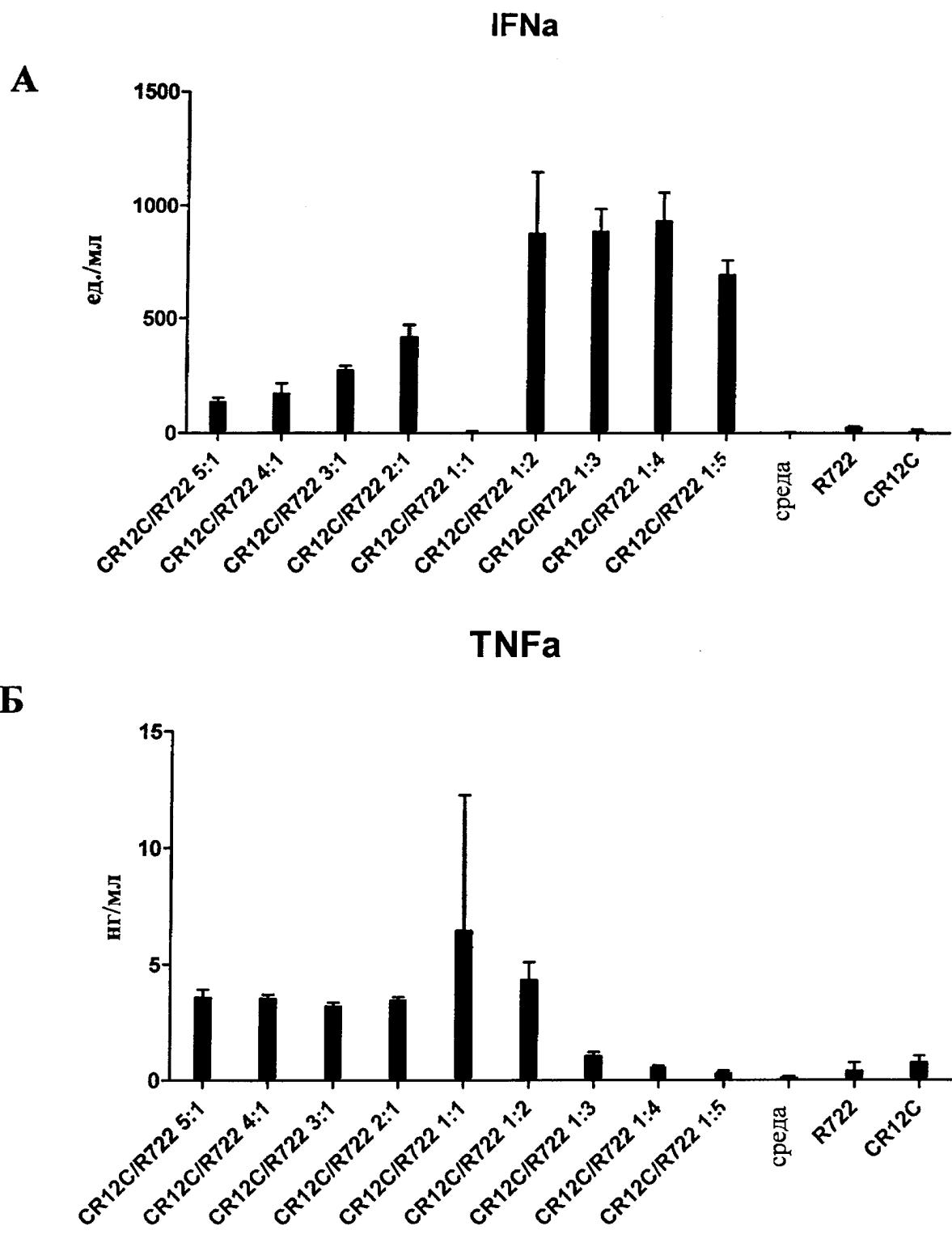
**Фиг. 6**

hIFNa**hTNFa****Фиг. 7**

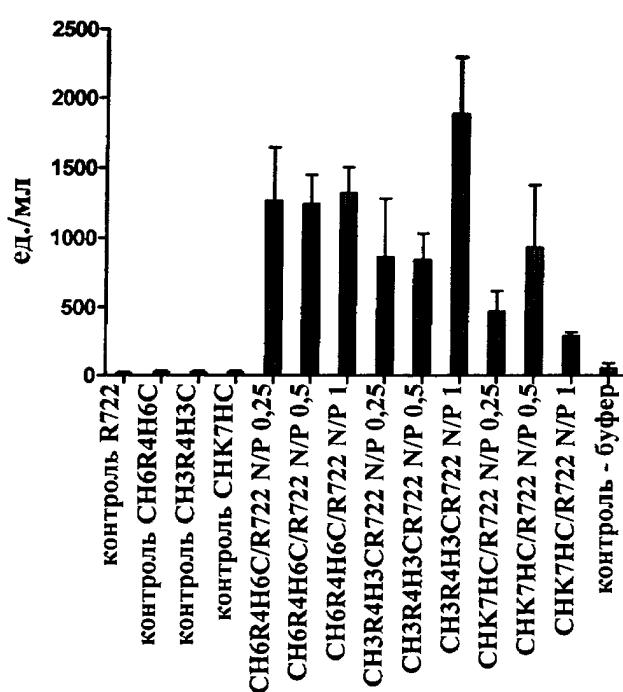
**Фиг. 8**

hIFNa**TNF α** **Фиг. 9**

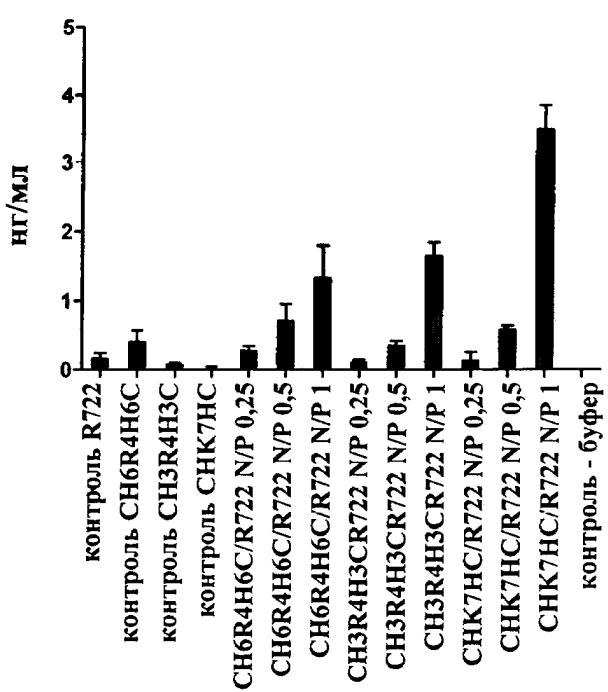
hIFNa**TNFa****Фиг. 10**

**Фиг. 11**

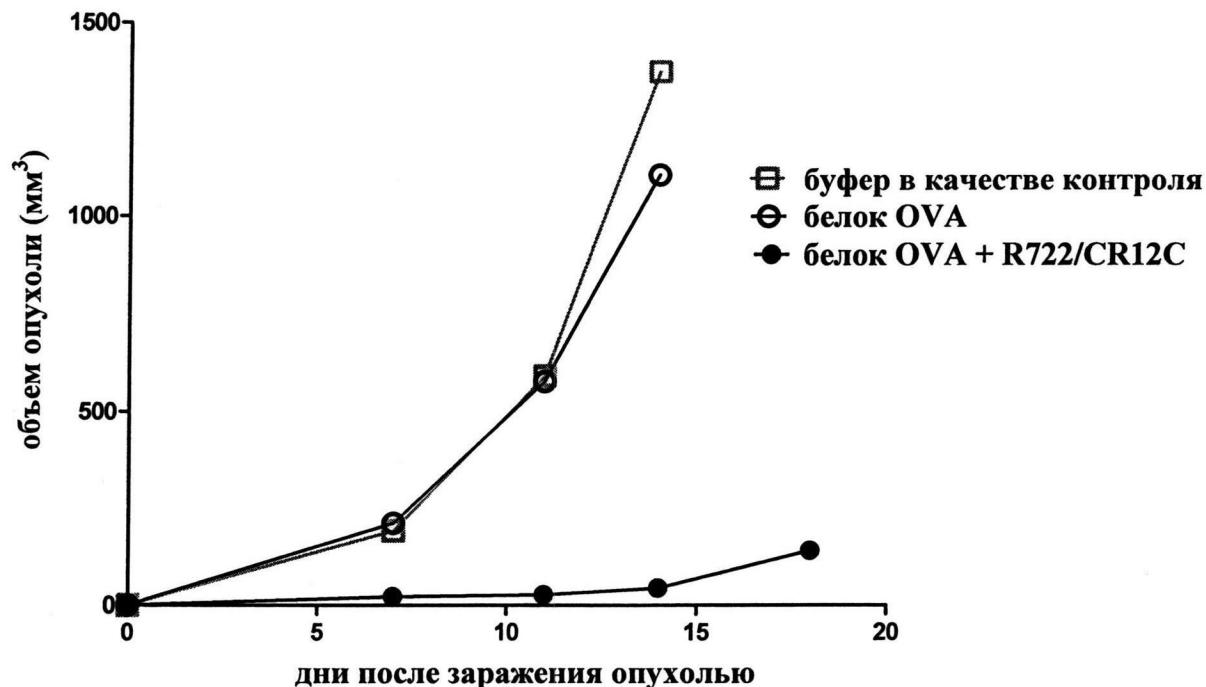
IFNa

A

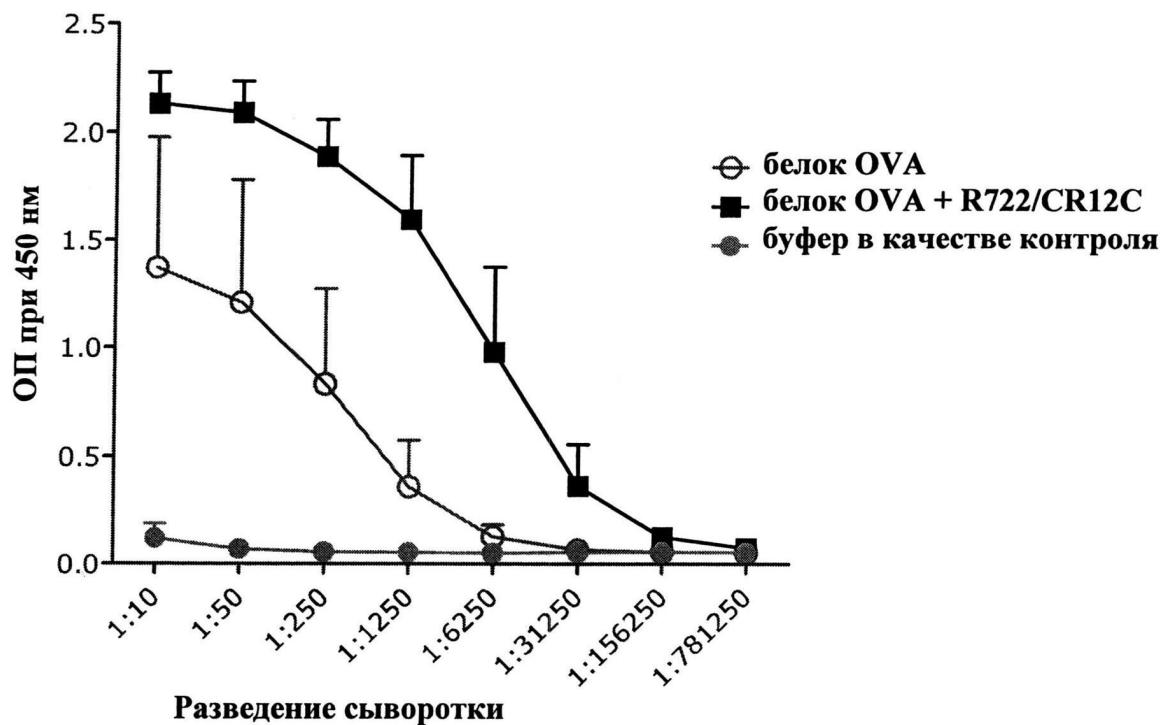
TNFa

Б**Фиг. 12**

Рост опухоли линии E.G7-OVA

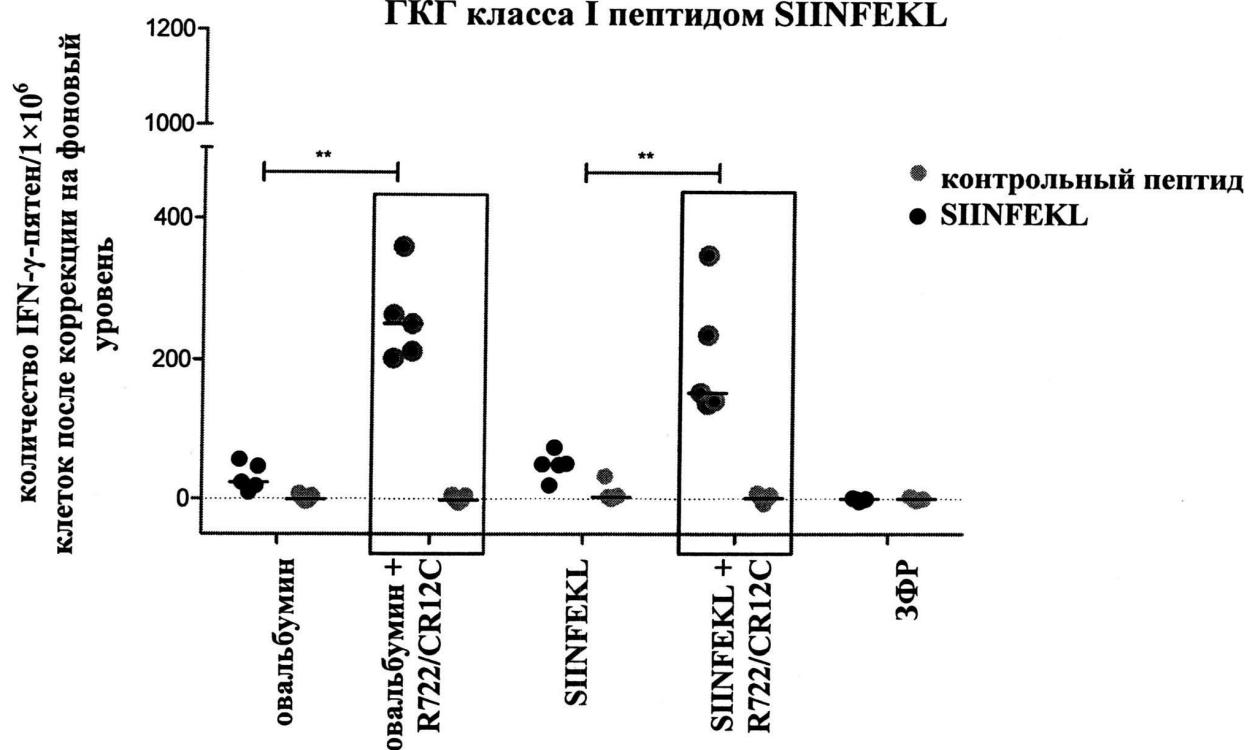


Фиг. 13
Индукция OVA-специфических антител IgG2-типа



Фиг. 14

**Секреция IFN- γ в спленоцитах после
стимуляции специфическим в отношении
ГКГ класса I пептидом SIINFEKL**



Фиг. 15