



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014137109, 15.02.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.02.2013

Дата регистрации:
26.10.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
15.02.2012 EP PCT/EP2012/000671

(43) Дата публикации заявки: 10.04.2016 Бюл. № 10

(45) Опубликовано: 26.10.2017 Бюл. № 30

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 15.09.2014

(86) Заявка РСТ:
EP 2013/000461 (15.02.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2013/120629 (22.08.2013)

Адрес для переписки:
105082, Москва, Спартаковский пер., 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, "ЕВРОМАРКПАТ"

(72) Автор(ы):

ТЕСС Андреас (DE),
ШЛАКЕ Томас (DE),
ПРОБСТ Йохен (DE)

(73) Патентообладатель(и):
КЬЮРВАК АГ (DE)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 20070172949 A9, 26.07.2007.
SANCHEZ R. ET AL. The oligo(A) tail on
histone mRNA plays an active role in
translational silencing of histone mRNA during
Xenopus oogenesis. MOLECULAR AND
CELLULAR BIOLOGY. 2004. V.24. No.6.
P.2513 - 2525. LEVY J.R. ET AL. Sequence and
functional characterization of the terminal exon
of the human insulin receptor (см. прод.)

(54) НУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА, СОДЕРЖАЩАЯ ИЛИ КОДИРУЮЩАЯ СТРУКТУРУ "СТЕБЕЛЬ-ПЕТЛЯ" ГИСТОНОВ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПОЛИ(А) ИЛИ СИГНАЛ ПОЛИАДЕНИЛИРОВАНИЯ, ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ КОДИРУЕМОГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО БЕЛКА

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области биотехнологии. Предложены нуклеиновая кислота, кодирующая терапевтический белок или антитело, структуру «стебель-петля» гистонов, и последовательность поли(А) или сигнала полиаденилирования, набор и фармацевтическая композиция, содержащие одну или более указанную нуклеиновую кислоту, для использования в генной терапии, а также способ повышения экспрессии кодируемого белка и применение указанных нуклеиновой кислоты, набора или композиции для повышения

экспрессии кодируемого белка. Строение предложенной нуклеиновой кислоты, заключающееся в комбинации элементов последовательности поли(А) или сигнала полиаденилирования совместно со структурой «стебель-петля» гистонов, обеспечивает повышение экспрессии белка значительно выше уровня, наблюдаемого при использовании указанных элементов отдельно. Предложенная группа изобретений может быть использована в медицине в генной терапии. 6 н. и 15 з.п. ф-лы, 25 ил., 15 табл., 11 пр.

(56) (продолжение):

gene. BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. 1995. V.1263. No.3. P.253 - 257. STAUBER C. ET AL.
A signal regulating mouse histone H-4 messenger RNA levels in a mammalian cell cycle mutant and
sequences controlling RNA 3' processing are both contained within the same 80-BP fragment. EMBO
JOURNAL. 1986. V.5. No.12. P.3297 - 3303. RU 2375450 C2, 10.12.2009.

R U 2 6 3 4 3 9 1 C 2

R U 2 6 3 4 3 9 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C12N 15/68 (2006.01)*A61K 39/00* (2006.01)*C12N 15/117* (2010.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2014137109, 15.02.2013**(24) Effective date for property rights:
15.02.2013Registration date:
26.10.2017

Priority:

(30) Convention priority:
15.02.2012 EP PCT/EP2012/000671(43) Application published: **10.04.2016** Bull. № 10(45) Date of publication: **26.10.2017** Bull. № 30(85) Commencement of national phase: **15.09.2014**(86) PCT application:
EP 2013/000461 (15.02.2013)(87) PCT publication:
WO 2013/120629 (22.08.2013)Mail address:
**105082, Moskva, Spartakovskij per., 2, str. 1, sektsiya
1, etazh 3, "EVROMARKPAT"**

(72) Inventor(s):

**TESS Andreas (DE),
SHLAKE Tomas (DE),
PROBST Jokhen (DE)**

(73) Proprietor(s):

KYURVAK AG (DE)(54) **NUCLEIC ACID CONTAINING OR CODING HYSTON "STEM-LOOP" STRUCTURE AND SEQUENCE OF POLY (A) OR POLYADENYLATION SIGNAL, TO INCREASE EXPRESSION OF CODED THERAPEUTIC PROTEIN**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: nucleic acid encoding a therapeutic protein or antibody, a histone "stem-loop" structure, and a poly (A) or polyadenylation signal, a kit and a pharmaceutical composition containing one or more of the said nucleic acid for use in gene therapy, and also a method for increasing the expression of the encoded protein and the use of the said nucleic acid, the kit or composition to enhance the expression of the encoded protein are provided. The structure of the proposed

nucleic acid consists in the combination of the elements of the poly (A) sequence or the polyadenylation signal in conjunction with the histone "stem-loop" structure. The presented group of inventions is applicable in medicine in gene therapy.

EFFECT: increasing the protein expression is much higher than the level observed when using these elements separately.

21 cl, 25 dwg, 15 tbl, 11 ex

Настоящее изобретение относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок, содержащий терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов и последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования. Кроме того, настоящее изобретение относится к применению нуклеиновой кислоты для повышения экспрессии указанного кодируемого пептида или белка, например, в генной терапии. Настоящее изобретение также относится к применению указанной нуклеиновой кислоты для получения фармацевтической композиции, предназначенной для использования в генной терапии, в частности, при лечении заболеваний, требующих применения терапевтического пептида или белка, предпочтительно рассмотренных в настоящем описании изобретения. Настоящее изобретение, кроме того, относится к способу повышения экспрессии пептида или белка, содержащего терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, используя нуклеиновую кислоту, содержащую или кодирующую структуру "стебель-петля" гистонов и последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования.

Генная терапия предполагает использование нуклеиновых кислот в качестве фармацевтического средства для лечения заболевания. Генная терапия получила свое название благодаря использованию нуклеиновых кислот для дополнения или изменения экспрессии гена в клетках индивида в качестве метода лечения заболевания. Наиболее распространенной формой генной терапии является использование нуклеиновых кислот, кодирующих функциональный терапевтический белок, для замены мутированного гена. Другие формы генной терапии включают прямую коррекцию мутации или использование нуклеиновых кислот, кодирующих терапевтический белок, в качестве лекарственного средства.

Генная терапия представляют собой способы молекулярной медицины, которые уже зарекомендовали себя в лечении и профилактики заболеваний и, как правило, демонстрируют значительный эффект в повседневной медицинской практике, в частности, при лечении заболеваний, как упомянуто в настоящем документе. Генная терапия основана на введении в клетки или ткани пациента нуклеиновых кислот и дальнейшем процессинге информации, кодируемой нуклеиновой кислотой, которую ввели в клетки или ткани, то есть (белковой) экспрессии желаемых полипептидов.

Генная терапия позволяет получить благоприятные результаты при лечении целого ряда наследственных или приобретенных заболеваний, в том числе инфекционных заболеваний, новообразований (например, раковых или опухолевых заболеваний), заболеваний крови и кроветворных органов, заболеваний эндокринной системы, заболеваний, связанных с питанием и обменом веществ, заболеваний нервной системы, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, заболеваний пищеварительной системы, заболеваний кожи и подкожной ткани, заболеваний костно-мышечной системы и соединительной ткани и заболеваний мочеполовой системы.

При генотерапевтических подходах, как правило, используют ДНК, хотя в недавних разработках также появилась информация об использовании РНК. Важно отметить, что во всех этих генотерапевтических подходах мРНК действует как посредник для информации о последовательности кодируемого белка, вне зависимости от того, используется ДНК, вирусная РНК или мРНК.

Как правило, РНК считают нестабильной молекулой: РНКазы встречаются повсеместно и известно, что они трудно поддаются инактивации. Кроме того, РНК

химически более лабильна, чем ДНК. Таким образом, вероятно, является неожиданностью тот факт, что "состояние по умолчанию" для мРНК в эукариотической клетке характеризуется относительной стабильностью и для разрушения отдельных мРНК необходимы специфические сигналы. Основной причиной этого обнаружения, по-видимому, является тот факт, что разрушение мРНК в клетках катализируют практически только экзонуклеазы. Однако концы эукариотических мРНК защищены от этих ферментов специфическими концевыми структурами и связанными с ними белками: кэпом m7GpppN на 5'-конце и, как правило, последовательностью поли(А) на 3'-конце. Таким образом, удаление двух концевых модификаций считают лимитирующим фактором скорости разрушения мРНК. Хотя в 3'-UTR мРНК альфа-глобина охарактеризован стабилизирующий элемент, последовательности РНК, воздействующие на функциональный цикл эукариотических мРНК, как правило, действуют как промотор разрушения, как правило, ускоряя деаденилирование (обзор Meyer, S., C. Temme, et al. (2004), *Crit Rev Biochem Mol Biol* 39(4): 197-216.).

Как указано выше, 5'-концы эукариотических мРНК, как правило, посттранскрипционно модифицированы метилированной кэпирующей структурой, например, m7GpppN. Кроме ее роли в сплайсинге, стабилизации и транспорте РНК, кэпирующая структура значительно повышает привлечение субъединицы 40S рибосомы к 5'-концу мРНК при инициации трансляции. Для реализации последней функции требуется распознавание кэпирующей структуры комплексом факторов инициации эукариот eIF4F. Последовательность поли(А) дополнительно стимулирует трансляцию посредством повышенного привлечения субъединицы 40S к мРНК, эффект, требующий вмешательства связывающего поли(А) белка (РАВР). Недавно было показано, что в свою очередь РАВР физически взаимодействует с eIF4G, который является частью связанного с кэпом комплекса eIF4F. Таким образом, была постулирована модель закрытой петли инициации трансляции на кэпированной полиаденилированной мРНК (Michel, Y.M., D. Poncet, et al. (2000), *J Biol Chem* 275(41): 32268-76.).

Такой последовательностью поли(А), которую добавляют на их 3'-конец повсеместно встречающаяся система расщепления/полиаденилирования, заканчиваются почти все эукариотические мРНК. Наличие последовательности поли(А) на 3'-конце является одной из наиболее распознаваемых характеристик эукариотических мРНК. После расщепления большинство пре-мРНК, за исключением зависимых от репликации транскриптов гистонов, получают полиаденилированный хвост. В этом контексте, процессинг 3'-конца представляет собой ядерный совместный с транскрипцией процесс, который способствует транспорту мРНК из ядра в цитоплазму и влияет на стабильность и трансляцию мРНК. Формирование 3'-конца происходит в двухстадийной реакции под управлением системы расщепления/полиаденилирования и зависит от присутствия двух элементов последовательности в предшественниках мРНК (пре-мРНК), высококонсервативного гексануклеотида AAUAAA (сигнала полиаденилирования) и расположенной ниже последовательности, богатой G/U. На первой стадии происходит расщепление пре-мРНК между двумя этими элементами. На второй стадии, тесно связанной с первой стадией, происходит достройка вновь сформированного 3'-конца посредством добавления последовательности поли(А), состоящей из 200-250 аденилатов, которые затем влияют на все аспекты метаболизма мРНК, включая экспорт, стабильность и трансляцию мРНК (Dominski, Z. и W.F. Marzluff (2007), *Gene* 396(2): 373-90.).

Единственным известным исключением из этого правила являются зависимые от репликации мРНК гистоны, которые вместо последовательности поли(А) заканчиваются

структурой "стебель-петля" гистонов. Примеры последовательностей структуры "стебель-петля" гистонов описаны в Lopez et al. (Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308.).

Как правило, за структурами "стебель-петля" в пре-мРНК гистонов расположена последовательность, богатая пуринами, известная как нижерасположенный элемент гистонов (HDE). Эти пре-мРНК подвергаются процессингу в ядре посредством одного эндонуклеолитического расщепления приблизительно на 5 нуклеотидов ниже структуры "стебель-петля", катализируемого мяРПП U7 посредством спаривания оснований мяРНК U7 с HDE. Последовательность 3'-UTR, содержащую структуру "стебель-петля" гистонов и нижерасположенный элемент гистонов (HDE) (участок связывания мяРПП U7), как правило, обозначают как 3'-сигнал процессинга гистонов (см. например, Chodchoy, N., N.B. Pandey, et al. (1991). *Mol Cell Biol* 11(1): 497-509.).

Из-за необходимости упаковки вновь синтезированной ДНК в хроматин, синтез гистонов контролируется согласованно с клеточным циклом. Повышенный синтез гистоновых белков в течение S-фазы достигается посредством активации транскрипции генов гистонов, а также посттранскрипционной регуляции уровней мРНК гистонов. Можно показать, что структура "стебель-петля" гистонов необходима для всех посттранскрипционных стадий регуляции экспрессии гистонов. Она необходима для эффективного процессинга, экспорта мРНК в цитоплазму, помещения в полирибосомы и регуляции стабильности мРНК.

В указанном выше случае идентифицирован белок 32 кДа, который в ядре и цитоплазме связан со структурой "стебель-петля" гистонов на 3'-конце мРНК гистонов. Уровень экспрессии этого связывающего структуру "стебель-петля" белка (SLBP) регулируется клеточным циклом и наибольшим является в течение S-фазы, когда повышены уровни мРНК гистонов. SLBP необходим для эффективного 3'-концевого процессинга пре-мРНК гистонов посредством мяРПП U7. После завершения процессинга SLBP остается связанным со структурой "стебель-петля" на конце зрелых мРНК гистонов и стимулирует их трансляцию в гистоновые белки в цитоплазме. (Dominski, Z. and W.F. Marzluff (2007), *Gene* 396(2): 373-90). Интересен тот факт, что РНК-связывающий домен SLBP является консервативным у всех представителей метазоа и протозоа (Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308), и можно показать, что его связывание с последовательностью структуры "стебель-петля" гистонов зависит от структуры "стебель-петля", и что минимальный участок связывания содержит по меньшей мере 3 нуклеотида с 5'-конца и 2 нуклеотида с 3'-конца от структуры "стебель-петля" (Pandey, N.B., et al. (1994), *Molecular and Cellular Biology*, 14 (3), 1709-1720 и Williams, A.S., & Marzluff, W.F., (1995), *Nucleic Acids Research*, 23(4), 654-662.).

Хотя гены гистонов, как правило, классифицируют как "зависимые от репликации", дающие начало мРНК, оканчивающимся структурой "стебель-петля" гистонов, или "заместительного типа", дающие начало мРНК, несущим вместо этого поли(А)-хвост, в некоторых редких случаях идентифицированы природные мРНК, содержащие и структуру "стебель-петля" гистонов и поли(А) или олиго(А) с 3'-конца. Sanchez et al. изучали действие природных олиго(А)-хвостов, добавляемых с 3'-конца от структуры "стебель-петля" гистонов в мРНК гистонов, при оогенезе *Xenopus* с использованием в качестве репортерного белка люциферазы и выявили, что олиго(А)-хвост является активной частью механизма репрессии трансляции, который осуществляет сайленсинг мРНК гистонов при оогенезе, и его удаление является частью механизма, который активирует трансляцию мРНК гистонов (Sanchez, R. and W. F. Marzluff (2004), *Mol Cell*

Biol 24(6): 2513-25).

Кроме того, исследовали необходимые условия регуляции зависимых от репликации гистонов на уровне процессинга пре-мРНК и стабильности мРНК, используя искусственные конструкции, кодирующие маркерный белок альфа-глобин, используя преимущество того факта, что ген глобина, в отличие от безинтронных генов гистонов, содержит интроны. Для этой цели получали конструкции, в которых после кодирующей последовательности альфа-глобина располагалась сигнальная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов (структура "стебель-петля" гистонов с последующим нижерасположенным элементом гистонов) и сигнал полиаденилирования (Whitelaw, E., et al. (1986). *Nucleic Acids Research*, 14(17), 7059-7070.; Pandey, N.B., & Marzluff, W.F. (1987). *Molecular and Cellular Biology*, 7(12), 4557-4559.; Pandey, N.B., et al. (1990). *Nucleic Acids Research*, 18(11), 3161-3170).

В другом подходе Lüscher et al. исследовали зависимую от клеточного цикла регуляцию гена рекомбинантного гистона H4. Получали конструкции, в которых после кодирующей последовательности H4 располагалась сигнальная последовательность структуры "стебель-петля" и сигнал полиаденилирования, два сигнала процессинга, независимо разделенные кодирующей последовательностью галактокиназы (Lüscher, B. et al., (1985). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82(13), 4389-4393).

Кроме того, Stauber et al. идентифицировали минимальную последовательность, необходимую для зависимой от клеточного цикла регуляции на уровне мРНК гистона H4. Для этих исследований использовали конструкции, содержащие кодирующую последовательность селективного маркера ксантин : гуанин фосфорибозилтрансферазы (GPT), предшествующую сигнальной последовательности структуры "стебель-петля" гистонов со следующим за ней сигналом полиаденилирования (Stauber, C. et al., (1986). *EMBO J*, 5(12), 3297-3303).

Исследуя процессинг пре-мРНК гистонов, Wagner et al. идентифицировали факторы, необходимые для расщепления пре-мРНК гистонов, с использованием репортерной конструкции, где между сигнальной последовательностью структуры "стебель-петля" гистонов и сигналом полиаденилирования помещен EGFP так, что EGFP экспрессируется только в случае нарушения процессинга пре-мРНК гистонов (Wagner, E.J. et al., (2007). *Mol Cell* 28(4), 692-9).

Следует отметить, что трансляция полиаденилированной мРНК, как правило, требует, чтобы 3'-последовательность поли(А) сблизилась с 5'-кэпом. Это опосредовано белок-белковым взаимодействием между связывающим поли(А) белком и эукариотическим фактором инициации eIF4G. В отношении зависимых от репликации мРНК гистонов был обнаружен аналогичный механизм. Для этого случая Gallie et al. показали, что структура "стебель-петля" гистонов функционально сходна с последовательностью поли(А) в том, что увеличивает эффективность трансляции и одновременно зависит от 5'-кэпа для обеспечения эффективного уровня трансляции. Они показали, что структура "стебель-петля" гистонов необходима и достаточна для усиления трансляции репортерной мРНК трансфицированных клеток яичника китайского хомяка, но для оптимального функционирования она должна находиться на 3'-конце. Таким образом, подобно поли(А)-хвосту других мРНК, 3'-конец этих мРНК гистонов, по-видимому, необходим для трансляции *in vivo* и функционально аналогичен поли(А)-хвосту (Gallie, D.R., Lewis, N.J., & Marzluff, W.F. (1996), *Nucleic Acids Research*, 24(10), 1954-1962).

Кроме того, можно показать, что SLBP связан с цитоплазматической мРНК гистонов и необходим для ее трансляции. Хотя SLBP не взаимодействует с eIF4G напрямую, домен, необходимый для трансляции мРНК гистонов, взаимодействует с недавно

выявленным белком SLIP1. На следующей стадии, SLIP1 взаимодействует с eIF4G и обеспечивает циркуляризацию мРНК гистонов и поддержку эффективной трансляции мРНК гистонов по механизму, сходному с трансляцией полиаденилированных мРНК.

Как указано выше, в генотерапевтических подходах для переноса кодирующей информации в клетку в норме используют ДНК, которая затем транскрибируется в мРНК, несущую природные элементы мРНК, в частности, 5'-кэпирующую структуру и 3'-последовательность поли(А), для экспрессии кодируемого терапевтического или антигенного белка.

Однако во многих случаях экспрессирующие системы на основе введения таких нуклеиновых кислот в клетки или ткани пациента и последующей экспрессии желаемых полипептидов, кодируемых этими нуклеиновыми кислотами, не демонстрируют желаемого или даже необходимого уровня экспрессии, которым мог бы обеспечить эффективную терапию, вне зависимости от того используют ли ДНК или РНК.

В уровне техники ранее принимались различные попытки повышения выхода экспрессии кодируемого белка, в частности, используя улучшенные экспрессирующие системы, *in vitro* и/или *in vivo*. Способы повышения экспрессии, в основном описанные в уровне техники, как правило, основаны на использовании векторов экспрессии или кассет, содержащих специфические промоторы и соответствующие регуляторные элементы. Так как эти векторы экспрессии или кассеты, как правило, ограничены конкретными клеточными системами, то эти экспрессирующие системы необходимо адаптировать для использования в других клеточных системах. Затем такие адаптированные экспрессирующие векторы или кассеты, как правило, трансфицировали в клетки и, как правило, обрабатывали в зависимости от конкретной линии клеток. Таким образом, предпочтение отдают преимущественно тем молекулам нуклеиновой кислоты, которые способны экспрессировать кодируемые белки в клетке-мишени посредством систем, характерных для клетки, вне зависимости от промоторов и регуляторных элементов, которые специфичны для конкретных типов клеток. В этом контексте, можно различать стабилизирующие мРНК элементы и элементы, которые увеличивают эффективность трансляции мРНК.

мРНК с оптимизированной кодирующей последовательностью и в основном подходящие для такой цели описаны в заявке WO 02/098443 (CureVac GmbH). Например, в WO 02/098443 описаны мРНК, стабилизированные в основной форме и оптимизированные для трансляции кодирующих областей. В WO 02/098443, кроме того, описан способ определения модификаций последовательности. В WO 02/098443 дополнительно описаны возможности замены адениновых и урациловых нуклеотидов в последовательностях мРНК для повышения содержания в последовательностях гуанина/цитозина (G/C). По WO 02/098443 такие замены и адаптации с повышением содержания G/C можно использовать для генотерапевтических приложений, а также для генетических вакцин для лечения злокачественных опухолей или инфекционных заболеваний. В этом контексте, в WO 02/098443, как правило, указаны последовательности в виде основных последовательностей для таких модификаций, в которых модифицированная мРНК кодирует по меньшей мере один биологически активный пептид или полипептид, который у пациента, получаемого лечение, например, не транслируется или транслируется некорректно или с дефектами. Альтернативно, в WO 02/098443 предоставлены мРНК, кодирующие антигены, например, терапевтические белки или вирусные антигены, в виде основных последовательностей для таких модификаций.

В дополнительном подходе в отношении повышения экспрессии кодируемого белка

в заявке WO 2007/036366 описано положительное действие длинных последовательностей поли(А) (особенно длиннее 120 п.н.) и комбинации по меньшей мере двух 3'-нетранслируемых областей гена бета-глобина на стабильность и активность трансляции мРНК.

5 Однако хотя во всех этих последних документах уровня техники были уже сделаны попытки получить достаточно эффективные инструменты для генотерапевтических подходов и дополнительно повысить стабильность и активность трансляции мРНК, все еще остается проблема по существу меньшей стабильности при использовании РНК-вакцин по сравнению с ДНК-вакцинами и с генотерапевтическими подходами на
10 основе ДНК. Таким образом, в данной области существует необходимость получения улучшенных инструментов для генотерапевтических подходов или как дополнительная терапия для общепринятых способов лечения, как указано выше, которые позволяют обеспечить кодируемыми белками *in vivo*, например, посредством дополнительно повышенной стабильности и/или активности трансляции мРНК, предпочтительно, для
15 генной терапии.

Кроме того несмотря на общий прогресс в данной области, эффективная экспрессия кодируемого пептида или белка в бесклеточных системах, клетках или организмах (рекомбинантная экспрессия) все еще остается серьезной проблемой.

Таким образом, целью настоящего изобретения является получение дополнительных
20 и/или альтернативных способов повышения экспрессии кодируемого белка, предпочтительно, за счет дополнительной стабилизации мРНК и/или повышения эффективности трансляции такой мРНК в отношении таких нуклеиновых кислот, которые, как известно из уровня техники, используются в генотерапии для лечения или профилактики наследственных или приобретенных заболеваний, в частности,
25 рассмотренных в настоящем описании изобретения.

Эту задачу решают благодаря объектам, перечисленным в приложенной формуле изобретения. В частности, целью настоящего изобретения является в соответствии с первым аспектом последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, содержащая или кодирующая

30 а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное;
b) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов и
с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования,
предпочтительно, для повышения экспрессии указанного кодируемого пептида или
35 белка.

Альтернативно, в соответствии с настоящим изобретением во всех его аспектах и вариантах осуществления можно использовать любую подходящую последовательность структуры "стебель-петля", отличающуюся от последовательности структуры "стебель-петля" гистонов (получаемую из генов гистонов, в частности, генов гистонов семейств
40 H1, H2A, H2B, H3 и H4).

В этом контексте особенно предпочтительно, что нуклеиновую кислоту по изобретению в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения получают, по меньшей мере частично, посредством синтеза ДНК или РНК, предпочтительно, как описано в настоящем документе, или нуклеиновая кислота представляет собой
45 выделенную нуклеиновую кислоту.

Настоящее изобретение основано на неожиданном обнаружении авторами настоящего изобретения, что комбинация последовательности поли(А) или сигнала полиаденилирования и по меньшей мере одной структуры "стебель-петля" гистонов,

несмотря на то, что обе в природе являются альтернативными механизмами, действует синергически, так как эта комбинация повышает экспрессию белка значительно выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно. Синергическое действие комбинации поли(А) и по меньшей мере одной структуры "стебель-петля" гистонов отличают вне зависимости от порядка поли(А) и структуры "стебель-петля" гистонов и вне зависимости от длины последовательности поли(А).

Таким образом, особенно предпочтительной является последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, которая содержит или кодирует а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное; б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и с) последовательность поли(А) или последовательность полиаденилирования; предпочтительно, для повышения уровня экспрессии указанного кодируемого пептида или белка, где кодируемый белок, предпочтительно, не является гистоновым белком, в частности, не является гистоновым белком гистоновых семейств H4, H3, H2A и/или H2B или его фрагментом, производным или вариантом, сохраняющим гистоновую (гистоноподобную) функцию), а именно, возможность формирования нуклеосомы. Также кодируемый белок, как правило, не является линкерным гистоновым белком семейства гистонов H1. Как правило, молекула нуклеиновой кислоты по изобретению не содержит никаких регуляторных сигнальных последовательностей (с 5'-конца и/или, особенно, с 3'-конца) от гена гистона мышь, в частности, гена гистона H2A мыши, и, кроме того, наиболее предпочтительно, гена гистона H2A614 мыши. В частности, она не содержит гистон со структурой "стебель-петля" и/или сигнальную последовательность процессинга гистона со структурами "стебель-петля" из гена гистона мыши, в частности, гена гистона H2A мыши и, наиболее предпочтительно, гена гистона H2A614 мыши.

Также нуклеиновая кислота по изобретению, как правило, не содержит репортерный белок (например, люциферазу, GFP, EGFP, β -галактозидазу, в частности, EGFP), галактокиназу (galK) и/или маркерный или селективный белок (например, альфа-глобин, галактокиназу и ксантин:гуанинфосфорибозилтрансферазу (GPT)) или бактериальный репортерный белок, например, хлорамфеникол ацетилтрансферазу (CAT) или другие белки, устойчивые к бактериальным антибиотикам, например, происходящие из бактериального гена neo в его элементе (а).

Следует отметить, что репортерный, маркерный или селективный белок не является терапевтическим белком по настоящему изобретению. Репортерный, маркерный или селективный белок либо его ген обычно используют в качестве научно-исследовательского инструмента в бактериях, культурах клеток, животных или растениях. Указанные белки сообщают экспрессирующим их организмам (предпочтительно гетерологично) легко идентифицируемый признак, который может быть измерен или позволяет произвести отбор. Маркерные или селективные белки выполняют функцию отбора. Такие селективные, маркерные или репортерные белки обычно отсутствуют у человека или других млекопитающих, но указанные белки выделяют из других организмов, в частности, из бактерий или растений. Таким образом, белки, обладающие селективной, маркерной или репортерной функцией и выделенные из видов, отличных от млекопитающих, в частности, отличных от человека, предпочтительно, исключаются из определения "терапевтический белок" по настоящему изобретению. В частности, селективный, маркерный или репортерный белок позволяет идентифицировать трансформированные клетки при выполнении анализов *in vitro* при помощи флуоресцентных или других спектроскопических методов и определить

устойчивость к антибиотикам. Селективные, репортерные или маркерные гены, сообщающие такие свойства трансформированным клеткам, обычно не считаются терапевтическими белками по настоящему изобретению.

В любом случае репортерные, маркерные или селективные белки обычно не выполняют какую-либо терапевтическую функцию. Если какой-либо единичный репортерный, маркерный или селективный белок тем не менее должен выполнять такую функцию (помимо репортерной, селективной или маркерной функции), то такой репортерный, маркерный или селективный белок, предпочтительно, не является "терапевтическим белком" в значении, использованном в настоящем изобретении.

Напротив, терапевтический белок (включая его фрагменты, варианты и производные), за исключением генов гистона семейств H1, H2A, H2B, H3 и H4 по настоящему изобретению, обычно не проявляет селективного, маркерного или репортерного действия. Если какой-либо единичный "терапевтический белок" тем не менее выполняет такую функцию (помимо своих терапевтических функций), то такой терапевтический белок, предпочтительно, не является "селективным, маркерным или репортерным белком" в значении, использованном в настоящем изобретении.

Терапевтический белок по настоящему изобретению, который, наиболее предпочтительно, выделяют у млекопитающего, в частности, человека, не определяется как селективный, маркерный или репортерный белок.

Таким образом, предпочтительно, кодирующая область (a), кодирующая по меньшей мере один пептид или белок, является гетерологичной по меньшей мере (b) по меньшей мере одной структуре "стебель-петля" гистонов или, более широко, любой подходящей структуре "стебель-петля". Другими словами, "гетерологичный" в контексте настоящего изобретения означает, что по меньшей мере одна последовательность структуры "стебель-петля" не встречается в природе как (регуляторная) последовательность (например, как 3'-UTR) конкретного гена, кодирующего (терапевтический) белок или пептид, элемента (a) нуклеиновой кислоты по изобретению. Таким образом, структура "стебель-петля" (гистонов) нуклеиновой кислоты по изобретению, предпочтительно, происходит из 3'-UTR гена, отличного от гена, содержащего кодирующую область элемента (a) нуклеиновой кислоты по изобретению. Например, кодирующая область элемента (a) не кодирует гистоновый белок или его фрагмент, вариант или производное (сохраняющие функцию гистонического белка), если нуклеиновая кислота по изобретению является гетерологичной, а кодирует любой другой пептид или последовательность (того же или другого вида), который проявляет биологическое действие, предпочтительно, терапевтическую функцию, отличную от гистонического (гистоноподобного) действия, например, кодирует терапевтический белок (выполняющий терапевтическую функцию, например, в случае эндокринных нарушений, и заменяющий дефектные эндогенные белки, например, белки млекопитающего, в частности, белки человека).

В этом контексте особенно предпочтительна нуклеиновая кислота по изобретению в направлении от 5' к 3', которая содержит или кодирует:

а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное;

б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, необязательно без нижерасположенного элемента гистона (HDE) с 3'-конца от структуры "стебель-петля" гистонов;

с) последовательность поли(A) или сигнал полиаденилирования.

Термин "нижерасположенный элемент гистона (HDE)" относится к

полинуклеотидному участку, богатому пуринами, длиной приблизительно от 15 до 20 нуклеотидов с 3'-конца от природных структур "стебель-петля" гистонов, который представляет собой участок связывания мРНК U7, вовлеченной в процессинг пре-мРНК гистонов в зрелую мРНК гистонов. Например, у морских ежей HDE представляет собой CAAGAAAGA (Dominski, Z. and W.F. Marzluff (2007), Gene 396(2): 373-90).

Кроме того, предпочтительно, чтобы нуклеиновая кислота по настоящему изобретению в первом аспекте не содержала интрон.

В другом конкретном предпочтительном варианте осуществления последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению в первом аспекте настоящего изобретения в направлении от 5'-конца к 3'-концу содержит или кодирует:

а) кодирующую область, предпочтительно, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное;

б) последовательность поли(А) и

с) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов.

Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению по первому варианту осуществления настоящего изобретения содержит любую подходящую нуклеиновую кислоту, например, выбранную из любой (одноцепочечной или двухцепочечной) ДНК, предпочтительно, без ограничения ими, например, из геномной ДНК, плазмидной ДНК, одноцепочечных молекул ДНК, двухцепочечных молекул ДНК, или ее можно выбирать, например, из любых ПНК (пептидные нуклеиновые кислоты), или ее можно выбирать, например, из любой (одноцепочечной или двухцепочечной) РНК, предпочтительно, матричной РНК (мРНК); и т.д. Также последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержать вирусную РНК (вРНК). Однако последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может не быть вирусной РНК или может не содержать вирусной РНК. Более конкретно, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может не содержать элементов вирусных последовательностей, например, вирусных энхансеров, или вирусных промоторов (например, не содержать инактивированного вирусного промотора или элементов последовательностей, более конкретно, не инактивированных посредством стратегий замен), или других элементов вирусных последовательностей, или последовательностей нуклеиновых кислот вирусов или ретровирусов. Более конкретно, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может не быть ретровирусным или вирусным вектором или модифицированным ретровирусным или вирусным вектором.

В любом случае, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержать или не содержать энхансерную и/или промоторную последовательности, которые могут быть модифицированными или нет или которые могут быть активированными или нет. Энхансер и/или промотор могут быть экспрессируемыми или неэкспрессируемыми у растений, и/или экспрессируемыми или неэкспрессируемыми у эукариот, и/или экспрессируемыми или неэкспрессируемыми у прокариот. Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержать последовательность, кодирующую (самосплайсируемый) рибозим, или нет.

В конкретных вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может представлять собой или может содержать самореплицирующуюся РНК (репликон).

Предпочтительно, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению представляет собой плазмидную ДНК или РНК, в частности, мРНК.

В конкретных вариантах осуществления первого аспекта настоящего изобретения

нуклеиновая кислота по изобретению представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, содержащуюся в нуклеиновой кислоте, подходящей для транскрипции *in vitro*, в частности, в подходящем векторе для транскрипции *in vitro* (например, в плазмиде или в линейной последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей специфические промоторы для транскрипции *in vitro*, такие как промоторы T3, T7 или Sp6).

В дополнительных конкретных предпочтительных вариантах осуществления первого аспекта настоящего изобретения нуклеиновая кислота по изобретению содержится в нуклеиновой кислоте, подходящей для транскрипции и/или трансляции в экспрессирующей системе (например, в экспрессирующем векторе или плазмиде), в частности, в прокариотической (например, бактерии, такие как *E. coli*) или эукариотической (например, клетки млекопитающих, такие как клетки CHO, дрожжевые клетки или клетки насекомых, или целые организмы, такие как растения или животные) экспрессирующей системе.

Термин "экспрессирующая система" означает систему (культуру клеток или целые организмы), которая подходит для продукции пептидов, белков или РНК, особенно мРНК (рекомбинантная экспрессия).

Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению в первом аспекте настоящего изобретения содержит или кодирует по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов. Вообще, структура "стебель-петля" (вне зависимости от того, является ли она структурой "стебель-петля" гистонов или нет) может встречаться в одноцепочечной ДНК или, более часто, в РНК. Структура также известна как шпилька или петля шпильки и, как правило, состоит из стебля и (концевой) петли в пределах непрерывной последовательности, где стебель формируется двумя соседними полностью или частично обратными комплементарными последовательностями, разделенными короткой последовательностью в качестве своего рода спейсера, который формирует петлю структуры "стебель-петля". Две соседних полностью или частично обратных комплементарных последовательности можно определять, например, как элементы структуры "стебля-петли" стебель1 и стебель2. Структура "стебель-петля" формируется, когда эти две соседних полностью или частично обратных комплементарных последовательности, например, элементы структуры "стебель-петля" стебель1 и стебель2, формируют пары оснований друг с другом, что приводит к образованию участка двухцепочечной последовательности нуклеиновой кислоты, содержащего на своем конце неспаренную петлю, сформированную короткой последовательностью, расположенной между элементами структуры "стебель-петля" стебель1 и стебель2 на непрерывной последовательности. Таким образом, неспаренная петля, как правило, представляет собой область нуклеиновой кислоты, которая не способна к спариванию оснований ни с каким из этих элементов структуры "стебель-петля". Полученная в результате структура в форме леденца на палочке представляет собой ключевой структурный элемент многих вторичных структур РНК. Таким образом формирование структуры "стебель-петля" зависит от стабильности образующихся областей стебля и петли, где первым необходимым условием, как правило, является присутствие последовательностей, которая может загибаться сама на себя с формированием спаренной двойной цепи. Стабильность спаренных элементов структуры "стебель-петля" определяется длиной, количеством содержащихся в ней несоответствий или выпетливаний (небольшое количество несоответствий, как правило, допустимо, особенно в большом двухцепочечном участке) и составом оснований спаренной области. В контексте настоящего изобретения, допустима длина петли от 3 до 15 оснований, хотя

более предпочтительная длина петли составляет 3-10 оснований, более предпочтительно, от 3 до 8, от 3 до 7, от 3 до 6 или, еще более предпочтительно, от 4 до 5 оснований, и наиболее предпочтительно, 4 основания. Длина последовательности стебля, формирующей двухцепочечную структуру, как правило, составляет от 5 до 10 оснований, более предпочтительно, от 5 до 8 оснований.

В контексте настоящего изобретения, структура "стебель-петля" гистонов, как правило, происходит из генов гистонов (например, гены семейств гистонов H1, H2A, H2B, H3, H4) и содержит внутримолекулярное спаривание оснований двух соседних полностью или частично обратно комплементарных последовательностей, таким образом, формируя структуру "стебель-петля". Как правило, 3'-UTR структура "стебель-петля" гистонов представляет собой элемент РНК, вовлеченный в ядерно-цитоплазматический транспорт мРНК гистонов и в регуляцию стабильности и эффективности трансляции в цитоплазме. В мРНК генов гистонов многоклеточных отсутствует полиаденилирование и поли-А хвост, вместо этого 3'-концевой процессинг происходит в участке между этими высококонсервативными структурой "стебель-петля" и богатой пуринами областью приблизительно на 20 нуклеотидов ниже (нижерасположенный элемент гистона, или HDE). Структуру "стебель-петля" гистонов связывает связывающий структуру "стебель-петля" белок массой 31 кДа (SLBP, также называемый связывающий шпильку гистонов белок или HBP). Такие структуры "стебель-петля" гистонов, предпочтительно, используют в настоящем изобретении в комбинации с другими элементами и структурами последовательностей, которые не встречаются в природе (что означает у нетрансформированных живых организмов/клеток) в генах гистонов, но которые комбинируют - по изобретению - для получения искусственной, гетерологичной нуклеиновой кислоты. Таким образом, настоящее изобретение, в частности, основано на том открытии, что искусственная (неприродная) комбинация структуры "стебель-петля" гистонов с другими гетерологичными элементами последовательностей, которые не встречаются в генах гистонов или генах гистонов многоклеточных и выделены из функциональных и/или регуляторных областей последовательностей (влияющих на транскрипцию и/или трансляцию) генов, кодирующих белки, отличные от гистонов, обеспечивает благоприятное действие. Таким образом, в одном из аспектов изобретения предоставлена комбинация структуры "стебель-петля" гистонов с последовательностью поли(А) или последовательностью, представляющей сигнал полиаденилирования (с 3'-конца от кодирующей области), которая не встречается в генах гистонов многоклеточных.

Другим предпочтительным аспектом изобретения является комбинация структура "стебель-петля" гистонов с кодирующей областью, кодирующей терапевтический белок, который, предпочтительно, отсутствует в генах гистона многоклеточных (кодирующая область и последовательность структуры "стебель-петля" гистонов являются гетерологичными). Желательно, чтобы такие терапевтические белки присутствовали в природе в организме млекопитающих, предпочтительно, человека. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения все элементы (а), (b) и (с) нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению являются гетерологичными в отношении друг друга и объединены искусственно из трех разных источников, например, (а) кодирующая область терапевтического белка гена человека, (b) структура "стебель-петля" гистонов из нетранслированной области многоклеточного, например, гена гистона млекопитающего, отличного от человека, или человека и (с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования, например, из нетранслированной области гена, отличного от гена гистона и отличного от гена, кодирующего терапевтический

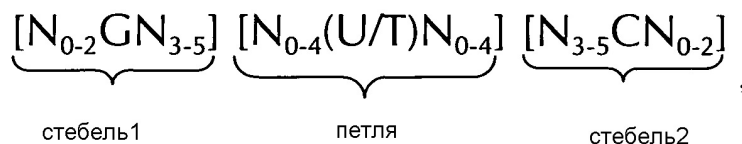
белок, являющийся элементом (а) нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению.

Таким образом, структура "стебель-петля" гистонов представляет собой структуру "стебель-петля", как описано в настоящем документе, которая, если предпочтительно, функционально определена, проявляет/сохраняет свойство связывания с ее природным партнером по связыванию, связывающим структуру "стебель-петля" белком (SLBP, также называемым связывающим шпильку гистонов белком или HBP).

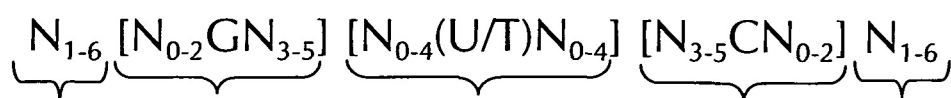
По настоящему изобретению последовательность структуры "стебель-петля" гистонов в соответствии с компонентом (b) по п. 1 может не происходить из гистонного белка мышцы. Более конкретно, последовательность структуры "стебель-петля" гистонов может не происходить из гена гистона H2A614 мышцы. Также, нуклеиновая кислота по изобретению может не содержать ни последовательности структуры "стебель-петля" гистонов мышцы, ни гена гистона H2A614 мышцы. Кроме того, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может не содержать сигнал процессинга структуры "стебель-петля", более конкретно, сигнал процессинга гистонов мышцы и, точнее говоря, может не содержать сигнал процессинга структуры "стебель-петля" H2kA614 мышцы, даже если последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержать по меньшей мере один ген гистона млекопитающих. Однако по меньшей мере один ген гистона млекопитающих может не представлять собой SEQ ID NO: 7 из WO 01/12824.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления первого аспекта изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению содержит или кодирует по меньшей мере одну последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, предпочтительно, по меньшей мере по одной из следующих формул (I) или (II):

формула (I) (последовательность структуры "стебель-петля" без граничащих со стеблем элементов):



формула (II) (последовательность структуры "стебель-петля" с граничащими со стеблем элементами):



где:

граница со стеблем1 или стеблем2 элементы N_{1-6} представляют собой

непрерывные последовательности из N в количестве от 1 до 6, предпочтительно, от 2 до 6, более предпочтительно, от 2 до 5, еще более предпочтительно, от 3 до 5, наиболее предпочтительно, от 4 до 5 или 5, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов;

стебель1 $[N_{0-2}GN_{3-5}]$ является обратно комплементарным или частично обратно

комплементарным с элементом стебель2 и представляет собой непрерывную последовательность длиной от 5 до 7 нуклеотидов;

где N_{0-2} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 0 до 2, предпочтительно, от 0 до 1, более предпочтительно, 1, где каждый N независимо

от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, T, G и С или аналогов этих нуклеотидов;

где N_{3-5} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 3 до 5, предпочтительно, от 4 до 5, более предпочтительно, 4, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, T, G и С или аналогов этих нуклеотидов, и

где G представляет собой гуанозин или его аналог и необязательно может быть замещен цитидином или его аналогом, при условии, что комплементарный ему нуклеотид цитидин в стебле2 замещен гуанозином;

последовательность петли $[N_{0-4}(U/T)N_{0-4}]$ расположена между элементами стебель1 и стебель2, и представляет собой непрерывную последовательность из нуклеотидов в количестве от 3 до 5, более предпочтительно, из 4 нуклеотидов;

где каждая N_{0-4} не зависит от другой непрерывной последовательности из N в количестве от 0 до 4, предпочтительно, от 1 до 3, более предпочтительно, от 1 до 2, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, T, G и С или аналогов этих нуклеотидов; и

где U/T представляет собой уридин или необязательно тимидин;

стебель2 $[N_{3-5}CN_{0-2}]$ является обратно комплементарным или частично обратно

комплементарным с элементом стебель1 и представляет собой непрерывную последовательность из нуклеотидов в количестве от 5 до 7;

где N_{3-5} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 3 до 5, предпочтительно, от 4 до 5, более предпочтительно, 4, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, T, G и С или аналогов этих нуклеотидов;

где N_{0-2} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 0 до 2, предпочтительно, от 0 до 1, более предпочтительно, 1, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, T, G или С или аналогов этих нуклеотидов; и

где С представляет собой цитидин или его аналог и необязательно может быть замещен гуанозином или его аналогом при условии, что комплементарный ему нуклеотид гуанозин в стебле1 замещен цитидином;

где

стебель1 и стебель2 способны к спариванию оснований друг с другом с формированием обратно комплементарной последовательности, где спаривание оснований может происходить между стеблем1 и стеблем2, например, посредством спаривания оснований по Уотсону-Крику нуклеотидов А и U/T или G и С или посредством не уотсон-криковского спаривания оснований, например, спаривания неоднозначных пар оснований, обратного спаривания оснований по Уотсону-Крику, хугстиновского спаривания оснований, обратного хугстиновского спаривания оснований, или они способны к спариванию оснований друг с другом с формированием частично обратно комплементарной последовательности, где между стеблем1 и стеблем2 может происходить неполное спаривание оснований на основании того, что одно или несколько оснований в одном из стеблей не имеют комплементарного основания в обратном комплементарной последовательности другого стебля.

В указанном выше контексте спаривание неоднозначных пар оснований, как правило, представляет собой не уотсон-криковское спаривание оснований двух нуклеотидов. В контексте настоящего изобретения четыре основные неоднозначные пары оснований,

которые можно использовать, представляют собой гуанозин-уридин, инозин-уридин, инозин-аденозин, инозин-цитидин (G-U/T, I-U/T, I-A и I-C) и аденозин-цитидин (A-C).

Таким образом, в контексте настоящего изобретения, неоднозначное основание представляет собой основание, которое формирует неоднозначную пару оснований с другим основанием, как описано выше. Таким образом, в стебле структуры "стебель-петля" гистонов по настоящему изобретению может встречаться не уотсон-криковское спаривание оснований, например, спаривание неоднозначных пар оснований.

В указанном выше контексте частично обратно комплементарная последовательность в структуре стебля последовательности структуры "стебель-петля" содержит максимально 2, предпочтительно, только одно несоответствие, формируемое спариванием оснований стебля1 и стебля2. Другими словами, стебель1 и стебель2, предпочтительно, способны к (полному) спариванию оснований друг с другом на всем протяжении всех последовательностей стебель1 и стебель2 (100% из возможных корректных уотсон-криковских или не уотсон-криковских спариваний оснований), таким образом, формируя обратно комплементарную последовательность, где каждое основание имеет свое корректное уотсон-криковское или не уотсон-криковское дополнительное основание в качестве комплементарного партнера по связыванию. Альтернативно, стебель1 и стебель2, предпочтительно, способны к частичному спариванию оснований друг с другом на всем протяжении всех последовательностей стебель1 и стебель2, где по меньшей мере приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% из 100% возможных корректных уотсон-криковских или не уотсон-криковских спариваний оснований участвуют в корректном уотсон-криковском или не уотсон-криковском спаривании оснований, а максимум приблизительно 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% из оставшихся оснований являются неспаренными.

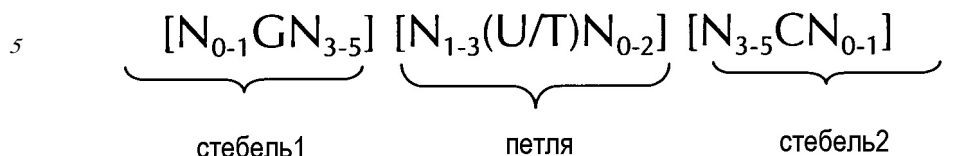
В предпочтительно варианте осуществления первого аспекта изобретения по меньшей мере одна последовательность структуры "стебель-петля" гистонов (с граничащими со стеблем элементами) длина последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, составляет приблизительно от 15 до приблизительно 45 нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 15 до приблизительно 40 нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 15 до приблизительно 35 нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 15 до приблизительно 30 нуклеотидов и еще более предпочтительно, приблизительно от 20 до приблизительно 30, а наиболее предпочтительно, приблизительно от 24 до приблизительно 28 нуклеотидов.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения по меньшей мере длина одной последовательности структуры "стебель-петля" гистонов (без граничащих со стеблем элементов) последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, составляет приблизительно от 10 до приблизительно 30 нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 10 до приблизительно 20 нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 12 до приблизительно 20 нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 14 до приблизительно 20 нуклеотидов и еще более предпочтительно, приблизительно от 16 до приблизительно 17, а наиболее предпочтительно, приблизительно 16 нуклеотидов.

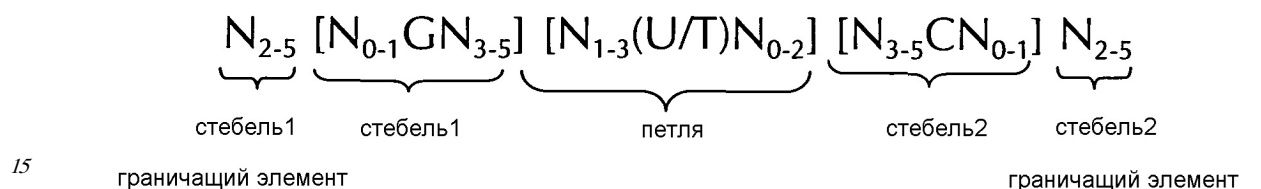
В дополнительном предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению в первом аспекте настоящего изобретения может содержать или кодировать по меньшей мере одну последовательность структуры "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по

одной из следующих определенных формул (Ia) или (IIa):

формула (Ia) (последовательность структуры "стебель-петля" без граничащих со стеблем элементов):



формула (IIa) (последовательность структуры "стебель-петля" с граничащими со стеблем элементами):

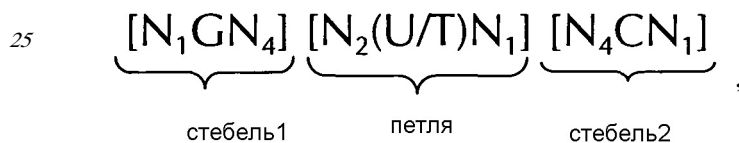


где:

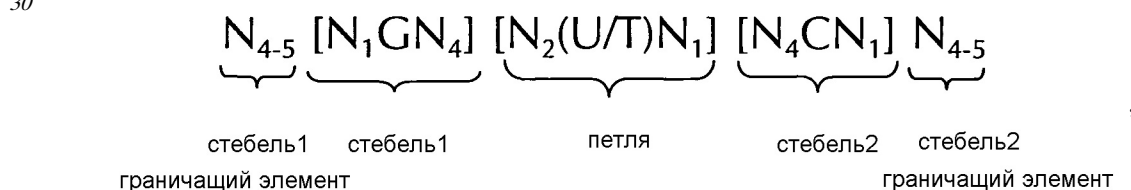
N, C, G, T и U являются такими, как определено выше.

В дополнительном еще более предпочтительном варианте первого аспекта последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержать или кодировать по меньшей мере одну последовательность структуры "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по одной из следующих определенных формул (Ib) или (IIb):

формула (Ib) (последовательность структуры "стебель-петля" без граничащих со стеблем элементов):



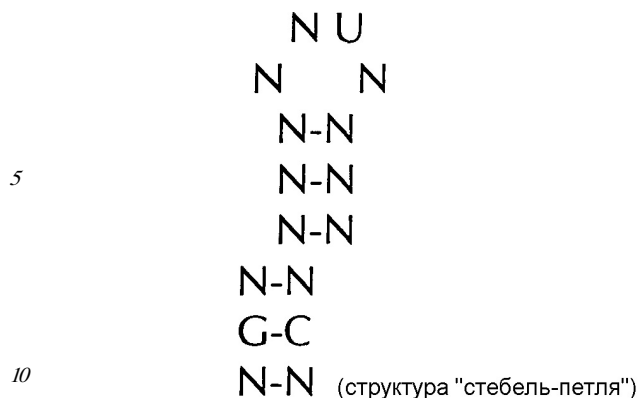
формула (IIb) (последовательность структуры "стебель-петля" с граничащими со стеблем элементами):



где: N, C, G, T и U являются такими, как определено выше.

В еще более предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению первого аспекта настоящего изобретения может содержать или кодировать по меньшей мере одну последовательность структуры "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по одной из следующих определенных формул (Ic)-(Ih) или (IIc)-(IIh), альтернативно представленной в виде ее структуры "стебель-петля" и в виде линейной последовательности, представляющей последовательности структур "стебель-петля" гистонов как получают в соответствии с Примером 1:

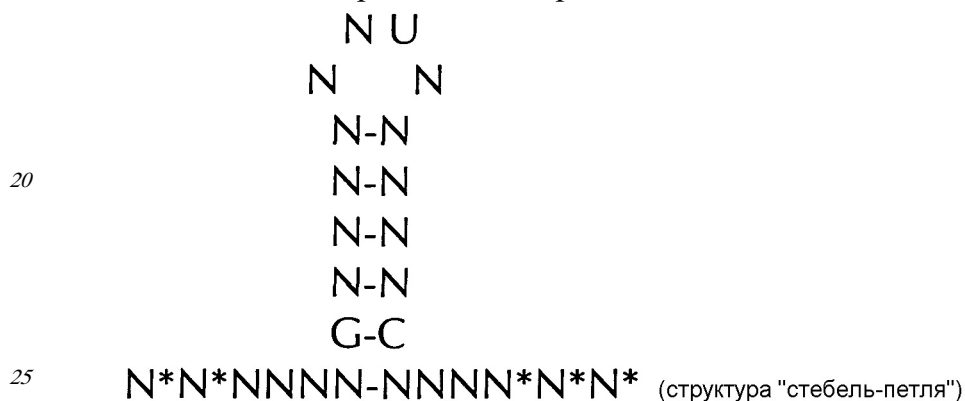
формула (Ic): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов многоклеточных и простейших без граничащих со стеблем элементов):



NGNNNNNNUNNNNNNCN

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 1),

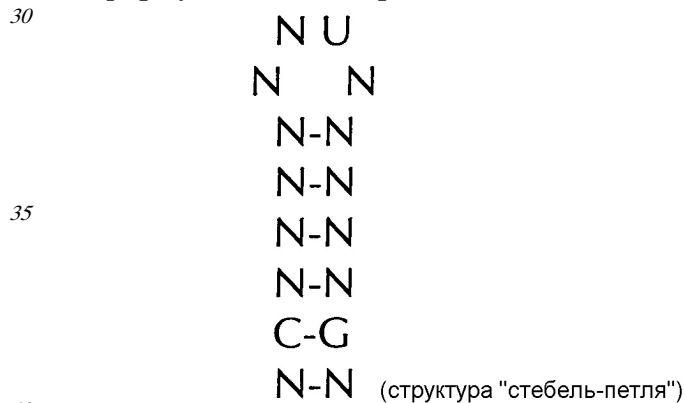
15 формула (Ic): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 многоклеточных и простейших с граничащими со стеблем элементами):



N*N*NNNNGNNNNNNUNNNNNNCNNNN*N*N*

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 2),

30 формула (Id): (без граничащих со стеблем элементов)



NCNNNNNNUNNNNNNGN

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 3),

формула (IId): (с граничащими со стеблем элементами)

45

N U
 N N
 N-N
 N-N
 N-N
 N-N
 C-G

5

10

N*N*NNNN-NNNN*N*N* (структура "стебель-петля")

N*N*NNNNNCNNNNNNNNUNNNNNNGNNNN*N*N*

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 4),

формула (Ie): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов

15 простейших без граничащих со стеблем элементов)

N U
 N N
 N-N
 N-N
 N-N
 N-N
 G-C
 D-H

20

25

(структура "стебель-петля")

DGNNNNNNUNNNNNCH

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

формула (Ie): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов

30 простейших с граничащими со стеблем элементами)

N U
 N N
 N-N
 N-N
 N-N
 N-N
 G-C

35

40

N*N*NNND-HNNN*N*N* (структура "стебель-петля")

N*N*NNNDGNNNNNNUNNNNNCHNNN*N*N*

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 6),

45 формула (If): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
многоклеточных без граничащих со стеблем элементов)

N U
 N N
 Y-V
 Y-N
 B-D
 N-N
 G-C
 N-N (структура "стебель-петля")

NGNBYYNNUNVNDNCN

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 7),

формула (If): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 многоклеточных с граничащими со стеблем элементами)

N U
 N N
 Y-V
 Y-N
 B-D
 N-N
 G-C

N*N*NNNNN-NNNN*N*N* (структура "стебель-петля")

N*N*NNNNGNBYYNNUNVNDNCNNNNN*N*N*

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 8)

формула (Ig): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 позвоночных без граничащих со стеблем элементов)

N U
 D H
 Y-A
 Y-B
 Y-R
 H-D
 G-C
 N-N (структура "стебель-петля")

NGHYYYDNUHABRDCN

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 9),

формула (Ig): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 позвоночных с граничащими со стеблем элементами)

N U
D H
Y-A
Y-B
Y-R
H-D
G-C

5

10

N*N*HNNN-NNNN*N*H* (структура "стебель-петля")

N*N*HNNNGHYYYDNUHABRDCNNNN*N*H*

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 10),

15

формула (Ih): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов человека (*Homo sapiens*) без граничащих со стеблем элементов)

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

20

25

(структура "стебель-петля")

DGHYCUDYUHASRRCC

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 11),

30

формула (Ih): (консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов человека (*Homo sapiens*) с граничащими со стеблем элементами)

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

35

40

N*H*AAHD-CVHB*N*H* (структура "стебель-петля")

N*H*AAHDGHYCUDYUHASRRCCVHB*N*H*

(линейная последовательность) (SEQ ID NO: 12),

45

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

N, C, G, A, T и U являются такими, как определено выше;

каждый U можно замещать T;

каждый (высоко)консервативный G или C в элементах стебля 1 и 2 можно замещать комплементарным ему нуклеотидным основанием C или G, при условии, что

комплементарный ему нуклеотид в соответствующем стебле параллельно замещен комплементарным ему нуклеотидом; и/или

G, A, T, U, C, R, Y, M, K, S, W, H, B, V, D и N представляют собой нуклеотидные основания, как определено в следующей таблице:

5

Сокращение	Нуклеотидные основания	Примечание
G	G	Гуанин
A	A	Аденин

10

T	T	Тимин
U	U	Урацил
C	C	Цитозин
R	G или A	Пурин
Y	T/U или C	Пиримидин
M	A или C	Амино
K	G или T/U	Кето
S	G или C	Сильное (3Н-связи)
W	A или T/U	Слабое (2Н-связи)
H	A или C или T/U	Не G
B	G или T/U или C	Не A
V	G или C или A	Не T/U
D	G или A или T/U	Не C
N	G или C или T/U или A	Любое основание
*	Присутствует или нет	Основание может присутствовать или нет

15

20

В этом контексте особенно предпочтительно, чтобы последовательность структуры "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по одной из формул (I) или (Ia)-(Ih), или (II), или (IIa)-(IIh) по настоящему изобретению была выбрана из природных последовательностей структур "стебель-петля" гистонов, еще более предпочтительно, из последовательностей структур "стебель-петля" гистонов простейших или многоклеточных, и даже еще более предпочтительно, из последовательностей структур "стебель-петля" гистонов позвоночных, а наиболее предпочтительно, млекопитающих, особенно из последовательностей структур "стебель-петля" гистонов человека.

30

В особенно предпочтительном варианте осуществления первого аспекта последовательность структуры "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по одной из определенных формул (I) или (Ia)-(Ih) или (II) или (IIa)-(IIh) по настоящему изобретению представляет собой последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, в каждом положении нуклеотида содержащая наиболее часто встречающийся нуклеотид или любой из наиболее часто встречающегося или второго по частоте встречаемости нуклеотида природных последовательностей структур "стебель-петля" гистонов многоклеточных и простейших (фиг. 1), простейших (фиг. 2), многоклеточных (фиг. 3), позвоночных (фиг. 4) и человека (фиг. 5), как представлено на фиг. 1-5. В этом контексте особенно предпочтительно, чтобы по меньшей мере 80%, предпочтительно, по меньшей мере 85% или, наиболее предпочтительно, по меньшей мере 90% всех нуклеотидов соответствовали нуклеотидам, наиболее часто встречающимся в природных последовательностях структур "стебель-петля" гистонов.

40

В дополнительном конкретном варианте первого аспекта последовательность структуры "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по одной из конкретных формул (I) или (Ia)-(Ih) по настоящему изобретению выбрана из приведенных ниже последовательностей структур "стебель-петля" гистонов (без граничащих со стеблем элементов), представляющих последовательности структур "стебель-петля" гистонов, как получено в соответствии с примером 1:

45

VGYYYYYHHHTRVVR CB (SEQ ID NO: 13 по формуле (Ic));
 SGYYT TTYTMARRRCS (SEQ ID NO: 14 по формуле (Ic));
 SGYYCTTTT MAGRRCS (SEQ ID NO: 15 по формуле (Ic));
 DGNNBNBNTHVNNNCH (SEQ ID NO: 16 по формуле (Ie));
 5 RGNNNYHBTHRDNNCY (SEQ ID NO: 17 по формуле (Ie));
 RGNDBYHYTHRDHNCY (SEQ ID NO: 18 по формуле (Ie));
 VGYYYTYHTRVRRCB (SEQ ID NO: 19 по формуле (If));
 SGYYCTTYTMAGRRCS (SEQ ID NO: 20 по формуле (If));
 SGYYCTTTT MAGRRCS (SEQ ID NO: 21 по формуле (If));
 10 GGYCTTYTHAGRRCC (SEQ ID NO: 22 по формуле (Ig));
 GGCYCTTYTMAGRGCC (SEQ ID NO: 23 по формуле (Ig));
 GGCTCTTTT MAGRGCC (SEQ ID NO: 24 по формуле (Ig));
 DGHYCTDYTHASRRCC (SEQ ID NO: 25 по формуле (Ih));
 GGCYCTTTT HAGRGCC (SEQ ID NO: 26 по формуле (Ih));
 15 GGCYCTTTT MAGRGCC (SEQ ID NO: 27 по формуле (Ih)).

Кроме того, в этом контексте особенно предпочтительными являются приведенные ниже последовательности структур "стебель-петля" гистонов (с граничащими со стеблем элементами), как получено в соответствии с примером 1 по одной из определенных формул (II) или (IIa)-(IIh):

20 H*N*HHVVGYYYYHHHTRVVR CBVHH*N*N* (SEQ ID NO: 28 по формуле (IIc));
 M*N*MHMSGYYYT TTYTMARRRCSMCH*N*N* (SEQ ID NO: 29 по формуле (IIc));
 M*M*MMMSGYYCTTTT MAGRRCSACH*M*N* (SEQ ID NO: 30 по формуле (IIc));
 N*N*NNNDGNNBNBNTHVNNNCHNHN*N*N* (SEQ ID NO: 31 по формуле (IIe));
 N*N*HHNRGNNNYHBTHRDNNCYDHH*N*N* (SEQ ID NO: 32 по формуле (IIe));
 25 N*N*HHVRGNDBYHYTHRDHNCYRHH*N*N* (SEQ ID NO: 33 по формуле (IIe));
 H*N*MHMGYYYTYHTRVRRCBVMH*N*N* (SEQ ID NO: 34 по формуле (IIf));
 M*M*MMMSGYCTTYTMAGRRCSMCH*N*N* (SEQ ID NO: 35 по формуле (IIf));
 M*M*MMMSGYCTTTT MAGRRCSACH*M*N* (SEQ ID NO: 36 по формуле (IIf));
 H*N*MAMGGYCTTYTHAGRRCCVHN*N*M* (SEQ ID NO: 37 по формуле (IIg));
 30 H*N*AAMGGCYCTTYTMAGRGCCVCH*N*M* (SEQ ID NO: 38 по формуле (IIg));
 M*M*AAMGGCTCTTTT MAGRGCCMCY*M*M* (SEQ ID NO: 39 по формуле (IIg));
 N*N*AAHDGHYCTDYTHASRRCCVHB*N*N* (SEQ ID NO: 40 по формуле (IIh));
 H*N*AAMGGCYCTTTT HAGRGCCVMY*N*M* (SEQ ID NO: 41 по формуле (IIh));
 H*M*AAAGGCYCTTTT MAGRGCCRMVY*N*M* (SEQ ID NO: 42 по формуле (IIh)).

35 В дополнительном предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению содержит или кодирует по меньшей мере одну последовательность структуры "стебель-петля" гистонов демонстрирующую по меньшей мере приблизительно 80%, предпочтительно, по меньшей мере приблизительно 85%, более предпочтительно, по меньшей мере приблизительно
 40 90% или еще более предпочтительно, по меньшей мере приблизительно 95% идентичности последовательности не со 100% консервативных нуклеотидов в последовательностях структур "стебель-петля" гистонов по меньшей мере по одной из определенных формул (I) или (Ia)-(Ih) или (II) или (IIa)-(IIh) или с природной последовательностью структуры "стебель-петля" гистонов.

45 В предпочтительном варианте осуществления последовательность структуры "стебель-петля" гистонов не содержит последовательность петли 5'-UUUC-3'. Более конкретно, структура "стебель-петля" гистонов не содержит последовательность стебель1 5'-GGCUCU-3' и/или последовательность стебель2 5'-AGAGCC-3',

соответственно. В другом предпочтительном варианте осуществления последовательность структуры "стебель-петля" не содержит последовательность петли 5'-CCUGCCC-3' или последовательность петли 5'-UGAAU-3'. Более конкретно, стебель-петля не содержит последовательность стебеля 1 5'-CCUGAGC-3' или не содержит последовательность стебеля 2 5'-GCUCAGG-3' или 5'-UGGAGAAAGGU-3', соответственно. Также, поскольку изобретение конкретно не ограничено последовательностями структур "стебель-петля" гистонов, последовательности структур "стебель-петля" предпочтительно, не происходят из 3'-нетранслируемой области рецептора инсулина млекопитающих. Также предпочтительно, нуклеиновая кислота по изобретению может не содержать сигналы процессинга структур "стебель-петля" гистонов, в частности, не содержать сигналы процессинга структур "стебель-петля" гистонов, происходящие из гена гистона H2A614 мыши (H2kA614).

Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению в первом аспекте настоящего изобретения, необязательно, может содержать или кодировать последовательность поли(А). Если присутствует, то такая последовательность поли(А) содержит последовательность длиной приблизительно от 25 до приблизительно 400 аденозиновых нуклеотидов, предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 30 или, более предпочтительно, приблизительно от 50 до приблизительно 400 аденозиновых нуклеотидов, более предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 50 до приблизительно 300 аденозиновых нуклеотидов, еще более предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 50 до приблизительно 250 аденозиновых нуклеотидов, наиболее предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 60 до приблизительно 250 аденозиновых нуклеотидов. В этом контексте термин "приблизительно" относится к отклонению $\pm 10\%$ от значения(ий), к которому он добавлен. Таким образом, последовательность поли(А) содержит по меньшей мере 25 или более чем 25, более предпочтительно, по меньшей мере 30, более предпочтительно, по меньшей мере 50 аденозиновых нуклеотидов. Таким образом, такая последовательность поли(А), как правило, не содержит менее 20 аденозиновых нуклеотидов. Более конкретно, последовательность не содержит 10 и/или менее 10 аденозиновых нуклеотидов.

Предпочтительно, нуклеиновая кислота по настоящему изобретению не содержит одного или двух, или по меньшей мере одного или всех, но один или все из компонентов из группы, состоящей из: последовательности, кодирующей рибозим (предпочтительно, самосплайсируемый рибозим), вирусной последовательности нуклеиновой кислоты, сигнала процессинга структуры "стебель-петля" гистонов, в частности, последовательности процессинга структуры "стебель-петля" гистонов, происходящей из гена гистона H2A614 мыши, гена Neo, инактивированной промоторной последовательности и инактивированной энхансерной последовательности. Еще более предпочтительно, нуклеиновая кислота по изобретению не содержит рибозима, предпочтительно, самосплайсируемого рибозима, и одного элемента из группы, состоящей из: гена Neo, инактивированной промоторной последовательности, инактивированной энхансерной последовательности, сигнала процессинга структуры "стебель-петля" гистонов, в частности, последовательности процессинга структуры "стебель-петля" гистонов, происходящей из гена гистона H2A614 мыши. Таким образом, нуклеиновая кислота в предпочтительном варианте осуществления может не содержать ни рибозима, предпочтительно, самосплайсируемого рибозима, ни гена Neo или, альтернативно, ни рибозима, предпочтительно, самосплайсируемого рибозима, ни

какого-либо гена устойчивости (например, как правило, используемого для отбора). В другом предпочтительном варианте осуществления нуклеиновая кислота по изобретению может не содержать ни рибозима, предпочтительно, самосплайсируемого рибозима, ни сигнала процессинга структуры "стебель-петля" гистонов, в частности, последовательности процессинга структуры "стебель-петля" гистонов, происходящей из гена гистона H2A614 мыши.

Альтернативно, в первом аспекте настоящего изобретения нуклеотидная последовательность по изобретению необязательно содержит сигнал полиаденилирования, который определен в настоящем документе как сигнал, который осуществляет полиаденилирование (транскрибируемой) мРНК посредством специфических белковых факторов (например, специфического фактора расщепления и полиаденилирования (CPSF), фактора стимуляции расщепления (CstF), факторов расщепления I и II (CF I и CF II), поли(А)-полимеразы (РАР)). В этом контексте консенсусный сигнал полиаденилирования, предпочтительно, содержит консенсусную последовательность NN(U/T)ANA. В конкретном предпочтительном аспекте сигнал полиаденилирования содержит одну из следующих последовательностей: AA(U/T)AAA или A(U/T)(U/T)AAA (где уридин, как правило, присутствует в РНК, а тимидин, как правило, присутствует в ДНК). В некоторых вариантах осуществления сигнал полиаденилирования, используемый в нуклеиновой кислоте по изобретению, не соответствует последовательностям мРНК U3, U5, сигнала процессинга полиаденилирования из гена G-CSF человека или сигнала полиаденилирования SV40. В частности, указанные выше сигналы полиаденилирования не комбинируют ни с какими генами устойчивости к антибиотикам (или какими-либо другими репортерными, маркерными или селективными генами), в частности, не с геном устойчивости нео (неомицинфосфотрансфераза) (в качестве гена кодирующей области в соответствии с элементом (а) нуклеиновой кислоты по изобретению. И в нуклеиновой кислоте по изобретению никакой из указанных выше сигналов полиаденилирования (которые, как правило, не присутствуют в нуклеиновой кислоте по изобретению), предпочтительно, не комбинируют со структурой "стебель-петля" гистонов или сигналом процессинга структуры "стебель-петля" гистонов из гена гистона H2A614 мыши.

Последовательность нуклеиновой кислоты в первом аспекте настоящего изобретения далее кодирует белок или пептид, содержащий терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное.

Терапевтические белки по настоящему изобретению являются пептидами или белками, которые оказывают благоприятное воздействие при лечении любого наследственного или приобретенного заболевания или улучшают состояние индивида. Терапевтические белки играют важную роль при создании терапевтических средств, способных наряду с другими функциями модифицировать и устранять генетические ошибки, разрушать раковые клетки или клетки, инфицированные патогенными организмами, лечить нарушения иммунной системы, лечить метаболические или эндокринные нарушения. Например, эритропоэтин (ЕРО), белковый гормон, может быть использован для лечения индивида с недостаточностью эритроцитов, что является распространенной причиной осложнений, поражающих почки. В определение терапевтических белков входят адъювантные белки и терапевтические антитела, применяемые также в гормонозаместительной терапии, например, для лечения женщин в период менопаузы. В новейших методах лечения соматические клетки индивида используют для перепрограммирования их в плюрипотентные стволовые клетки, которые заменяют вызывающее споры лечение стволовыми клетками. Указанные белки, используемые

для перепрограммирования соматических клеток или для дифференцировки стволовых клеток, определяются в настоящем описании изобретения как терапевтические белки. Терапевтические белки могут быть также использованы для других целей, например, для заживления ран, регенерации тканей, развития кровеносных сосудов и т.д.

Терапевтические белки могут быть использованы для разных целей, включая лечение разных заболеваний, таких как, например, инфекционные заболевания, новообразования (например, раковые или опухолевые заболевания), заболевания крови и кроветворных органов, заболевания эндокринной системы, заболевания, связанные с питанием и обменом веществ, заболевания нервной системы, заболевания сердечно-сосудистой системы, заболевания дыхательной системы, заболевания пищеварительной системы, заболевания кожи и подкожной ткани, заболевания костно-мышечной системы и соединительной ткани и заболевания мочеполовой системы, независимо от того, являются ли указанные заболевания наследственными или приобретенными.

В данном контексте особенно предпочтительные терапевтические белки, которые могут быть использованы наряду с прочим для лечения метаболических или эндокринных нарушений, выбраны из следующих белков: кислая сфингомиелиназа (болезнь Ниманна-Пика), адипотид (ожирение), бета-агальсидаза (галактозидаза А человека) (болезнь Фабри; предотвращает накопление липидов, которые могут вызвать осложнения, поражающие почки и сердечно-сосудистую систему), альфaglукозидаза (болезнь Помпе (гликогеновая болезнь II типа)), альфа-галактозидаза А (альфа-GAL А, альфа-агальсидаза) (болезнь Фабри), альфа-глукосидаза (гликогеновая болезнь (GSD), Morbus Pompe), альфа-L-идуронидаза (мукополисахаридозы (MPS), синдром Гурлер, синдром Шейе), альфа-N-ацетилглукосаминаза (синдром Санфилиппо), амфирегулин (рак, метаболическое нарушение), ангиопоэтин (Ang1, Ang2, Ang3, Ang4, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, ANGPTL7) (ангиогенез, укрепление сосудов), бетацеллюлин (метаболическое нарушение), бета-глукуронидаза (синдром Слая), костный морфогенетический белок (BMP) (BMP1, BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8a, BMP8b, BMP10, BMP15) (регенеративный эффект, костные заболевания, хроническое заболевание почек (CKD)), белок CLN6 (атипичная поздняя инфантильность, вариант позднего развития, раннее взросление, липофусциноз нервных клеток (NCL)), эпидермальный фактор роста (EGF) (заживление ран, регуляция роста, пролиферации и дифференцировки клеток), эпиген (метаболическое нарушение), эпирегулин (метаболическое нарушение), фактор роста фибробластов (FGF, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, FGF-16, FGF-17, FGF-18, FGF-19, FGF-20, FGF-21, FGF-22, FGF-23) (заживление ран, ангиогенез, эндокринные нарушения, регенерация тканей), галсульфаза (мукополисахаридоз VI), грелин (синдром раздраженной толстой кишки (IBS), ожирение, синдром Прадера-Вилли, сахарный диабет II типа), глюкocereбросидаза (болезнь Гоше), GM-CSF (регенеративный эффект, образование лейкоцитов, рак), гепаринсвязывающий EGF-подобный фактор роста (HB-EGF) (заживление ран, сердечная гипертрофия, развитие и функционирование сердца), фактор роста гепатоцитов (HGF) (регенеративный эффект, заживление ран), гепцидин (нарушения метаболизма железа, бета-талассемия), альбумин человека (пониженное образование альбумина (гипопротеинемия), повышенная потеря альбумина (нефротический синдром), гиповолемия гипербилирубинемия), идурсульфаз (идуронат-2-сульфатаза) (мукополисахаридоз II (синдром Гунтера)), интегрины $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ и $\alpha 5\beta 1$ (связывание макромолекул матрикса и протеиназ, ангиогенез), лудуронат-сульфатаза (синдром Гунтера), ларонидаза (формы мукополисахаридоза I Гурлера и Гурлера-Шейе), N-ацетилгалактозамин-4-сульфатаза

(rhASB, галсульфаза, арилсульфатаза А (ARSA), арилсульфатаза В (ARSB) (недостаточность арилсульфатазы В, синдром Марото-Лами, мукополисахаридоз VI), N-ацетилглюкозамин-6-сульфатаза (синдром Санфилиппо), фактор роста нервов (NGF, нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейротрофин-3 (NT-3) и нейротрофин 4/5 (NT-4/5) (регенеративный эффект, сердечно-сосудистые заболевания, атеросклероз коронарной артерии, ожирение, диабет 2 типа, метаболический синдром, острая коронарная недостаточность, слабоумие, депрессия, шизофрения, аутизм, синдром Ретта, нейрогенная анорексия, нейрогенная булимия, заживление ран, кожные язвы, язвы роговицы, болезнь Альцгеймера), нейрегулин (NRG1, NRG2, NRG3, NRG4) (метаболическое нарушение, шизофрения), нейропилин (NRP-1, NRP-2) (развитие кровеносных сосудов, центральный хроматолиз, выживание клеток, миграция клеток), обестатин (синдром раздраженной толстой кишки (IBS), ожирение, синдром Прадера-Вилли, сахарный диабет II типа), фактор роста тромбоцитов (PDGF) (PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D) (регенеративный эффект, заживление ран, нарушение развития кровеносных сосудов, артериосклероз, фиброз, рак), рецепторы бета-TGF (эндоглин, рецептор бета-TGF 1, рецептор бета-TGF 2, рецептор бета-TGF 3) (фиброз почки, почечная болезнь, диабет, последняя стадия почечной болезни (ESRD), развитие кровеносных сосудов), тромбопоэтин (THPO) (фактор роста и развития мегакариоцитов (MCDP)) (нарушения тромбоцитов, тромбоциты для переливания, восстановление числа тромбоцитов после химиотерапии, направленной на подавление функции костного мозга), трансформирующий фактор роста (TGF) (TGF-а, бета-TGF (TGFbeta1, TGFbeta2 и TGFbeta3)) (регенеративный эффект, заживление ран, иммунитет, рак, порок сердца, диабет, синдром Марфана, синдром Лосеса-Дитца), VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F и PlGF) (регенеративный эффект, развитие кровеносных сосудов, заживление ран, рак, проницаемость сосудов), незиритид (острая декомпенсированная застойная сердечная недостаточность), трипсин (пролежень, циркуляторная варикозная язва, хирургическая обработка струпа, спонтанно раскрывающаяся рана, солнечная эритема, мекониевая непроходимость кишечника), адренокортикотрофический гормон (АКТГ) (болезнь Аддисона, мелкоклеточный рак, адренолейкодистрофия, врожденная гиперплазия надпочечников, синдром Кушинга, синдром Нельсона, детские спазмы), пептид натрийуретика предсердия (ANP) (эндокринные нарушения), холецистокинин (смешанная инфекция), гастрин (гипогастринемия), лептин (диабет, гипертриглицеридемия, ожирение), окситоцин (стимулирует грудное вскармливание, медленные роды), соматостатин (симптоматическое лечение карциноидного синдрома, кровотечение из варикозно расширенных вен, акромегалия, поликистозные заболевания печени и почек, акромегалия и симптомы, вызываемые нейроэндокринными опухолями), вазопрессин (антидиуретический гормон), (несахарный диабет), кальцитонин (постклимактерический остеопороз, гиперкальциемия, болезнь Паджета, костные метастазы, фантомная боль, стеноз спинного мозга), эксенатид (диабет 2 типа, не поддающийся лечению метформином и сульфонилмочевинной), гормон роста (GH), соматотропин (замедление роста из-за недостаточности GH или хроническая почечная недостаточность, синдром Прадера-Вилли, синдром Тернера, истощение или кахексия при СПИДе при проведении антивирусной терапии), инсулин (сахарный диабет, диабетический кетоацидоз, гипертония), гииперкалиемия), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) (нарушение роста у детей при делеции гена СН или тяжелой первичной недостаточности IGF-1, нейродегенеративное заболевание, сердечно-сосудистые заболевания, сердечная недостаточность), мекасермин ринфабат, аналог IGF-1 (нарушение роста у детей при

делеции гена СН или тяжелой первичной недостаточности IGF-1, нейродегенеративное заболевание, сердечно-сосудистые заболевания, сердечная недостаточность), мекасермин, аналог IGF-1 (нарушение роста у детей при делеции гена СН или тяжелой первичной недостаточности IGF-1, нейродегенеративное заболевание, сердечно-сосудистые заболевания, сердечная недостаточность), пегвисомант (акромегалия), прамлинтид (сахарный диабет, в сочетании с инсулином), терипаратид (остатки 1-34 паратиреоидного гормона человека) (тяжелая форма остеопороза), бекаплермин (вспомогательное средство при хирургической обработке диабетических язв), альфа-дифотермин (костный морфогенетический белок 2) (хирургическое лечение артродеза позвонков, лечение переломов костей), ацетат гистрелина (гонадотропный гормон, GnRH) (преждевременное половое созревание), октреотид (акромегалия, симптоматическое лечение VIP-секретирующей аденомы и метастазирующих карциноидных опухолей) и палифермин (фактор роста кератиноцитов, KGF) (тяжелая форма воспаления слизистой оболочки полости рта у индивидов, проходящих лечение химиотерапией, заживление ран). (В скобках указано конкретное заболевание, для лечения которого использован терапевтический белок). Вышеуказанные и другие белки считаются терапевтическими, так как предназначены для лечения индивида путем замены дефектного эндогенного белка продуцированием функционального белка в достаточном количестве. Поэтому такие терапевтические белки обычно являются белками млекопитающего, в частности, белками человека.

Для лечения болезней крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов могут быть использованы следующие терапевтические белки: альтеплаза (активатор плазминогена ткани, tPA) (эмболия легочной артерии, инфаркт миокарда, инсульт, окклюзия центральной вены), анистреплаза (тромболиз), антитромбин III (АТ-III) (наследственная недостаточность АТ-III, тромбоэмболия), бивалирудин (уменьшает риск тромбообразования при реконструкции коронарных сосудов и вызванная гепарином тромбоцитопения), альфа-дарбепоедин (лечение анемии у индивидов, страдающих хронической почечной недостаточностью (+/- диализ)), альфа-дротрекотин (активированный белок С) (сильный сепсис с высоким риском смерти), эритропоэтин, альфа-эпоэтин, эритропоэтин (анемия при хроническом заболевании, миелодисплазия, анемия вследствие почечной недостаточности или химиотерапии, подготовка к операции), фактор IX (гемофилия В), фактор VIIa (кровотечение у индивидов, страдающих гемофилией А или В и ингибиторы фактора VIII или фактора IX), фактор VIII (гемофилия А), лепирудин (вызванная гепарином тромбоцитопения), концентрат белка С (тромбоз вен, молниеносная пурпура), ретеплаза (белок делеции tPA) (лечение острого инфаркта миокарда, улучшение функции желудочков сердца), стрептокиназа (острый трансмуральный инфаркт миокарда, эмболия легочной артерии, тромбоз глубоких вен, тромбоз или эмболия артерий, окклюзия артериовенозного катетера), тенектеплаза (острый инфаркт миокарда), урокиназа (эмболия легочной артерии), ангиостатин (рак), иммунотоксин против CD22 (рецидивирующий CD33+ острый миелоидный лейкоз), денилейкин дифтитокс (кожная Т-клеточная лимфома (CTCL)), иммуноцианин (рак мочевого пузыря и предстательной железы), MPS (металлопанстимулин) (рак), афиберцепт (немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), метастазирующий колоректальный рак (mCRC), невосприимчивый к гормонам метастазирующий рак предстательной железы, дегенерация желтого пятна), эндостатин (рак, воспалительные заболевания, подобные ревматоидному артриту, а также болезнь Крона, диабетическая

ретинопатия, псориаз и эндометриоз), коллагеназа (хирургическая обработка
 хронических кожных язв и сильно обожженных участков кожи, контрактура
 Дюпюитрена, болезнь Пейрони), дезоксирибонуклеаза I человека, дорназа
 (муковисцидоз; уменьшает инфекционное поражение дыхательных путей индивидов, у
 5 которых FVC превышает 40% от прогнозированного значения), гиалуронидаза
 (используется в качестве адъюванта для увеличения адсорбции и диспергирования
 инъектируемых лекарственных средств, в частности, анестезирующих средств при
 офтальмологических микрохирургических операциях, и определенных визуализирующих
 10 агентов), папаин (хирургическая обработка некротических тканей или разжижение
 отторгающихся некротических масс в случае острых и хронических поражений, таких
 как пролежни, варикозные и диабетические язвы, ожоги, послеоперационные раны,
 дермоидные фистулы, карбункулы и другие раны), L-аспарагиназа (острый лимфолейкоз,
 требующий экзогенного аспарагина для пролиферации), Peg-аспарагиназа (острый
 15 лимфолейкоз, требующий экзогенного аспарагина для пролиферации), расбуриказа
 (дети с лейкозом, лимфомой и солидными опухолями, проходящие курс противораковой
 терапии, которая может вызвать синдром лизиса опухоли), хорионический гонадотропин
 человека (HCG) (вспомогательная репродукция), фолликулостимулирующий гормон
 человека (FSH) (вспомогательная репродукция), альфа-лутропин (бесплодие из-за
 20 недостаточности лютеинизирующего гормона), пролактин (гипопролактинемия,
 недостаточность сывороточного пролактина, дисфункция яичников у женщин, состояние
 тревоги, артериогенная эректильная дисфункция, преждевременная эякуляция,
 олигоспермия, астеноспермия, гипофункция семенных пузырьков, женский ложный
 гермафродитизм у мужчин), ингибитор альфа-1-протеиназы (врожденная
 недостаточность антитрипсина), лактаза (метеоризм, вздутие, колики и диарея из-за
 25 непереваривания лактозы), ферменты поджелудочной железы (липаза, амилаза, протеаза)
 (муковисцидоз, хронический панкреатит, недостаточность поджелудочной железы,
 шунтирование желудка, непроходимость протока поджелудочной железы, стеаторея,
 медленное пищеварение, метеоризм, вздутие), аденозиндеаминаза (бычья пегадемаза,
 PEG-ADA) (тяжелая форма иммунодефицита вследствие недостаточности
 30 аденозиндеаминазы), абатацепт (ревматоидный артрит (особенно невосприимчивый к
 ингибированию TNF α)), алефацепт (бляшкообразующий псориаз), анакинра
 (ревматоидный артрит), этанерцепт (ревматоидный артрит, юношеский ревматоидный
 полиартрит, псориаз), анкилозирующий спондилоартрит, бляшкообразующий псориаз), антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL-1), анакинра
 35 (воспаление и разрушение хряща, обусловленное ревматоидным артритом), тимулин
 (нейродегенеративные заболевания, ревматизм, нейрогенная анорексия), антагонист
 альфа-TNF (аутоиммунные нарушения, такие как ревматоидный артрит,
 анкилозирующий спондилоартрит, болезнь Крона, псориаз, гидраденит, стойкая астма),
 энфувиртид (ВИЧ-1) и тимозин α 1 (гепатит В и С). (В скобках указано конкретное
 40 заболевание, при лечении которого использован данный терапевтический белок).

В определение терапевтических белков также входят адъювантные или
 иммуностимулирующие белки. Адъювантные или иммуностимулирующие белки могут
 быть использованы в настоящем изобретении для индуцирования, изменения или
 улучшения иммунной реакции у индивида для лечения конкретного заболевания или
 45 для ослабления симптомов заболевания у индивида.

Адъювантные белки могут быть выбраны из адъювантных белков млекопитающего,
 в частности, человека, которые обычно включают любой белок или пептид человека,
 способный вызывать врожденную иммунную реакцию (у млекопитающего), например,

в виде реакции связывания экзогенного лиганда TLR с TLR. Адьювантные белки человека, предпочтительно, выбраны из группы, состоящей из белков, которые являются компонентами и лигандами сигнальной сети паттерн-распознающих рецепторов, которые включают TLR, NLR, RLH, в том числе TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11; NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4, NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7, NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, IPAF, NAIP, CIITA, RIG-1, MDA5 и LGP2, трансдукторы сигналов сигнального пути TLR, включающие адапторные белки, например, Trif и Cardif; компоненты сигнального пути мелких GTPаз (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab и т.д.), компоненты сигнального пути PIP (PI3K, Src-киназы и т.д.), компоненты MyD88-зависимого сигнального пути (MyD88, IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6 и т.д.), компоненты MyD88-независимого сигнального пути (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1, IRAK1 и т.д.); активированные киназы, включающие, например, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7, ERK1, ERK2, GSK3, PKC киназы, PKD киназы, GSK3 киназы, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK и TAK1; активированные факторы транскрипции, включающие, например, NF-κB, c-Fos, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-1, Elk-1, ATF2, IRF-3, IRF-7.

Адьювантные белки млекопитающих, в частности, человека, могут быть также выбраны из группы, состоящей из белков теплового шока, таких как HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 и HSP90, gp96, фибриноген, дополнительный домен А повтора ТипIII фибронектина; компонентов системы комплемента, включающих C1q, MBL, C1r, C1s, C2b, Bb, D, MASP-1, MASP-2, C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b, C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P и CD59, или индуцированных генов-мишеней, включающих, например, бета-дефенсин, белки поверхности клетки; адьювантных белков человека, включающих trif, лиганд flt-3, Gp96 или фибронектин и т.д., или гомолога любых из вышеуказанных адьювантных белков человека.

Адьювантные белки млекопитающих, в частности, человека, могут также включать цитокины, индуцирующие или усиливающие врожденную иммунную реакцию, которые включают альфа-IL-1, бета-IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, альфа-TNF, альфа-IFN, бета-IFN, гамма-IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF; хемокины, включающие IL-8, IP-10, MCP-1, альфа-MIP-1, RANTES, эотаксин, CCL21; цитокины, высвобождаемые из макрофагов, которые включают IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 и альфа-TNF, а также IL-1R1 и альфа-IL-1.

Терапевтические белки, предназначенные для лечения болезней крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов, или адьювантные белки обычно являются белками млекопитающих, предпочтительно, человека, в зависимости от того, какое животное подлежит лечению. Например, для лечения человека предпочтительно используют терапевтические белки человека.

Адьювантные белки патогенных организмов обычно включают любые адьювантные белки патогенных организмов, способные вызывать врожденную иммунную реакцию (у млекопитающего), и предпочтительно могут быть выбраны из адьювантных белков патогенных организмов, выделяемых из бактерий, простейших, вирусов или грибов и т.д., включающих, например, бактериальные (адьювантные) белки, (адьювантные) белки простейших (например, профилиноподобный белок *Toxoplasma gondii*), вирусные (адьювантные) белки или грибные (адьювантные) белки и т.д.

Бактериальные (адьювантные) белки могут быть выбраны из группы, состоящей из бактериальных белков теплового шока или белков-компаньонов, включающих Hsp60,

Hsp70, Hsp90, Hsp100; OmpA (белок наружной мембраны) из грамотрицательных бактерий; бактериальных поринов, включающих OmpF; бактериальных токсинов, включающих коклюшный токсин (PT) из *Bordetella pertussis*, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, мутант PT-9K/129G из коклюшного токсина, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, столбнячный токсин, холерный токсин (СТ), В-субъединицу холерного токсина, мутант СТК63 из холерного токсина, мутант СТЕ112К из СТ, термолабильный энтеротоксин (LT) *Escherichia coli*, В-субъединицу из термолабильного энтеротоксина (LTB), мутанты термолабильного энтеротоксина *Escherichia coli* с уменьшенной токсичностью, включая LTK63, LTR72; модулина, растворимого в феноле; нейтрофил-активирующего белка (HP-NAP) из *Gelicobacter pylori*, поверхностно-активного белка D; липопотеина наружного белка А из *Borrelia burgdorferi*, Ag38 (антиген длиной 38 кДа) из *Mycobacterium tuberculosis*, белков из бактериальной фимбрии; энтеротоксина СТ из *Vibrio cholerae*, пилина из пили грамотрицательных бактерий, поверхностно-активного белка А и т.д., или любого гомолога вышеуказанных бактериальных (адьювантных) белков.

Бактериальные (адьювантные) белки могут также включать бактериальные флагеллины. В контексте настоящего изобретения бактериальные флагеллины могут быть выбраны из флагеллин организмов, которые включают, не ограничиваясь ими, *Agrobacterium*, *Aquifex*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bartonella*, *Bordetella*, *Borrelia*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Caulobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Helicobacter*, *Lachnospiraceae*, *Legionella*, *Listeria*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Roseburia*, *Salmonella*, *Serpulina*, *Serratia*, *Shigella*, *Treponema*, *Vibrio*, *Wolinella*, *Yersinia*, более предпочтительно, из флагеллин видов, которые включают, не ограничиваясь ими, *Agrobacterium tumefaciens*, *Aquifex pyrophilus*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bartonella bacilliformis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Borrelia burgdorferi*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Caulobacter crescentus*, *Clostridium botulinum* strain Bennett clone 1, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Lachnospiraceae* bacterium, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas syringae*, *Rhizobium meliloti*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia hominis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella bongori*, *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Serpulina hyodysenteriae*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Treponema phagedenis*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Wolinella succinogenes* и *Yersinia enterocolitica*.

(Адьювантные) белки простейших являются еще одним примером адьювантных белков патогенных организмов. (Адьювантные) белки простейших могут быть выбраны из любого белка простейших, обладающего адьювантными свойствами, более предпочтительно, из группы, в которую входят, не ограничиваясь ими, Tc52 из *Trypanosoma cruzi*, PFTG из *Trypanosoma gondii*, белки теплового шока простейших, LeIF из *Leishmania* spp., профилиноподобный белок из *Toxoplasma gondii* и т.д.

Вирусные (адьювантные) белки являются еще одним примером адьювантных белков патогенных организмов. В контексте настоящего изобретения вирусные (адьювантные) белки могут быть выбраны из любого вирусного белка, обладающего адьювантными свойствами, более предпочтительно, из группы, в которую входят, не ограничиваясь ими, гибридный гликопротеин респираторно-синцитиального вируса (F-протеин), белок оболочки вируса ММТ, белок вируса лейкоза мыши, белок гемагглютинаина вируса кори дикого типа и т.д.

Грибные (адьювантные) белки являются еще одним примером адьювантных белков патогенных организмов. В контексте настоящего изобретения грибные (адьювантные)

белки могут быть выбраны из любого грибного белка, обладающего адъювантными свойствами, более предпочтительно, из группы, состоящей из грибного иммуномодулирующего белка (FIP, LZ-8) и т.д.

И наконец, адъювантные белки могут быть также выбраны из группы, состоящей из гемоцианина лимфы улитки (KLH), OspA и т.д.

В другом варианте осуществления изобретения терапевтические белки могут быть использованы в гормонозаместительной терапии, в частности, для лечения женщин в период менопаузы. Указанные терапевтические белки, предпочтительно, выбраны из эстрогенов, прогестерона или прогестиннов и иногда из тестостерона.

Кроме того, терапевтические белки могут быть использованы для перепрограммирования соматических клеток в плюри- или омнипотентные стволовые клетки. В научной литературе описано несколько факторов, предназначенных для указанной цели, в частности, Oct-3/4, семейство Sox генов (Sox1, Sox2, Sox3 и Sox15), семейство Klf (Klf1, Klf2, Klf4 и Klf5), семейство Myc (c-myc, L-myc и N-myc), Nanog и LIN28.

Как было указано выше, в настоящем описании изобретения в качестве терапевтических белков также представлены терапевтические антитела.

Такие терапевтические антитела, предпочтительно, выбраны из антител, используемых наряду с прочим для лечения раковых или опухолевых заболеваний, как, например, 131I-тозитумаб (фолликулярная лимфома, В-клеточные лимфомы, лейкоз), 3F8 (нейробластома), 8H9, абаговомаб (рак яичника), адекватумаб (рак предстательной железы и молочной железы), афутузумаб (лимфома), алацизумаб пеголь, алемтузумаб (В-клеточный хронический лимфолейкоз, Т-клеточная лимфома), аматуксимаб, АМЕ-133v (фолликулярная лимфома, рак), AMG 102 (запущенный почечно-клеточный рак), анатумаб мафенатокс (немелкоклеточный рак легкого), аполизумаб (солидные опухоли, лейкоз, неходжкинская лимфома, лимфома), бавитуксимаб (рак, вирусные инфекции), бектумаб (неходжкинская лимфома), белимумаб (неходжкинская лимфома), бевацизумаб (рак ободочной кишки, рак молочной железы, опухоли головного мозга и центральной нервной системы, рак легкого, печечно-клеточный рак, рак почки, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак мочевого пузыря, саркома, меланома, рак пищевода, рак желудка, метастазирующий почечно-клеточный рак, рак почки, глиобластома, рак печени, пролиферативная диабетическая ретинопатия, дегенерация желтого пятна), биватузумаб мертанзин (плоскоклеточный рак), блинатумаб, брентуксимаб ведотин (рак кроветворной системы), кантузумаб (рак ободочной кишки, рак желудка, рак поджелудочной железы, NSCLC), кантузумаб мертанзин (колоректальный рак), кантузумаб равтанзин (раки), капромаб пендетид (рак предстательной железы), карлумаб, сатумахсомаб (рак яичника, новообразования маточной трубы, новообразования брюшинной полости), цетуксимаб (метастазирующий колоректальный рак, рак головы и шеи), цитатузумаб богатокс (рак яичника и другие солидные опухоли), циксутумаб (солидные опухоли), кливатузумаб тетраксетан (рак поджелудочной железы), CNTO 328 (В-клеточная неходжкинская лимфома, множественная миелома, болезнь Каслмана, рак яичника), CNTO 95 (меланома), конатумаб, дацетумаб (раки кроветворной системы), далотумаб, денозумаб (миелома, гигантоклеточная опухоль кости, рак молочной железы, рак предстательной железы, остеопороз), детумаб (лимфома), дрозитумаб, экроексимаб (злокачественная меланома), эдреколомаб (колоректальный рак), элотузумаб (множественная миелома), элсилимомаб, энаватузумаб, энситуксимаб, эпратузумаб (аутоиммунные заболевания, системная красная волчанка, неходжкинская лимфома, лейкоз), эртумаксомаб (рак

молочной железы), эртумаксумаб (рак молочной железы), этарацизумаб (меланома, рак предстательной железы, рак яичника), фарлетузумаб (рак яичника), FBTA05 (хронический лимфолейкоз), фиклатузумаб (рак), фигитумумаб (рак надпочечников, немелкоклеточный рак легкого), фланвотумаб (меланома), галиксимаб (В-клеточная лимфома), галиксимаб (неходжкинская лимфома), ганитумаб, GC1008 (запущенный почечно-клеточный рак, злокачественная меланома, пневмофиброз), гемтузумаб (лейкоз), гемтузумаб озогамидин (острый миелогенный лейкоз), гирентуксимаб (светлоклеточный рак почки), глембатумумаб ведотин (меланома, рак молочной железы), GS6624 (идиопатический пневмофиброз и солидные опухоли), HuC242-DM4 (рак ободочной кишки, рак желудка, рак поджелудочной железы), HuNMFG1 (рак молочной железы), HuN901-DM1 (миелома), ибритумумаб (рецидивирующая или резистентная низкодифференцированная фолликулярная или трансформированная В-клеточная неходжкинская лимфома (NHL)), икрукумаб, ID09C3 (неходжкинская лимфома), индатуксимаб равтанзин, инотузумаб озогамидин, интетумумаб (солидные опухоли (рак предстательной железы, меланома)), ипилимумаб (саркома, меланома, рак легкого, рак яичника, лейкоз, лимфома, опухоли головного мозга и центральной нервной системы, рак яичка, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы), иратумумаб (лимфома Ходжкина), лабетузумаб (колоректальный рак), лексатумумаб, линтузумаб, лорвотузумаб мертанзин, лукатумумаб (множественная миелома, неходжкинская лимфома, лимфома Ходжкина), лумиликсимаб (хронический лимфолейкоз), мапатумумаб (рак ободочной кишки, миелома), матузумаб (рак легкого, рак шейки матки, рак пищевода), MDX-060 (лимфома Ходжкина, лимфома), MEDI 522 (солидные опухоли, лейкоз, лимфома, рак тонкой кишки, меланома), митумумаб (мелкоклеточный рак легкого), могамулизумаб, MORab-003 (рак яичника, рак маточной трубы, рак брюшинной полости), MORab-009 (рак поджелудочной железы, мезотелиома, рак яичника, немелкоклеточный рак легкого, рак маточной трубы, рак брюшинной полости), моксетумумаб пазудотокс, MT103 (неходжкинская лимфома), наколомаб тафенатокс (колоректальный рак), наптумумаб эстафенатокс (немелкоклеточный рак легкого, почечно-клеточный рак), нарнатумаб, нецитумумаб (немелкоклеточный рак легкого), нимотузумаб (плоскоклеточный рак, рак головы и шеи, рак носоглотки, глиома), нимотузумаб (плоскоклеточный рак, глиома, солидные опухоли, рак легкого), оларатумаб, онартузумаб (рак), опортузумаб монатокс, ореговомаб (рак яичника), ореговомаб (рак яичника, рак маточной трубы, рак брюшинной полости), РАМ4 ((рак поджелудочной железы), панитумумаб (рак ободочной кишки, рак легкого, рак молочной железы, рак мочевого пузыря, рак яичника), патритумаб, пемтумумаб, пертузумаб (рак молочной железы, рак яичника, рак легкого, рак предстательной железы), притумумаб (рак головного мозга), ракотумумаб, радретумаб, рамуцирумаб (солидные опухоли), рилотумумаб (солидные опухоли), ритуксимаб (крапивница, ревматоидный артрит, неспецифический язвенный колит, хронический фокальный энцефалит, неходжкинская лимфома, лимфома, хронический лимфолейкоз), робатумумаб, самализумаб, SGN-30 (лимфома Ходжкина, лимфома), SGN-40 (неходжкинская лимфома, миелома, лейкоз, хронический лимфолейкоз), сибротузумаб, силтуксимаб, табалумаб (В-клеточные раки), такатузумаб тетраксетан, таплитумумаб паптокс, тенатумумаб, тепротумумаб (опухоли кроветворной системы), TGN1412 (хронический лимфолейкоз, ревматоидный артрит), тицилимумаб (= тремелимумаб), тигатузумаб, TNX-650 (лимфома Ходжкина), тозитумумаб (лимфома маточной трубы, В-клеточные лимфомы, лейкоз, миелома), трастузумаб (рак молочной железы, рак эндометрия, солидные опухоли), TRBS07 (меланома), тремелимумаб, TRU-016

(хронический лимфолейкоз), TRU-016 (неходжкинская лимфома), тукотузумаб
целмолейкин, ублитуксимаб, урелумаб, велтузумаб (неходжкинская лимфома),
велтузумаб (IMMU-106) (неходжкинская лимфома), волоциксимаб (почечно-клеточный
рак, рак поджелудочной железы, меланома), вотумумаб (колоректальные опухоли),
5 WX-G250 (почечно-клеточный рак), залутумумаб (рак головы и шеи, плоскоклеточный
рак) и занолимуаb (Т-клеточная лимфома);

из антител, используемых наряду с прочим для лечения иммунных нарушений, как,
например, эфализумаб (псориаз), эпратузумаб (аутоиммунные заболевания, системная
красная волчанка, неходжкинская лимфома, лейкоз), этролизумаб (воспалительное
10 заболевание кишечника), фонтолизумаб (болезнь Крона), иксекизумаб (аутоиммунные
заболевания), меполизумаб (гиперэозинофильный синдром, астма, эозинофильный
гастроэнтерит, синдром Чарга-Штрауса, эозинофильный эзофагит), милатузумаб
(множественная миелома и другие злокачественные новообразования кроветворной
системы), смешанные иммуноглобулины (первичный иммунодефицит), приликсимаб
15 (болезнь Крона, рассеянный склероз), ритуксимаб (крапивница, ревматоидный артрит,
неспецифический язвенный колит, хронический фокальный энцефалит, неходжкинская
лимфома, лимфома, хронический лимфолейкоз), ронтализумаб (системная красная
волчанка), руплизумаб (ревматические заболевания), сарилумаб (ревматоидный артрит,
анкилозирующий спондилоартрит), ведолизумаб (болезнь Крона, неспецифический
20 язвенный колит), визилизумаб (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит),
реслизумаб (воспаления дыхательных путей, кожи и желудочно-кишечного тракта),
адалимумаб (ревматоидный артрит, болезнь Крона, алкилозирующий спондилоартрит,
псориатический артрит), азелизумаб (индивиды с серьезными травмами), атинумаб
(лечение неврологических систем), атлизумаб (ревматоидный артрит, системный
25 юношеский идиопатический артрит), бертилимумаб (тяжелые аллергические нарушения),
безилесомаб (воспалительные поражения и метастазы), BMS-945429, ALD518 (рак и
ревматоидный артрит), бриакинумаб (псориаз, ревматоидный артрит, воспалительные
заболевания кишечника, рассеянный склероз), бродалумаб (воспалительные
заболевания), канакинумаб (ревматоидный артрит), канакинумаб (криопиринсвязанные
30 периодические синдромы (CAPS), ревматоидный артрит, хроническое обструктивное
заболевание легких), цертолизумаб пеголь (болезнь Крона), эрлизумаб (сердечный
приступ, инсульт, травматический шок), фезакинумаб (ревматоидный артрит, псориаз),
голимумаб (ревматоидный артрит, псориатический артрит, анкилозирующий
спондилоартрит), гомиликсимаб (аллергическая астма), инфликсимаб (ревматоидный
35 артрит, болезнь Крона, анкилозирующий спондилоартрит, псориатический артрит,
бляшкообразующий псориаз, болезнь Бехтерева, неспецифический язвенный колит),
маврилимумаб (ревматоидный артрит), натализумаб (рассеянный склероз), окрелизумаб
(рассеянный склероз, ревматоидный артрит, красная волчанка, рак кроветворной
системы), одулимомаб (профилактика отторжения трансплантированных органов,
40 иммунологические заболевания), офатумумаб (хронический лимфолейкоз,
фолликулярная неходжкинская лимфома, В-клеточная лимфома, ревматоидный артрит,
рецидивирующий ремиттирующий рассеянный склероз, лимфома, В-клеточный
хронический лимфолейкоз), озорализумаб (воспаление), пекселизумаб (устранение
побочных эффектов операции на сердце), ровелизумаб (геморрагический шок), SBI-087
45 (ревматоидный артрит), SBI-087 (системная красная волчанка), секукинумаб (увейт,
ревматоидный артрит, псориаз), сирукумаб (ревматоидный артрит), тализумаб
(аллергическая реакция), тоцилизумаб (ревматоидный артрит, системный юношеский
идиопатический артрит, болезнь Каслмана), торализумаб (ревматоидный артрит,

волчаночный нефрит), TRU-015 (ревматоидный артрит), TRU-016 (аутоиммунное заболевание и воспаление), устекинумаб (рассеянный склероз, псориаз, псориатический артрит), устекинумаб (блокатор IL-12/IL-23) (бляшкообразующий псориаз, псориатический артрит, рассеянный склероз, саркоидоз), вепалимомаб (воспаление),
 5 золимомаб аритокс (системная красная волчанка, реакция "трансплантат против хозяина"), сифалимуамаб (SLE, дерматомиозит, полимиозит), лумиликсимаб (аллергии) и Rho(D) иммуноглобулин (гемолитическая болезнь); или

из антител, используемых для лечения инфекционных заболеваний, как, например, афелимомаб (сепсис), CR6261 (инфекционное заболевание/грипп А), эдобакомаб (сепсис,
 10 вызванный грамотрицательными бактериями), эфунгуамаб (инвазивная инфекция, вызванная грибами рода *Candida*), эксбивирумаб (гепатит В), фелвизумаб (респираторно-синцитиальная вирусная инфекция), форапавирумаб (бешенство (профилактика)), ибализумаб (ВИЧ-инфекция), либивирумаб (гепатит В), мотавизумаб (респираторно-синцитиальный вирус (профилактика)), небакумаб (сепсис), тувирумаб (хронический
 15 гепатит В), уртоксазумаб (диарея, вызванная *E. coli*), бавитуксимаб (смешанные вирусные инфекции), пагибаксимаб (сепсис (например, *Staphylococcus*)), паливизумаб (профилактика респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей с высоким риском заражения), панобакумаб (инфекция *Pseudomonas aeruginosa*), PRO 140 (ВИЧ-инфекция), рафивирумаб (бешенство (профилактика)), раксибакумаб (сибирская язва
 20 (профилактика и лечение)), регавирумаб (инфекция, вызванная цитомегаловирусом), севирумаб (инфекция, вызванная цитомегаловирусом), сувизумаб (вирусные инфекции) и тефибазумаб (инфекция, вызванная *Staphylococcus aureus*);

из антител, используемых наряду с прочим для лечения болезней крови, например, абциксимаб (шунтирование коронарной артерии), аторолимумаб (гемолитическая
 25 болезнь новорожденных), экулизумаб (ночная пароксизмальная гемоглобинурия), меполизумаб (синдром гиперэозинофилии, астма, эозинофильный гастроэнтерит, синдром Чарга-Штрауса, эозинофильный эзофагит) и милатузумаб (множественная миелома и другие злокачественные новообразования кроветворной системы);

из антител, используемых наряду с прочим для иммунорегуляции, как, например, антитимоцитарный глобулин (острое отторжение трансплантированной почки,
 30 апластическая анемия), базиликсимаб (профилактика отторжения аллотрансплантата у индивидов с трансплантированной почкой, проходящих курс иммуносупрессорной терапии, включающей циклоспорин и кортикостероиды), целелизумаб (профилактика отторжения трансплантированных органов, лечение аутоиммунных заболеваний),
 35 даклизумаб (профилактика острого отторжения аллотрансплантата у индивидов с трансплантированной почкой, рассеянный склероз), гавилимомаб (реакция "трансплантат против хозяина"), инолимомаб (реакция "трансплантат против хозяина"), муромонаб-CD3 (профилактика отторжения трансплантированных органов), муромонаб-CD3 (острое отторжение аллотрансплантата почки или устойчивое к
 40 стероидам отторжение аллотрансплантата сердца или печени), одулимомаб (профилактика отторжения трансплантированных органов, иммунологические болезни) и сиплизумаб (псориаз, реакция "трансплантат против хозяина" (профилактика));

из антител, используемых для лечения диабета, например, гевокизумаб (диабет), отеликсизумаб (сахарный диабет I типа) и теплизумаб (сахарный диабет I типа);

из антител, используемых для лечения болезни Альцгеймера, как, например, бапинеузумаб, кренезумаб, гантенерумаб, понезумаб, R1450 и соланезумаб;

из антител, используемых для лечения астмы, как, например, бенрализумаб, энокизумаб, келиксимаб, лебрикизумаб, омализумаб, окселумаб, пасколизумаб и

тралокинумаб;

и из антител, используемых для лечения смешанных нарушений, как, например, блосозумаб (остеопороз), CaroRx (кариозный распад зубов), фрезолимумаб (идиопатический пневмофиброз, фокальный сегментарный гломерулосклероз, рак), фулранумаб (боль), ромосозумаб (остеопороз), стамулумаб (мышечная дистрофия), танезумаб (боль) и ранибизумаб (возрастная дегенерация желтого пятна с образованием новых сосудов).

Кодирующая область нуклеиновой кислоты по изобретению в первом аспекте настоящего изобретения может присутствовать в виде моно-, ди- или даже полицистронной нуклеиновой кислоты, т.е. нуклеиновой кислоты, несущей кодирующие последовательности одного, двух или более белков или пептидов. Такие кодирующие последовательности в ди- или даже полицистронных нуклеиновых кислотах могут быть разделены по меньшей мере одной последовательностью внутреннего участка связывания рибосомы (IRES), например, как описано в настоящем документе или сигнальными пептидами, которые индуцируют расщепление полученного полипептида, содержащего несколько белков или пептидов.

В первом аспекте настоящего изобретения, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению содержит кодирующую область, кодирующую пептид или белок, содержащий терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное. Предпочтительно, кодируемый терапевтический белок не является гистоновым белком. В контексте настоящего изобретения такой гистоновый белок, как правило, представляет собой сильнощелочной белок, находящийся в ядрах эукариотических клеток, который упаковывает и упорядочивает ДНК в структурные единицы, называемые нуклеосомами. Гистоновые белки являются главными белковыми компонентами хроматина, действующими в качестве катушек, вокруг которых закручивается ДНК, и играют роль в регуляции генов. Без гистонов незакрученная ДНК в хромосомах могла бы быть очень длинной (отношение длины к ширине в ДНК человека более 10 миллионов к одному). Например, каждая клетка человека содержит приблизительно 1,8 метров ДНК, но закрученная на гистоны она составляет приблизительно 90 миллиметров хроматина, что при дупликации и конденсации во время митоза приводит приблизительно к 120 микрометрам хромосом. Более предпочтительно, в контексте настоящего изобретения такой гистоновый белок, как правило, определяют как высококонсервативный белок, выбранный из одного из следующих пяти основных классов гистонов: H1/H5, H2A, H2B, H3 и H4", предпочтительно, выбранный из гистонов млекопитающих, более предпочтительно, из гистонов или гистоновых белков человека. Такие гистоны или гистоновые белки, как правило, организованы в два суперкласса, определяемых как коровые гистоны, содержащие гистоны H2A, H2B, H3 и H4, и линкерные гистоны, содержащие гистоны H1 и H5.

В этом контексте, линкерные гистоны, предпочтительно, исключаемые из области защиты рассматриваемого изобретения, предпочтительно, линкерные гистоны млекопитающих, более предпочтительно, линкерные гистоны человека, как правило, выбраны из H1, включая H1F, в частности, включая H1F0, H1FNT, H1FOO, H1FX, и H1H1, в частности, включая HIST1H1A, HIST1H1B, HIST1H1C, HIST1H1D, HIST1H1E, HIST1H1T.

Кроме того, коровые гистоны, предпочтительно, исключаемые из области защиты рассматриваемого изобретения, предпочтительно, коровые гистоны млекопитающих, более предпочтительно, коровые гистоны человека, как правило, выбраны из H2A, включая H2AF, в частности, включая H2AFB1, H2AFB2, H2AFB3, H2AFJ, H2AFV, H2AFX,

H2AFY, H2AFY2, H2AFZ и H2A1, в частности, включая HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AD, HIST1H2AE, HIST1H2AG, HIST1H2AI, HIST1H2AJ, HIST1H2AK, HIST1H2AL, HIST1H2AM и H2A2, в частности, включая HIST2H2AA3, HIST2H2AC; H2B, включая H2BF, в частности, включая H2BFM, H2BFO, H2BFS, H2BFWT H2B1, в частности, включая HIST1H2BA, HIST1H2BB, HIST1H2BC, HIST1H2BD, HIST1H2BE, HIST1H2BF, HIST1H2BG, HIST1H2BH, HIST1H2BI, HIST1H2BJ, HIST1H2BK, HIST1H2BL, HIST1H2BM, HIST1H2BN, HIST1H2BO и H2B2, в частности, включая HIST2H2BE; H3, включая H3A1, в частности, включая HIST1H3A, HIST1H3B, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3E, HIST1H3F, HIST1H3G, HIST1H3H, HIST1H3I, HIST1H3J и H3A2, в частности, включая HIST2H3C и H3A3, в частности, включая HIST3H3; H4, включая H41, в частности, включая HIST1H4A, HIST1H4B, HIST1H4C, HIST1H4D, HIST1H4E, HIST1H4F, HIST1H4G, HIST1H4H, HIST1H4I, HIST1H4J, HIST1H4K, HIST1H4L и H44, в частности, включая HIST4H4 и H5.

В первом аспекте настоящего изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению содержит кодирующую область, кодирующую пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное. Предпочтительно, кодируемый терапевтический белок не является репортерным белком (например, люциферазой, зеленым флуоресцентным белком (GFP), улучшенным зеленым флуоресцентным белком (EGFP), β -галактозидазой) и не является маркерным или селективным белком (например, альфа-глобином, галактокиназой и ксантин:гуанинфосфорибозилтрансферазой (GPT)). Предпочтительно, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению не содержит (бактериального) гена устойчивости к антибиотикам, в частности, последовательности гена нео (гена устойчивости к неомизину) или последовательности гена CAT (кодирующей ацетилтрансферазу хлорамфеникола; ген устойчивости к хлорамфениколу).

Нуклеиновая кислота по изобретению, как определено выше, содержит или кодирует а) кодирующую область, кодирующую пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное; б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов и с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования; предпочтительно, для повышения экспрессии указанного кодируемого пептида или белка, где кодируемый пептид или белок, предпочтительно, не является гистоновым белком, не является репортерным белком и/или не является маркерным или селективным белком, как определено выше. Элементы б)-с) нуклеиновой кислоты по изобретению могут присутствовать в нуклеиновой кислоте по изобретению в любом порядке, т.е. элементы а), б) и с) могут присутствовать в последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению в направлении от 5'-конца к 3'-концу в порядке а), б) и с) или а), с) и б), где также могут содержаться дополнительные элементы, как описано в настоящем документе, такие как 5'-кэпирующая структура, последовательность поли(С), стабилизирующие последовательности, последовательности IRES и т.д. Также каждый из элементов а)-с) нуклеиновой кислоты по изобретению, особенно а) в ди- или полицистронных конструкциях и/или каждый из элементов б) и с), более предпочтительно, элемент б), в нуклеиновой кислоте по изобретению могут повторяться по меньшей мере однократно, предпочтительно, дважды или более. В качестве примера нуклеиновая кислота по изобретению может содержать элементы своей последовательности а), б) и необязательно с), например, в следующем порядке:

5' - кодирующая область - структура "стебель-петля" гистонов - последовательность поли(А) - 3'; или

5' - кодирующая область - структура "стебель-петля" гистонов - сигнал

полиаденилирования - 3'; или

5' - кодирующая область - последовательность поли(А) - структура "стебель-петля" гистонов - 3'; или

5' - кодирующая область - сигнал полиаденилирования- структура "стебель-петля" гистонов - 3'; или

5' - кодирующая область - кодирующая область - структура "стебель-петля" гистонов - сигнал полиаденилирования - 3'; или

5' - кодирующая область - структура "стебель-петля" гистонов - структура "стебель-петля" гистонов - последовательность поли(А) - 3'; или

5' - кодирующая область - структура "стебель-петля" гистонов - структура "стебель-петля" гистонов - сигнал полиаденилирования - 3'; и т.д.

В этом контексте, особенно предпочтительно последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению содержит или кодирует а) кодирующую область, кодирующую пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное; б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов и с) последовательность поли(А) или последовательность полиаденилирования;

предпочтительно, для повышения уровня экспрессии указанного кодируемого пептида или белка, где кодируемый белок, предпочтительно, не является гистоновым белком, не является репортерным белком (например, люциферазой, GFP, EGFP, β -галактозидазой, в частности, EGFP) и/или не является маркерным или селективным белком (например, альфа-глобином, галактокиназой и ксантин:гуанинфосфорибозилтрансферазой (GPT)).

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления первого аспекта последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, также может находиться в форме модифицированной нуклеиновой кислоты.

В этом контексте последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, можно модифицировать для получения "стабилизированной нуклеиновой кислоты", предпочтительно, стабилизированной РНК, более предпочтительно, РНК, которая по существу устойчива к разрушению *in vivo* (например, экзо- или эндонуклеазами). Например, стабилизированную нуклеиновую кислоту можно получать посредством модификации содержания G/C в кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, посредством введения аналогов нуклеотидов (например, нуклеотидов с модификациями каркаса, модификациями сахаров или модификациями оснований) или посредством введения стабилизирующих последовательностей в 3'- и/или 5'-нетранслируемые области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению.

Как указано выше, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе может содержать аналоги/модификации нуклеотидов, например, модификации каркаса, модификации сахаров или модификации оснований. Модификация каркаса в применении к настоящему изобретению представляет собой модификацию, при которой фосфаты каркаса нуклеотидов, содержащихся в последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, химически модифицируют. Модификация сахаров в применении к настоящему изобретению представляет собой химическую модификацию сахара нуклеотидов последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе. Кроме того, модификация оснований в применении к настоящему изобретению представляет собой химическую модификацию молекулы основания нуклеотидов молекулы нуклеиновой кислоты последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению. В этом контексте аналоги или модификации

нуклеотидов, предпочтительно, выбраны из аналогов нуклеотидов, которые пригодны для транскрипции и/или трансляции.

В конкретном предпочтительном варианте первого аспекта настоящего изобретения определенные в настоящем документе аналоги/модификации нуклеотидов выбраны из модификаций оснований, которые дополнительно увеличивают экспрессию кодируемого белка и которые, предпочтительно, выбраны из 2-амино-6-хлорпуририбозид-5'-трифосфата, 2-аминоаденозин-5'-трифосфата, 2-тиоцитидин-5'-трифосфата, 2-тиоуридин-5'-трифосфата, 4-тиоуридин-5'-трифосфата, 5-аминоаллилцитидин-5'-трифосфата, 5-аминоаллилуридин-5'-трифосфата, 5-бромцитидин-5'-трифосфата, 5-бромурин-5'-трифосфата, 5-йодцитидин-5'-трифосфата, 5-йодуридин-5'-трифосфата, 5-метилцитидин-5'-трифосфата, 5-метилуридин-5'-трифосфата, 6-азациитидин-5'-трифосфата, 6-азауридин-5'-трифосфата, 6-хлорпуририбозид-5'-трифосфата, 7-дезааденозин-5'-трифосфата, 7-дезагуанозин-5'-трифосфата, 8-азааденозин-5'-трифосфата, 8-азидоаденозин-5'-трифосфата, бензимидазолрибозид-5'-трифосфата, N1-метиладенозин-5'-трифосфата, N1-метилгуанозин-5'-трифосфата, N6-метиладенозин-5'-трифосфата, O6-метилгуанозин-5'-трифосфата, псевдоуридин-5'-трифосфата, или пуромидин-5'-трифосфата, ксантинозин-5'-трифосфата. Конкретное предпочтение отдается нуклеотидам с модификациями оснований, выбранными из группы нуклеотидов с модифицированными основаниями, состоящей из 5-метилцитидин-5'-трифосфата, 7-дезагуанозин-5'-трифосфата, 5-бромцитидин-5'-трифосфата и псевдоуридин-5'-трифосфата.

В дополнительном варианте осуществления в последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, может присутствовать модификация липидами. Такая модифицированная липидами нуклеиновая кислота, как правило, содержит нуклеиновую кислоту, как определено в настоящем документе. Такая модифицированная липидами молекула нуклеиновой кислоты последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, как правило, дополнительно содержит по меньшей мере один линкер, ковалентно связанный с этой молекулой нуклеиновой кислоты, и по меньшей мере один липид, ковалентно связанный с соответствующим линкером. Альтернативно, модифицированная липидами молекула нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере одну молекулу нуклеиновой кислоты, как определено в настоящем документе, и по меньшей мере один (бифункциональный) липид, ковалентно связанный (без линкера) с этой молекулой нуклеиновой кислоты. В соответствии с третьей альтернативой модифицированная липидами молекула нуклеиновой кислоты содержит молекулу нуклеиновой кислоты, как определено в настоящем документе, по меньшей мере один линкер, ковалентно связанный с этой 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 этой молекулой нуклеиновой кислоты. В этом контексте особенно предпочтительно, чтобы модификацию липидами проводили на концах линейной последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению.

В другом предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, особенно, если предоставлена в виде (м)РНК, таким образом, можно стабилизировать для противостояния разрушению РНКазам посредством добавления структуры так называемого "5'-кэпа".

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено

в настоящем документе, можно модифицировать посредством последовательности по меньшей мере из 10 остатков цитидина, предпочтительно, по меньшей мере 20 остатков цитидина, более предпочтительно, по меньшей мере 30 остатков цитидина (так называем

"последовательность поли(С)"). В частности, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержать или кодировать последовательность поли(С) длиной, как правило, приблизительно от 10 до 200 цитидиновых нуклеотидов, предпочтительно, приблизительно от 10 до 100 цитидиновых нуклеотидов, более предпочтительно, приблизительно от 10 до 70 цитидиновых нуклеотидов или еще более предпочтительно, приблизительно от 20 до 50 или даже от 20 до 30 цитидиновых нуклеотидов.

Последовательность поли(С) предпочтительно, расположена с 3'-конца от кодирующей области, содержащейся в нуклеиновой кислоте в первом аспекте настоящего изобретения.

В особенно предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения в последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, изменяют содержание G/C кодирующей области, кодирующей по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, в частности, увеличивают, по сравнению с содержанием G/C в этой конкретной кодирующей области дикого типа, т.е. немодифицированной кодирующей области. Кодированную кодирующей областью аминокислотную

последовательность по сравнению с кодируемой аминокислотной последовательностью конкретной кодирующей областью дикого типа, предпочтительно, не модифицируют.

Изменение содержания G/C кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, основано на том факте, что для эффективной трансляции этой мРНК важна последовательность любой области мРНК для трансляции. Таким образом, важны состав и последовательность различных нуклеотидов. В частности, последовательности мРНК с повышенным содержанием G (гуанозина)/C (цитозина) являются более стабильными, чем последовательности мРНК с повышенным содержанием A (аденозина)/U (урацила).

Таким образом, в соответствии с изобретением, кодоны кодирующей области изменяют по сравнению с этой кодирующей областью дикого типа, сохраняя транслируемую аминокислотную последовательность, так, что они включают увеличенное количество нуклеотидов G/C. В соответствии с тем фактом, что одну и ту же аминокислоту кодируют несколько кодонов (так называемая вырожденность генетического кода), можно определять наиболее подходящие для стабильности кодоны (так называемое альтернативное использование кодонов).

В зависимости от аминокислоты, кодируемой кодирующей областью последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, существуют различные возможности модификации последовательности нуклеиновой кислоты, например, кодирующей области, по сравнению с этой кодирующей областью дикого типа. В случае аминокислот, которые кодируют кодоны, содержащие исключительно нуклеотиды G или C, никакой замены кодонов не нужно. Таким образом, кодоны для Pro (CCC или CCG), Arg (CGC или CGG), Ala (GCC или GCG) и Gly (GGC или GGG) не требуют модификации, так как в них не присутствует A или U.

В отличие от этого, кодоны, которые содержат нуклеотиды A и/или U можно модифицировать, посредством замены на другие кодоны, которые кодируют те же аминокислоты, но не содержат A и/или U. Их примеры представляют собой:

кодона для Pro можно модифицировать с CCU или CCA на CCC или CCG;

кодона для Arg можно модифицировать с CGU или CGA или AGA или AGG на CGC

или CGG;

кодона для Ala можно модифицировать с GCU или GCA на GCC или GCG;

кодона для Gly можно модифицировать с GGU или GGA на GGC или GGG.

В других случаях, хотя нуклеотиды А или U нельзя удалить из кодонов, однако

5 возможно снизить содержание А и U, используя кодоны, которые содержат меньшее количество нуклеотидов А и/или U. Их примеры представляют собой:

кодона для Phe можно модифицировать с UUU на UUC;

кодона для Leu можно модифицировать с UUA, UUG, CUU или CUA на CUC или CUG;

10 кодона для Ser можно модифицировать с UCU или UCA или AGU на UCC, UCG или AGC;

кодон для Tyr можно модифицировать с UAU на UAC;

кодон для Cys можно модифицировать с UGU на UGC;

кодон для His можно модифицировать с CAU на CAC;

15 кодон для Gln можно модифицировать с CAA на CAG;

кодона для Ile можно модифицировать с AUU или AUA на AUC;

кодона для Thr можно модифицировать с ACU или ACA на ACC или ACG;

кодон для Asn можно модифицировать с AAU на AAC;

кодон для Lys можно модифицировать с AAA на AAG;

20 кодона для Val можно модифицировать с GUU или GUA на GUC или GUG;

кодон для Asp можно модифицировать с GAU на GAC;

кодон для Glu можно модифицировать с GAA на GAG;

стоп-кодон UAA можно модифицировать на UAG или UGA.

С другой стороны, в случае кодонов для Met (AUG) и Trp (UGG) возможностей для
25 модификации последовательности нет.

Перечисленные выше замены для увеличения содержания G/C кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, по сравнению с этой конкретной кодирующей областью дикого типа (т.е. исходной последовательностью) можно использовать отдельно или во всех возможных
30 комбинациях. Таким образом, например, все кодоны для Thr, встречающиеся в последовательности дикого типа можно заменить на ACC (или ACG).

В указанном выше контексте представлены кодоны, присутствующие в мРНК. Таким образом, уридин, присутствующий в мРНК, также может присутствовать в виде тимидина в соответствующей ДНК, кодирующей конкретную мРНК.

35 Предпочтительно, содержание G/C кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области дикого типа увеличивают по меньшей мере на 7%, более предпочтительно, по меньшей мере на 15%, в частности, предпочтительно, по меньшей мере на 20%. В конкретном варианте осуществления в
40 кодирующей области, кодирующей по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, замещены по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, более предпочтительно, по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно, по меньшей мере 80%, а наиболее
45 предпочтительно, по меньшей мере 90%, 95% или даже 100% из замещаемых кодонов, таким образом, увеличивая содержание G/C в указанной кодирующей области.

В этом контексте, особенно предпочтительно, повысить содержание G/C кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, по сравнению с кодирующей областью дикого типа до максимума

(т.е. 100% замещаемых кодонов).

По изобретению дополнительная предпочтительная модификация кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, кодирующей по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, основана на том открытии, что эффективность трансляции также определена различной частотой встречаемости тРНК в клетках. Таким образом, если в кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, в большей степени присутствуют так называемые "редкие кодоны", соответствующая модифицированная последовательность нуклеиновой кислоты транслируется в значительно меньшей степени, чем в случае, когда присутствуют кодоны, кодирующие относительно "частые" тРНК.

В этом контексте кодирующая область последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, предпочтительно, модифицирована по сравнению с соответствующей кодирующей областью дикого типа там, что по меньшей мере один кодон последовательности дикого типа, который кодирует тРНК, которая в клетке является относительно редкой, заменяют на кодон, который кодирует тРНК, которая в клетке является относительно частой и кодирует ту же аминокислоту, что и относительно редкая тРНК. Посредством этой модификации, кодирующую область последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, модифицируют так, что вводят кодоны, для которых доступны часто встречающиеся тРНК. Другими словами, в изобретении посредством этой модификации все кодоны кодирующей области дикого типа, которые кодируют тРНК, которая в клетке является относительно редкой, в каждом случае можно заменить на кодоны, которые кодируют тРНК, которая в клетке является относительно частой и которая, в каждом случае, кодирует ту же аминокислоту, что и относительно редкая тРНК.

Некоторые тРНК встречаются в клетке относительно часто, а некоторые, напротив, встречаются относительно редко, как известно специалисту в данной области; см. например, Akashi, Curr. Opin. Genet. Dev. 2001, 11(6): 660-666. Особенно предпочтительными являются кодоны, которые используются для конкретной аминокислоты в тРНК, которая встречается наиболее часто, например, кодон для Gly, который используется в тРНК, которая наиболее часто встречается в клетке (человека).

По изобретению, особенно предпочтительно, связывать непрерывное содержание G/C, которое в кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, увеличено, в частности, максимизировано, с "частыми" кодонами без модификации аминокислотной последовательности пептида или белка, кодируемого кодирующей областью последовательности нуклеиновой кислоты. Этот предпочтительный вариант осуществления обеспечивает получение особенно эффективно транслируемой и стабилизированной (модифицированной) последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе.

В другом предпочтительном варианте осуществления первого аспекта изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, предпочтительно, дополнительно содержит по меньшей мере одну 5' и/или 3' стабилизирующую последовательность. Эти стабилизирующие последовательности в 5'- и/или 3'-нетранслируемых областях обладают эффектом увеличения времени полужизни нуклеиновой кислоты, в частности, мРНК в цитозоле. Эти стабилизирующие

последовательности могут быть на 100% идентичны с природными последовательностями, которые встречаются в вирусах, бактериях и эукариотах, но также могут быть частично или полностью синтетическими. В качестве примера стабилизирующих последовательностей, которые можно использовать в настоящем изобретении для стабилизированной нуклеиновой кислоты, можно указать нетранслируемые последовательности (UTR) гена (альфа-)глобина, например, Homo sapiens или Xenopus laevis. Другой пример стабилизирующей последовательности имеет общую формулу (C/U)CCAN_xCCC(U/A)Py_xUC(C/U)CC (SEQ ID NO: 55), которая содержится в 3'-UTR очень стабильных РНК, которые кодируют (альфа-)глобин, коллаген типа(I), липоксигеназу 15 или тирозингидроксилазу (см. Holcik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997, 94: 2410-2414). Конечно, такие стабилизирующие последовательности можно использовать отдельно или в комбинации с любой другой, а также в комбинации с другими стабилизирующими последовательностями, известными специалисту в данной области. В этом контексте особенно предпочтительно, чтобы с 3'-конца кодирующей области, кодирующей по меньшей мере один пептид или белок, который содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, содержащейся в последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению в первом аспекте настоящего изобретения, располагалась последовательность 3'-UTR гена альфа-глобина.

Замены, добавления или удаления оснований в последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, предпочтительно, проводят с использованием матричной ДНК для получения последовательности нуклеиновой кислоты способами, хорошо известного сайт-специфического мутагенеза, или стратегией лигирования олигонуклеотидов (см. например, Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd ed., Cold Spring Harbor, NY, 2001).

Для последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, а также для любой нуклеиновой кислоты, как используют в контексте настоящего изобретения, можно использовать любые из указанных выше модификаций, и их можно, если подходит или необходимо, комбинировать друг с другом в любой комбинации, при условии, что эти комбинации модификаций в соответствующей нуклеиновой кислоте не мешают друг другу. Специалист в данной области может сделать соответствующий выбор.

Последовательности нуклеиновой кислоты, используемые по настоящему изобретению, как определено в настоящем документе, можно получать с использованием любого известного в данной области способа, включая способы синтеза, например, такие как твердофазный синтез, а также способы in vitro, такие как реакции транскрипции in vitro или реакции транскрипции in vivo, такие как размножение плазмидных ДНК в бактериях in vivo.

В таком способе для получения последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, особенно если нуклеиновая кислота находится в форме мРНК, соответствующую молекулу ДНК можно транскрибировать in vitro. Эта матричная ДНК, предпочтительно, содержит подходящий промотор, например, промотор T7 или SP6, для транскрипции in vitro, за которым расположена желаемая для получения молекулы нуклеиновой кислоты, например, мРНК, последовательность нуклеотидов, и сигнал терминации для транскрипции in vitro. Молекула ДНК, формирующая матрицу по меньшей мере для одной из представляющих интерес РНК, можно получать посредством ферментативной

пролиферация и последующего выделения в качестве части плазмиды, которую можно реплицировать в бактериях. Плазмиды, которые можно указать, как подходящие для настоящего изобретения, например, представляют собой плазмиды pT7T (номер доступа GenBank U26404; Lai et al., Development 1995, 121: 2349-2360), ряд pGEM®, например, pGEM®-1 (номер доступа GenBank X65300; из Promega) и pSP64 (номер доступа GenBank X65327); также см. Mezei and Storts, Purification of PCR Products, in: Griffin and Griffin (ed.), PCR Technology: Current Innovation, CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.

Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, а также белки или пептиды, как их кодирует эта последовательность нуклеиновой кислоты, могут содержать фрагменты или варианты этих последовательностей. Такие фрагменты или варианты, как правило, могут содержать последовательность, идентичную с одной из указанных выше нуклеиновых кислот или с одним из белков или пептидов или одной из последовательностей, если их кодирует последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, предпочтительно, по меньшей мере на 70%, более предпочтительно, по меньшей мере на 80%, также более предпочтительно, 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% от полной последовательности дикого типа на уровне нуклеиновой кислоты или на уровне аминокислот.

"Фрагменты" белков или пептидов в контексте настоящего изобретения (например, как их кодирует последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе) могут содержать последовательность белка или пептида, как определено в настоящем документе, которая в отношении ее аминокислотной последовательности (или кодирующей ее молекулы нуклеиновой кислоты), с N-конца, C-конца и/или внутри последовательности обрезана/укорочена по сравнению с аминокислотной последовательностью исходного (нативного) белка (или кодирующей ее молекулой нуклеиновой кислоты). Таким образом, такое укорочение может происходить на уровне аминокислот или, соответственно, на уровне нуклеиновой кислоты. Таким образом, идентичность последовательности в отношении такого фрагмента, как определено в настоящем документе, предпочтительно, может относиться к целому белку или пептиду, как определено в настоящем документе, или целой (кодирующей) молекуле нуклеиновой кислоты для такого белка или пептида. Подобным образом, "фрагменты" нуклеиновых кислот в контексте настоящего изобретения могут содержать последовательность нуклеиновой кислоты, как определено в настоящем документе, которая, в отношении ее молекулы нуклеиновой кислоты, с 5'-конца, 3'-конца и/или внутри последовательности обрезана/укорочена по сравнению с молекулой нуклеиновой кислоты исходной (нативной) молекулы нуклеиновой кислоты. Таким образом, идентичность последовательности в отношении такого фрагмента, как определено в настоящем документе, предпочтительно, может относиться к целой нуклеиновой кислоте, как определено в настоящем документе, и предпочтительный уровень идентичности последовательностей является таким, как указано в настоящем документе. Фрагменты обладают той же биологической функцией или специфической активностью, например, специфической антигенной или терапевтической активностью, или по меньшей мере сохраняют активность природного полноразмерного белка по меньшей мере на 50%, более предпочтительно, по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно, по меньшей мере на 90% (как измеряют при помощи соответствующего функционального анализа, например, при помощи анализа

ферментативной или связывающей активности фрагмента терапевтического белка) по сравнению с полноразмерным нативным пептидом или белком, например, его специфические антигенные или терапевтические свойства. Таким образом, в предпочтительном варианте осуществления "фрагмент" представляет собой часть полноразмерного (природного) wt терапевтического белка, обладающего лечебными свойствами по настоящему изобретению.

Кроме того, можно понять, что фрагмент белка также может включать/соответствовать домены белка, подобные внеклеточному домену, внутриклеточному домену или трансмембранному домену, и укороченные или обрезанные версии белка.

Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, может кодировать "варианты" белков или пептидов, как определено в контексте настоящего изобретения. Таким образом, можно получать белок или пептид с аминокислотной последовательностью, которая отличается от исходной последовательности одной или несколькими (2, 3, 4, 5, 6, 7 или более) мутациями, такими, как одна или несколько замещенных, вставленных и/или удаленных аминокислот. Предпочтительным уровнем идентичности последовательностей "вариантов", учитывая последовательности полноразмерных природных белков, как правило, является такой, как указано в настоящем документе. Предпочтительно, варианты имеют ту же биологическую функцию или специфическую активность или по меньшей мере сохраняют активность природного wt полноразмерного белка по меньшей мере на 50%, более предпочтительно, по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно, по меньшей мере на 90% (как измеряют при помощи соответствующего функционального анализа, например, при помощи анализа ферментативной или связывающей активности варианта терапевтического белка) по сравнению с полноразмерным нативным пептидом или белком, например, его специфические терапевтические свойства. Таким образом, в предпочтительном варианте осуществления "вариант" представляет собой вариант терапевтического белка, который проявляет терапевтические свойства в степени, указанной в настоящем описании изобретения.

"Варианты" белков или пептидов, как определено в контексте настоящего изобретения (например, как кодирует нуклеиновая кислота, как определено в настоящем документе), могут содержать консервативную аминокислотную замену(ы) по сравнению с их нативной, т.е. немутированной физиологической последовательностью. Эти аминокислотные последовательности, а также кодирующие их нуклеотидные последовательности в том числе соответствуют термину варианты, как определено в настоящем документе. Замены, где друг на друга заменяют аминокислоты, происходящие из одного и того же класса, называют консервативными заменами. В частности, они представляют собой аминокислоты с алифатическими боковыми цепями, положительно или отрицательно заряженными боковыми цепями, ароматическими группами в боковых цепях или аминокислоты, боковые цепи которых могут участвовать в водородных мостиках, например, боковые цепи, которые содержат гидроксильную функциональную группу. Это означает, что, например, аминокислоту с полярной боковой цепью замещают другой аминокислотой с подобной полярной боковой цепью, или, например, аминокислоту, характеризующуюся гидрофобной боковой цепью, заменяют другой аминокислотой с подобной гидрофобной боковой цепью (например, серин (треонин) треонином (серином) или лейцин (изолейцин) изолейцином (лейцином)). Возможны вставки и замены, в частности, в тех положениях последовательности, которые не вызывают модификаций трехмерной структуры или не влияют на

связывающую область. Модификации трехмерной структуры при вставке(ах) или делеции(ях) можно легко определять, например, с использованием спектра CD (спектр кругового дихроизма) (Urry, 1985, Absorption, Circular Dichroism and ORD of Polypeptides, in: Modern Physical Methods in Biochemistry, Neuberger et al. (ed.), Elsevier, Amsterdam).

5 Кроме того, варианты белков или пептидов, как определено в настоящем документе, которые может кодировать последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, также могут содержать последовательности, где нуклеотиды нуклеиновой кислоты заменены в соответствии с вырожденностью генетического кода без вызова изменения соответствующей аминокислотной
10 последовательности белка или пептида, т.е. в пределах указанного выше определения аминокислотная последовательность или по меньшей мере ее часть могут не отличаться от исходной последовательности одной или несколькими мутациями.

Для определения процентов идентичности двух последовательностей, например, последовательностей нуклеиновой кислоты или аминокислотных последовательностей,
15 как определено в настоящем документе, предпочтительно, аминокислотных последовательностей, кодируемых последовательностями нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или самих аминокислотных последовательностей, последовательности можно выравнивать для последующего сравнения одной с другой. Таким образом, например, положение первой
20 последовательности можно сравнивать с соответствующим положением второй последовательности. Если в положении первой последовательности находится тот же компонент, то и в случае положения во второй последовательности, две последовательности являются идентичными в этом положении. Если это не так, последовательности отличаются в этом положении. Если во второй последовательности
25 по сравнению с первой последовательностью находятся вставки, в первую последовательность можно ввести пропуски для обеспечения дополнительного выравнивания. Если во второй последовательности по сравнению с первой находятся делеции, для обеспечения дополнительного выравнивания пропуски можно вводить во вторую последовательность. Затем, проценты идентичности двух
30 последовательностей, являются функцией количества идентичных положений, деленных на общее количество положений, включающих положения, где присутствует только одна последовательность. Проценты идентичности двух последовательностей можно определять с использованием математического алгоритма. Предпочтительно, но без ограничения, примером математического алгоритма, который можно использовать,
35 является алгоритм Karlin et al. (1993), PNAS USA, 90:5873-5877 или Altschul et al. (1997), Nucleic Acids Res., 25:3389-3402. Такой алгоритм интегрирован в программу BLAST. Последовательности, до определенной степени идентичные с последовательностями по настоящему изобретению можно идентифицировать этой программой.

Последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в
40 настоящем документе, может кодировать производные пептида или белка. Такое производное пептида или белка представляет собой молекулу, которая происходит из другой молекулы, такой как указанный пептид или белок. Как правило, "производное" содержит полноразмерную последовательность природного wt пептида или белка и дополнительные элементы последовательности, например, на N- или на C-концах,
45 которые могут обеспечивать природному полноразмерному пептиду/белку дополнительную функцию. Также такие производные обладают той же биологической функцией или специфической активностью или по меньшей мере сохраняют активность природного wt полноразмерного белка по меньшей мере на 50%, более предпочтительно,

по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно, по меньшей мере на 90% (измеренной при помощи соответствующего функционального анализа, см. выше, например анализа связывающей или ферментативной активности), по сравнению с полноразмерным нативным пептидом или белком, например, его специфические терапевтические свойства. Таким образом, "производное" пептида или белка также включает (химерные) слитые пептиды/белки, содержащие пептид или белок, используемый в настоящем изобретении, или природный полноразмерный белок (или его вариант/фрагмент), слитый с другим пептидом/белком, например, придающим слитому пептиду/белку две или более биологических функции. Например, гибрид может содержать метку, такую как, например, эпитоп, например, эпитоп FLAG, или эпитоп V5, или эпитоп HA. Например, эпитоп представляет собой эпитоп FLAG. Такая метка пригодна, например, для очистки слитого белка.

В этом контексте "вариант" белка или пептида может содержать по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентичных аминокислот на участке 10, 20, 30, 50, 75 или 100 аминокислот такого белка или пептида. Аналогично, "вариант" последовательности нуклеиновой кислоты или, в частности, фрагмент может содержать по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентичных нуклеотидов на участке 10, 20, 30, 50, 75 или 100 нуклеотидов такой последовательности нуклеиновой кислоты; однако, как правило, в отношении к природной полноразмерной последовательности. В случае "фрагментов" идентичность последовательности для фрагмента, как правило, определяют по длине (фрагмента) на части полноразмерного белка (соответствующей такой же длине, как у фрагмента), которая демонстрирует наибольший уровень идентичности последовательностей.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления первого аспекта настоящего изобретения последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению для повышения эффективности трансфекции и/или иммуностимулирующих свойств последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению связана с носителем, средством для трансфекции или комплексообразования. Особенно предпочтительными в этом контексте средствами, подходящими для повышения эффективности трансфекции, являются катионные или поликатионные соединения, включая протамин, нуклеолин, спермин или спермидин, или другие катионные пептиды или белки, такие как поли-L-лизин (PLL), полиаргинин, основные полипептиды, пептиды для проникновения в клетку (CPP), включая связывающие ВИЧ пептиды, Tat ВИЧ-1 (ВИЧ), происходящие из Tat пептиды, пенетратин, происходящие из VP22 или аналогичные пептиды, VP22 HSV (Herpes simplex), MAP, KALA или домены белковой трансдукции (PTD), PrT620, богатые пролином пептиды, богатые аргинином пептиды, богатые лизином пептиды, MPG-пептид(ы), Per-1, L-олигомеры, пептид(ы) кальцитонина, получаемые у Antennapedia пептиды (в частности у Drosophila antennapedia), pAntp, pIsl, FGF, лактоферрин, транспортан, буфорин-2, Vac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, происходящие из hCT пептиды, SAP или гистоны. Кроме того, предпочтительные катионные или поликатионные белки или пептиды можно выбирать из приведенных ниже белков или пептидов со следующей общей формулой: $(Arg)_l; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x$, где $l + m + n + o + x = 8-15$, а l, m, n или o независимо друг от друга могут представлять собой любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15, при условии, что общее содержание Arg, Lys, His и Orn составляет по меньшей мере 50% от всех аминокислот олигопептида; и Xaa может представлять собой любую аминокислоту, выбранную из природных (= встречающихся в природе) или неприродных аминокислот, исключая Arg, Lys, His или Orn; и x может представлять собой любое число, выбранное из 0, 1, 2, 3 или 4, при

условии, что общее содержание Хаа не превышает 50% всех аминокислот олигопептида. Особенно предпочтительными катионными пептидами в этом контексте являются, например, Arg7, Arg8, Arg9, H₃R₉, R₉H₃, H₃R₉H₃, YSSR₉SSY, (RKH)₄, Y(RKH)₂R и т.д.

Дополнительные предпочтительные катионные или поликатионные соединения, которые можно использовать в качестве средства для трансфекции, могут включать катионные полисахариды, например, хитозан, полибрен, катионные полимеры, например, полиэтиленмин (PEI), катионные липиды, например, DOTMA: [1-(2,3-сиолеилокси)пропил]-N,N,N-триметилхлорид аммония, DMRIE, ди-C14-амидин, DOTIM, SAINT, DC-Chol, BGTC, CTAP, DOPC, DODAP, DOPE: диолеилфосфатидилэтаноламин, DOSPA, DODAB, DOIC, DMEPC, DOGS: диоктадециламидоглицилспермин, DIMRI: бромид димиристооксипропилдиметилгидроксиэтиламмония, DOTAP: диолеилокси-3-(триметиламмоний)пропан, DC-6-14: хлорид О,О-дитетрадеканойл-N-(α-триметиламмонийоацетил)диэтаноламина, CLIP1: рац-[(2,3-диоктадецилоксипропил)(2-гидроксиэтил)]диметилхлорид аммония, CLIP6: рац-[2(2,3-дигексадецилоксипропилоксиметилокси)этил]триметиламмоний, CLIP9: рац-[2(2,3-дигексадецилоксипропилоксисукцинилокси)этил]триметиламмоний, олигофектамин, или катионные или поликатионные полимеры, например, модифицированные полиаминокислоты, такие как β-аминокислотные полимеры или обращенные полиамиды и т.п., модифицированные полиэтилены, такие как PVP (бромид поли(N-этил-4-винилпиридиния)) и т.п., модифицированные акрилаты, такие как pDMAEMA (поли(диметиламиноэтилметилакрилат)) и т.п., модифицированные амидоамины, такие как pAMAM (поли(амидоамин)) и т.д., модифицированные сложные полибетааминоэфир (PBAE), такие как модифицированные по диаминовому концу полимеры 1,4-бутандиолдиакрилата и 5-амино-1-пентанола и т.п., дендримеры, такие как полипропиламиновые дендримеры или дендримеры на основе pAMAM и т.п., полиимины, такие как PEI: поли(этиленмин), поли(пропиленмин) и т.п., полиаллиламин, полимеры на основе каркаса из сахаров, такие как полимеры на основе циклодекстрина, полимеры на основе декстрана, хитозан и т.п., полимеры на основе силанового каркаса, такие как сополимеры PMOXA-PDMS и т.п., блок-полимеры, состоящие из комбинации одного или нескольких катионных блоков (например, выбранных из катионных полимеров, как указано выше) и одного или нескольких гидрофильных или гидрофобных блоков (например, полиэтиленгликоля); и т.п.

В этом контексте особенно предпочтительно, чтобы нуклеиновая кислота по изобретению образовывала комплекс, по меньшей мере частично, с катионным или поликатионным соединением, предпочтительно, катионными белками или пептидами. Частично означает, что только часть нуклеиновой кислоты по изобретению образует комплекс с катионным или поликатионным соединением, и что остаток нуклеиновой кислоты по изобретению находится в форме без образования комплекса ("свободной"). Предпочтительно, соотношение образующей комплекс нуклеиновой кислоты к свободной нуклеиновой кислоте выбрано из отношений приблизительно от 5:1 (масс./масс.) до приблизительно 1:10 (масс./масс.), более предпочтительно, из отношений приблизительно от 4:1 (масс./масс.) до приблизительно 1:8 (масс./масс.), еще более предпочтительно, из отношений приблизительно от 3:1 (масс./масс.) до приблизительно 1:5 (масс./масс.) или 1:3 (масс./масс.), а наиболее предпочтительно, отношение образующей комплекс нуклеиновой кислоты к свободной нуклеиновой кислоте выбрано из отношения приблизительно 1:1 (масс./масс.).

Предпочтительно, чтобы последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению была предоставлена в свободной форме или в форме комплекса, например, с

поликатионным соединением какой-либо химической структуры, предпочтительно, с поликатионными (поли)пептидами или синтетическими поликатионными соединениями. Предпочтительно, последовательность нуклеиновой кислоты не предоставляют вместе с упаковывающей клеткой.

5 В дополнительном аспекте изобретение относится к композиции или набору или набор частей, содержащих множество или более одной, предпочтительно, от 2 до 10, более предпочтительно, от 2 до 5, наиболее предпочтительно, от 2 до 4 последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе. Эти композиции по изобретению содержат более одной последовательности
10 нуклеиновой кислоты по изобретению, предпочтительно, кодирующих различные пептиды или белки, которые содержат, предпочтительно, различные терапевтические белки или их фрагменты, варианты или производные.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение также относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, включающему стадии, например,
15 а) получение последовательности нуклеиновой кислоты или композиции по настоящему изобретению, содержащей несколько (обычно более 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более 10 нуклеиновых кислот, например, 2-10, предпочтительно, 2-5 нуклеиновых кислот) последовательностей нуклеиновых кислот по настоящему изобретению; б) внесения или введения последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено
20 в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, в экспрессирующую систему, например, в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку (например, экспрессирующую клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм. Способ можно использовать в лабораторных, исследовательских,
25 диагностических целях, в целях коммерческого получения пептидов или белков и/или в терапевтических целях. В этом контексте, как правило, после получения последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем
30 документе, ее, как правило, вносят или вводят в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку (например, экспрессирующую клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм, например, в свободной или образующей комплекс форме или в виде фармацевтической композиции, как описано в настоящем документе, предпочтительно, посредством трансфекции или любыми способами введения, как
35 описано в настоящем документе. Способ можно проводить *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. Кроме того, способ можно проводить в отношении лечения конкретного заболевания, предпочтительно, как определено в настоящем документе.

В этом контексте *in vitro* в настоящем документе определяют как трансфекцию или трансдукцию нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем
40 документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, в клетки в культуре вне организма; *in vivo* в настоящем документе определяют как трансфекцию или трансдукцию нуклеиновой кислоты по изобретению или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей
45 нуклеиновой кислоты по изобретению (обычно более 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более 10 нуклеиновых кислот, например, 2-10, предпочтительно, 2-5 нуклеиновых кислот) в клетки посредством внесения нуклеиновой кислоты по изобретению или композиции по изобретению в целый организм или индивидууму; и *ex vivo* в настоящем документе

определяют как трансфекцию или трансдукцию нуклеиновой кислоты по изобретению или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению в клетки вне организма или индивидуума и последующее внесение трансфицированных клеток в организм или индивидууму.

5 Подобным образом, в другом аспекте настоящее изобретение также относится к использованию последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, предпочтительно, в диагностических или терапевтических
10 целях, для повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, в частности, в генной терапии, например, посредством внесения или введения последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, например, в бесклеточную
15 экспрессирующую систему, клетку (например, экспрессирующую клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм. Использование можно проводить в лабораторных, исследовательских, диагностических целях, в целях коммерческого получения пептидов или белков и/или в терапевтических целях, предпочтительно, в генной терапии. В этом контексте, как правило, после получения последовательности
20 нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, ее, как правило, вносят или вводят в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку (например, экспрессирующую клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм,
25 предпочтительно, в свободной или образующей комплекс форме или в виде фармацевтической композиции, как описано в настоящем документе, предпочтительно, посредством трансфекции или любыми способами введения, как описано в настоящем документе. Использование можно проводить *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. Кроме того, использование можно проводить в отношении лечения конкретного заболевания,
30 предпочтительно, как определено в настоящем документе.

В еще одном аспекте настоящее изобретение также относится к экспрессирующей системе по изобретению, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, или экспрессирующему вектору или плазмиде в первом аспекте настоящего изобретения. В этом контексте экспрессирующая система может представлять собой
35 бесклеточную экспрессирующую систему (например, систему транскрипции/трансляции *in vitro*), клеточную экспрессирующую систему (например, клетки млекопитающих, такие как клетки СНО, клетки насекомых, дрожжевые клетки, клетки бактерий, таких как *E. coli*) или организмы, используемые для экспрессии пептидов или белков (например, растения или животные, такие как коровы).

40 Кроме того, в другом аспекте настоящее изобретение также относится к использованию нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, для получения фармацевтической композиции для повышения экспрессии
45 кодируемого пептида или белка, в частности, при использовании в генной терапии, например, для лечения заболевания, предпочтительно, как определено в настоящем документе, например, для внесения или введения нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей

множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, в клетку (например, экспрессирующую клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм, предпочтительно, в свободной форме или образующей комплекс форме или в виде фармацевтической композиции, как описано в настоящем документе, более предпочтительно, любыми способами введения, как описано в настоящем документе.

Таким образом, в конкретном предпочтительном аспекте, настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей нуклеиновую кислоту по изобретению, как определено в настоящем документе, или композицию по изобретению, содержащую множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, и необязательно фармацевтически приемлемый носитель и/или транспортер.

В качестве первого ингредиента фармацевтическая композиция по изобретению содержит по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению, как определено в настоящем документе.

В качестве второго ингредиента фармацевтическая композиция по изобретению необязательно может содержать по меньшей мере один дополнительный фармацевтически активный компонент. Фармацевтически активный компонент в этом контексте представляет собой соединение, которое оказывает терапевтическое действие в отношении лечения, улучшения состояния или предотвращения конкретного симптома или заболевания, как указано в настоящем документе. Такие соединения, не подразумевая каких-либо ограничений, включают пептиды или белки, предпочтительно, как определено в настоящем документе, нуклеиновые кислоты, предпочтительно, как определено в настоящем документе, (терапевтически активные) низкомолекулярные органические или неорганические соединения (молекулярная масса менее 5000, предпочтительно, менее 1000), сахара, антигены или антитела, предпочтительно, как определено в настоящем документе, терапевтические средства, уже существующие на известном уровне техники, антигенные клетки, антигенные клеточные фрагменты, клеточные фракции; компоненты клеточной стенки (например, полисахариды), модифицированные, аттенуированные или деактивированные (например, химически или посредством облучения) патогенные микроорганизмы (вирусы, бактерии и т.п.), адъюванты, предпочтительно, как определено в настоящем документе, и тому подобное.

Кроме того, фармацевтическая композиция по изобретению может содержать фармацевтически приемлемый носитель и/или транспортер. В контексте настоящего изобретения фармацевтически приемлемый носитель, как правило, включает жидкую или нежидкую основу фармацевтической композиции по изобретению. Если фармацевтическая композиция по изобретению предоставлена в жидкой форме, носитель, как правило, представляет собой апиrogenную воду; изотонический солевой раствор или забуференные (водные) растворы, например, забуференные фосфатом, цитратом и т.д. растворы. Инъекционный буфер по отношению к конкретному эталонному носителю может быть гипертоническим, изотоническим или гипотоническим, т.е. буфер может иметь более высокое, идентичное или меньшее содержание солей по сравнению с конкретным эталонным носителем, где, предпочтительно, можно использовать такие концентрации указанных выше солей, которые не приводят к повреждению клеток вследствие осмоса или других концентрационных эффектов. Эталонные носители представляют собой, например, жидкости, существующие в способах "in vivo", такие как кровь, лимфа, цитозольные жидкости, или другие жидкости организма, или, например, жидкости, которые можно использовать в качестве эталонных носителей в

способах "in vitro", такие как общие буферы или жидкости. Такие общие буферы или жидкости известны специалисту. В качестве жидкого основания особенно предпочтителен лактатный раствор Рингера.

Однако для фармацевтической композиции по изобретению также можно использовать один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей или разбавителей или инкапсулирующих соединений, которые подходят для введения пациенту, получаемому лечение. Как используют в настоящем документе, термин "совместимый" обозначает, что эти составляющие фармацевтической композиции по изобретению можно смешивать с нуклеиновой кислотой по изобретению, как определено в настоящем документе, таким образом, что не происходит интеркаляции, которая может значительно снижать фармацевтическую эффективность фармацевтической композиции по изобретению в типичных условиях использования.

В конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция по изобретению может содержать адъювант. В этом контексте адъювант можно понимать как любое соединение, которое подходит для инициации или усиления иммунного ответа врожденной иммунной системы, т.е. неспецифического иммунного ответа. Другими словами, при введении, фармацевтическая композиция по изобретению, благодаря адъюванту, необязательно содержащемуся в ней, предпочтительно, вызывает врожденный иммунный ответ. Предпочтительно, такой адъювант можно выбирать из адъювантов, известных специалисту и подходящих для настоящего случая, т.е. поддержки индукции врожденного иммунного ответа у млекопитающего, например, адъювантного белка, как определено выше, или адъюванта, как определено далее.

Особенно предпочтительными в качестве адъювантов, подходящих для хранения и доставки, являются катионные или поликатионные соединения, как определено выше для последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению в качестве носителя, средства для трансфекции или образования комплекса.

Дополнительные добавки, которые можно включать в фармацевтическую композицию по изобретению, представляют собой эмульгаторы, такие как, например, Tween®; средства для смачивания, такие как, например, лаурилсульфат натрия; красители; придающие вкус средства, фармацевтические носители; формирующие таблетку средства; стабилизаторы; антиоксиданты; консерванты.

Кроме того, фармацевтическая композиция по изобретению может содержать любое дополнительное соединение, которое известно как иммуностимулирующее ввиду его аффинности связывания (в качестве лиганда) с Toll-подобными рецепторами человека TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 или ввиду его аффинности связывания (в качестве лиганда) с Toll-подобными рецепторами мыши TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 или TLR13.

Фармацевтическую композицию по изобретению можно вводить перорально, парентерально, посредством ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или посредством имплантируемого резервуара. Как используют в настоящем документе, термин парентеральный включает подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставный, интрасиновиальный, интрастернальный, интратекальный, внутрипеченочный, внутриочаговый, интракраниальный, трансдермальный, интрадермальный, внутрилегочный, интраперитонеальный, интракардиальный, внутриартериальный и сублингвальный способы инъекции или инфузии.

Предпочтительно, фармацевтическую композицию по изобретению можно вводить

посредством парентеральной инъекции, более предпочтительно, посредством подкожного, внутривенного, внутримышечного, внутрисуставного, интрасиновиального, интратерального, интратекального, внутripеченочного, внутриочагового, интракраниального, трансдермального, интрадермального, внутрилегочного, интраперитонеального, интракардиального, внутриартериального и сублингвального способов инъекции или инфузии. Особенно предпочтительной является интрадермальная и внутримышечная инъекция. Стерильными инъекруемыми формами фармацевтических композиций по изобретению могут быть водная или масляная суспензии. Эти суспензии можно формулировать способами, известными в данной области, с использованием подходящих диспергирующих средств или средств для смачивания и суспендирующих средств.

Фармацевтическую композицию по изобретению, как определено в настоящем документе, также можно вводить перорально в любой перорально приемлемой лекарственной форме, включая в качестве неограничивающих примеров, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы.

Фармацевтическую композицию по изобретению также можно вводить местно, особенно, когда цель лечения включает области и органы, легко доступные при местном применении, например, включая заболевания кожи или любой другой доступной эпителиальной ткани. Для каждого из этих областей или органов легко получать подходящие местные составы. Для местного применения фармацевтическую композицию по изобретению можно формулировать в подходящей мази, содержащей нуклеиновую кислоту по изобретению, как определено в настоящем документе, суспендированной или растворенной в одном или нескольких носителях.

Как правило, фармацевтическая композиция по изобретению содержит "безопасное и эффективное количество" компонентов фармацевтической композиции по изобретению, в частности, последовательности(ей) нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе. Как используют в настоящем документе, "безопасное и эффективное количество" означает такое количество последовательности(ей) нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, как количество, которого достаточно для значимой индукции положительного изменения заболевания или нарушения, как определено в настоящем документе. Однако, в то же время, "безопасное и эффективное количество" является достаточно малым, чтобы избежать серьезных побочных эффектов и обеспечить оптимальную отношение между преимуществом и риском. Определение указанных пределов обычно находится в компетенции лечащего врача.

Кроме того, настоящее изобретение относится к определенным применениям и использованиям последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, композиций по изобретению, содержащих множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, фармацевтической композиции по изобретению, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или наборов, содержащих их.

В одном конкретном аспекте настоящее изобретение относится к первому медицинскому применению последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, в качестве лекарственного средства в генной терапии, предпочтительно, для лечения заболеваний, рассмотренных в настоящем описании изобретения.

В другом аспекте настоящее изобретение относится ко второму медицинскому применению последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, для лечения заболеваний, как определено в настоящем документе, предпочтительно, к использованию последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, композиции по изобретению, содержащей множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, фармацевтической композиции, содержащих их, или наборов, содержащих их, для получения лекарственного средства для профилактики, лечения и/или улучшения состояния заболеваний, как определено в настоящем документе. Предпочтительно, фармацевтическую композицию для этой цели используют или следует вводить нуждающемуся в этом пациенту.

Заболевания, рассмотренные в настоящем описании изобретения, предпочтительно, выбраны из инфекционных заболеваний, новообразований (например, раковых или опухолевых заболеваний), заболеваний крови и кроветворных органов, заболеваний эндокринной системы, заболеваний, связанных с питанием и обменом веществ, заболеваний нервной системы, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, заболеваний пищеварительной системы, заболеваний кожи и подкожной ткани, заболеваний костно-мышечной системы и соединительной ткани и заболеваний мочеполовой системы.

В контексте настоящего изобретения особенно предпочтительными являются наследственные заболевания, выбранные из нижеследующих болезней: синдром делеции 1p36, синдром делеции 18p, недостаточность 21-гидроксилазы, 45,X (синдром Тернера), 47,XX,+21 (синдром Дауна), 47,XXX (синдром тройной хромосомы), 47,XXY (синдром Клайнфелтера), 47,XY,+21 (синдром Дауна), синдром 47,XYY, порфирия вследствие недостаточности дегидратазы 5-ALA (недостаточность дегидратазы ALA), порфирия вследствие недостаточности дегидратазы 5-аминолевулиновой кислоты (недостаточность дегидратазы ALA), синдром делеции 5p (Cri du chat), 5p-синдром (Cri du chat), А-Т (атаксия-телангиэктазия), ААТ (недостаточность альфа-1-антитрипсина), отсутствие семявыносящего протока (врожденное билатеральное отсутствие семявыносящего протока), ацерулоплазмиемия, АСГ2 (ахондрогенез II типа), АСН (ахондроплазия), ахондрогенез II типа, ахондроплазия, недостаточность кислой бета-глюкозидазы (болезнь Гоше I типа), акроцефалосиндактилия (синдром Апера), акроцефалосиндактилия V типа (синдром Пфейффера), акроцефалия (синдром Апера), острая церебральная болезнь Гоше (болезнь Гоше 2 типа), острая перемежающаяся порфирия, недостаточность АСГ2 (болезнь Канавана), AD (болезнь Альцгеймера), краниосиностоз (синдром Мунке), аденоматозный полипоз (наследственный аденоматозный полипоз), аденоматозный полипоз ободочной кишки (наследственный аденоматозный полипоз), ADP (недостаточность дегидратазы ALA), недостаточность аденилсукцинат-лиазы, нарушения надпочечников (недостаточность 21-гидроксилазы), адреногенитальный синдром (недостаточность 21-гидроксилазы), аденолейкодистрофия, AIP (острая перемежающаяся порфирия), AIS (синдром невосприимчивости к андрогену), AKU (алкаптонурия), порфирия вследствие недостаточности ALA дегидратазы (недостаточность дегидратазы ALA), ALA-D порфирия (недостаточность дегидратазы ALA), недостаточность дегидратазы ALA, алкаптонурия, болезнь Александера, алкаптонурия, охроноз, обусловленный алкаптонурией (алкаптонурия), недостаточность альфа-1-антитрипсина, ингибитор

альфа-1-протеиназы (недостаточность альфа-1-антитрипсина), эмфизема, обусловленная альфа-1-антитрипсином (недостаточность альфа-1-антитрипсина), недостаточность альфа-галактозидазы А (болезнь Фабри), ALS (боковой амиотрофический склероз), синдром Алстрома, ALX (болезнь Александра), болезнь Альцгеймера, несовершенный амелогенез, недостаточность дегидратазы аминокислоты (недостаточность дегидратазы ALA), недостаточность аминоксилызы 2 (болезнь Канавана), боковой амиотрофический склероз, болезнь Андерсона-Фабри (болезнь Фабри), синдром невосприимчивости к андрогену, анемия, наследственная сидеробластная анемия (Х-сцепленная сидеробластная анемия), сцепленная с полом гипохромная сидеробластная анемия (Х-сцепленная сидеробластная анемия), наследственная спленомегалическая анемия (болезнь Гоше), синдром Ангелмана, ангиокератома (болезнь Фабри), диффузная ангиокератома (болезнь Фабри), ангиоматоз сетчатки (болезнь Гиппеля-Линдау), ANH1 (Х-сцепленная сидеробластная анемия), устойчивость к APC лейденского типа (тромбофилия Лейдена, обусловленная фактором V), синдром Аперта, недостаточность AR (синдром невосприимчивости к андрогену), AR-CMT2 ee (болезнь Шарко-Мари-Тута 2 типа), арахнодактилия (синдром Марфана), ARNSHL (бессиндромная аутосомная рецессивная глухота), наследственная прогрессирующая артроофтальмопатия (синдром Стиклера, COL2A1), множественная артрохалазия (синдром Элерса-Данлоса типа артрохалазии), AS (синдром Ангелмана), недостаточность Asp (болезнь Канавана), недостаточность Aspa (болезнь Канавана), недостаточность аспартоацилазы (болезнь Канавана), атаксия-телангиэктазия, синдром аутизма-деменции-атаксии-утраты целевого использования руки (синдром Ретта), аутосомный доминантный юношеский ALS (боковой амиотрофический склероз 4 типа), синдром Опица G/BBB (синдром делеции 22q11.2), аутосомная рецессивная форма юношеского ALS 3 типа (боковой амиотрофический склероз 2 типа), аутосомная рецессивная нессиндромная потеря слуха (бессиндромная аутосомная рецессивная глухота), аутосомное рецессивное нейросенсорное ухудшение слуха (синдром Пендреда), AxD (болезнь Александра), синдром Айерсы (первичная легочная гипертензия), вариант В ганглиозидоза, обусловленного гексоамидазой GM2 (болезнь Сандхоффа), BANF (нейрофиброматоз 2), синдром Баре-Стивенсона, доброкачественный пароксизмальный перитонит (семейная средиземноморская лихорадка), синдром Бенджамина, бета-талассемия, недостаточность ВН4 (недостаточность тетрагидробиоптерина), билатеральный акустический нейрофиброматоз (нейрофиброматоз 2), недостаточность биотинидазы, рак мочевого пузыря, геморрагические нарушения (тромбофилия Лейдена, обусловленная фактором V), синдром Блоха-Сульцбергер (пигментный дерматоз), синдром Блума, заболевания костей, заболевания костного мозга (Х-сцепленная сидеробластная анемия), синдром Бонневи-Улдриха (синдром Тернера), болезнь Бурневилля (туберозный склероз), факоматоз Бурневилля (туберозный склероз), заболевания головного мозга, рак молочной железы, синдром Бирта-Хогга-Дубе, несовершенный остеогенез, синдром Рубинштейна-Тейби, бронзовый диабет (гемохроматоз), бронзовый цирроз (гемохроматоз), Х-сцепленная атрофия бульбоспинальных мышц (болезнь Кеннеди), синдром Бургена-Груца (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), CADASIL, хронический грануломатоз (CGD), камптодактилия, болезнь Канавана, рак, наследственный синдром рака (наследственный неполипозный колоректальный рак), рак молочной железы, рак мочевого пузыря, множественная поздняя недостаточность карбоксилазы (недостаточность биотинидазы), кардиомиопатия (синдром Нунана), синдром кошачьего крика (Cri du chat), CAVD (врожденное билатеральное отсутствие семявыносящего протока), кардиофациальный

синдром Кайлора (синдром делеции 22q11.2), CBAVD (врожденное билатеральное отсутствие семявыносящего протока), болезнь солнечного сплетения, CEP (врожденная эритропоэтическая порфирия), недостаточность керамид-тригексосульфатазы (болезнь Фабри), наследственный мозжечково-ретикулярный ангиоматоз, наследственная болезнь

5 Гиппеля-Линдау, церебральная артериопатия с субкортикальным инфарктом и лейкоцефалопатией (CADASIL), церебральная аутосомная доминантная артериопатия с субкортикальным инфарктом и лейкоэнцефалопатией (CADASIL), церебральный склероз (туберозный склероз), цереброатрофическая гипераммониемия (синдром Ретта), наследственный глюкоцереброзидоз (болезнь Гоше), CF (кистозный фиброз), СН

10 (врожденный гипотиреоз), болезнь Шарко (боковой амиотрофический склероз), болезнь Шарко-Мари-Тута, хондродистрофия (ахондроплазия), синдром хондродистрофии (ахондроплазия), хондродистрофия с нейросенсорной глухотой (отоспонгиоз), несовершенный хондрогенез (ахондрогенез II типа), синдром хореоатетоза с самоповреждением (синдром Леша-Найхана), классическая галактоземия (галактоземия),

15 классический синдром Элерса-Данлоса (синдром Элерса-Данлоса классического типа), классическая фенилкетонурия (фенилкетонурия), расщелина губы и неба (синдром Стиклера), череп в виде клеверного листа со смертельной недоразвитостью (смертельная дисплазия 2 типа), CLS (синдром Коффина-Лоури), CMT (болезнь Шарко-Мари-Тута), синдром Коккейна, синдром Коффина-Лоури, коллагенопатия II и XI типов,

20 наследственный неполипозный рак ободочной кишки (наследственный неполипозный колоректальный рак), наследственный рак ободочной кишки (наследственный аденоматозный полипоз), колоректальный рак, полная недостаточность HPRT (синдром Леша-Найхана), полная недостаточность гипоксантингуанин-фосфорибозитрансферазы (синдром Леша-Найхана), компрессионная невропатия (наследственная невропатия с

25 предрасположенностью к параличу со сдавлением нерва), врожденная гиперплазия надпочечника (недостаточность 21-гидроксилазы), врожденное билатеральное отсутствие семявыносящего протока (врожденное отсутствие семявыносящего протока), врожденная эритропоэтическая порфирия, врожденный порок сердца, врожденная гипомиелинизация (болезнь Шарко-Мари-Тута 1 типа/болезнь Шарко-Мари-Тута 4

30 типа), врожденный гипотиреоз, врожденная метгемоглобинемия (метгемоглобинемия), врожденный остеосклероз (ахондроплазия), врожденная сидеробластная анемия (X-сцепленная сидеробластная анемия), заболевание соединительной ткани, синдром лицевой аномалии (синдром делеции 22q11.2), анемия Кули (бета-талассемия), болезнь накопления меди (болезнь Вильсона), болезнь переноса меди (болезнь Менке),

35 наследственная копропорфирия, недостаточность копропорфириноген-оксидазы (наследственная копропорфирия), синдром Каудена, недостаточность CPO (наследственная копропорфирия), недостаточность CPRO (наследственная копропорфирия), недостаточность CPX (наследственная копропорфирия), черепно-лицевой дизостоз (синдром Крузона), черепно-лицевой дизостоз (синдром Крузона),

40 кретинизм (врожденный гипотиреоз), болезнь Крейтцфельда-Якоба (спастический псевдосклероз), Cri du chat (болезнь Крона, фибростеноз), синдром Крузона, синдром Крузона с акантозом (дермоскелетный синдром Крузона), дермоскелетный синдром Крузона, CS (синдром Коккейна) (синдром Каудена), синдром Куршманна-Баттена-Штейнерта (миотоническая дистрофия), синдром Баре-Стивенсона (синдром свернутой

45 кожи Баре-Стивенсона), мутация хромосомы, недостаточность D-глицерат-дегидрогеназы (первичная гипероксалурия), синдром метафизита (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа Струдвика), DAT-деменция типа болезни Альцгеймера (болезнь Альцгеймера), генетическая гиперкальциурия (болезнь Дента),

DBMD (мышечная дистрофия типа болезни Дюшенна и Бекера), глухота с зобом (синдром Пендреда), синдром глухоты с пигментным ретинитом (синдром Ушера), болезнь, обусловленная недостаточностью фенилаланингидроксилазы (фенилкетонурия), дегенеративные заболевания нервной системы, синдром 1 Гроши, синдром Дежерина-Сотта (болезнь Шарко-Мари-Тута), порфирия, обусловленная недостаточностью дельта-аминолевулинат-дегидратазы (недостаточность дегидратазы ALA), деменция (CADASIL), демиелогенная лейкодистрофия (болезнь Александра), синдром Элерса-Данлоса дерматоспараксического типа, дерматоспараксис (синдром Элерса-Данлоса дерматоспараксического типа), инвалидность вследствие порока развития, dHMN (боковой амиотрофический склероз 4 типа), DHMN-V (атрофия спинных мышц V типа), недостаточность DHTR (синдром невосприимчивости к андрогену), диффузный глобоидный склероз (болезнь Краббе), синдром ДиЖорже, недостаточность рецепторов дигидротестостерона (синдром невосприимчивости к андрогену), атрофия спинных мышц V типа, DM1 (миотоническая дистрофия 1 типа), DM2 (миотоническая дистрофия 2 типа), синдром Дауна, DSMAV (атрофия спинных мышц V типа), DSN (болезнь Шарко-Мари-Тута 4 типа), DSS (болезнь Шарко-Мари-Тута 4 типа), мышечная дистрофия Дюшенна/Бекера (мышечная дистрофия типа болезни Дюшенна и Бекера), хондродистрофическое недоразвитие (ахондроплазия), смертельное недоразвитие (смертельная дисплазия), карликовость, синдром умственной отсталости - атрофии сетчатки - глухоты (синдром Коккейна), дисмиелиногенная лейкодистрофия (болезнь Александра), миотоническая дистрофия, синдром дистрофии-пигментного ринита-дизостоза (синдром Ушера), ранняя наследственная болезнь Альцгеймера (EOFAD) (болезнь Альцгеймера), EDS (синдром Элерса-Данлоса), синдром Элерса-Данлоса, болезнь Экмана-Лобштейна (несовершенный остеогенез), невропатия с ущемлением нерва (наследственная невропатия с предрасположенностью к параличу со сдавливанием нерва), эпиллоя (туберозный склероз), EPP (эритропоэтическая протопорфирия), эритробластная анемия (бета-талассемия), эритропеченочная протопорфирия (эритропоэтическая протопорфирия), недостаточность эритроидной 5-аминолевулинат-синтетазы (X-сцепленная сидеробластная анемия), эритропоэтическая порфирия (врожденная эритропоэтическая порфирия), эритропоэтическая протопорфирия, эритропоэтическая уропорфирия (врожденная эритропоэтическая порфирия), рак глаза (ретинобластома, FA - атаксия Фридрейха), болезнь Фабри, повреждения и нарушения лица, тромбофилия Лейдена, обусловленная фактором V, FALS (боковой амиотрофический склероз), наследственная невринома слухового нерва (нейрофиброматоз II типа), наследственный аденоматозный полипоз, наследственная болезнь Альцгеймера (FAD) (болезнь Альцгеймера), наследственный боковой амиотрофический склероз (боковой амиотрофический склероз); наследственная вегетативная дистония, наследственная жировая гипертриглицеридемия (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), наследственный гемохроматоз (гемохроматоз), наследственная недостаточность LPL (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), наследственный непוליпозный рак ободочной кишки (наследственный непוליпозный колоректальный рак), наследственный пароксизмальный полисерозит (семейная средиземноморская лихорадка), наследственная PCT (кожная порфирия), наследственная компрессионная невропатия (наследственная невропатия с предрасположенностью к параличу со сдавливанием нерва), наследственная первичная легочная гипертензия (FPPH) (первичная легочная гипертензия), наследственный синдром Тернера (синдром Нунана), наследственная лейкоэнцефалопатия сосудов (CADASIL), FAP (наследственный аденоматозный полипоз), FD (наследственная вегетативная

дистония), женский псевдосиндром Тернера (синдром Нунана), недостаточность феррохелатазы (эритропоэтическая протопорфирия), болезнь, обусловленная ферропортином (гемохроматоз 4 типа), лихорадка (семейная средиземноморская лихорадка), синдром FG, FGR3-связанный синостоз венечного шва (синдром Мунке),

5 фибриноидная дегенерация астроцитов (болезнь Александра), фиброцистная болезнь поджелудочной железы (муковисцидоз), FMF (семейная средиземноморская лихорадка), болезнь Фоллинга (фенилкетонурия), синдром fra(X) (синдром слабой X-хромосомы), синдром слабой X-хромосомы, несовершенный остеогенез, синдром FRAXA (синдром слабой X-хромосомы), FRDA (атаксия Фридрейха), атаксия Фридрейха, FXS (синдром

10 слабой X-хромосомы), недостаточность G6PD, недостаточность галактокиназы (галактоземия), недостаточность галактоза-1-фосфат-уридилтрансферазы (галактоземия), галактоземия, недостаточность галактозилкерамидазы (болезнь Краббе), липидоз, обусловленный галактозилкерамидом (болезнь Краббе), недостаточность галактозилцереброзидазы (болезнь Краббе), липидоз, обусловленный

15 галактозилсфингозином (болезнь Краббе), недостаточность GALC (болезнь Краббе), недостаточность GALT (галактоземия), болезнь Гоше, болезнь, подобная болезни Гоше (псевдобольше Гоше), недостаточность GBA (болезнь Гоше 1 типа), CD (болезнь Гоше), генетические нарушения головного мозга, генетическая эмфизема (недостаточность альфа-1-антитрипсина), генетический гемохроматоз (гемохроматоз), врожденный

20 гигантоклеточный гепатит (врожденный гемохроматоз), недостаточность GLA (болезнь Фабри), глиобластома сетчатки (ретинобластома), глиома сетчатки (ретинобластома), глобоидно-клеточная лейкодистрофия (GCL, GLD) (болезнь Краббе), глобоидно-клеточная лейкоэнцефалопатия (болезнь Краббе), недостаточность глюкоцереброзидазы (болезнь Гоше), глюкоцереброзидоз (болезнь Гоше), глюкозилцереброзидный липидоз

25 (болезнь Гоше), недостаточность глюкозилкерамидазы (болезнь Гоше), недостаточность глюкозилкерамид-бета-глюкозидазы (болезнь Гоше), глюкозилкерамидный липидоз (болезнь Гоше), глицириновая ацидурия (первичная гипероксалурия), глицириновая энцефалопатия (некетоновая гиперглицинемия), гликолевая ацидурия (первичная гипероксалурия), ганглиодоз GM2 1 типа (болезнь Тея-Сакса), синдром глухоты Гойтера

30 (синдром Пендреда), синдром Графе-Ушера (синдром Ушера), синдром Гронблада-Страндбера (псевдоксантома), порфирия Гюнтера (врожденная эритропоэтическая порфирия), болезнь Гюнтера (врожденная эритропоэтическая порфирия), гемохроматоз, синдром Галлгрена (синдром Ушера), ихтиоз Гарлеквина, болезнь Hb S (серповидно-клеточная анемия), HCN (гипохондроплазия), HCP (наследственная копропорфирия),

35 неправильное формирование головы и головного мозга, нарушения слуха и глухота, проблемы со слухом у детей, HEF2A (гемохроматоз 2 типа), HEF2B (гемохроматоз 2 типа), гематопорфирия (порфирия), недостаточность гемсинтетазы (эритропоэтическая протопорфирия), гемохроматоз, болезнь, обусловленная гемоглобином M (метгемоглобинемия типа бета-глобина), болезнь, обусловленная гемоглобином S (серповидно-клеточная анемия), гемофилия, HEP (гепатоэритропоэтическая порфирия),

40 недостаточность печеночного AGT (первичная гипероксалурия), гепатоэритропоэтическая порфирия, синдром гепатолентикулярной дегенерации (болезнь Вильсона), наследственная артроофтальмопатия (синдром Стиклера), наследственная копропорфирия, наследственный дистрофический липидоз (болезнь Фабри),

45 наследственный гемохроматоз (HHC) (гемохроматоз), наследственная миопатия, обусловленная вирусными включениями (регенерация скелетных мышц), наследственная железодефицитная анемия (X-сцепленная сидеробластная анемия), наследственная невропатия двигательных и чувствительных нервов (болезнь Шарко-Мари-Тута),

наследственная невропатия двигательных нервов (атрофия спинных мышц), наследственная невропатия двигательных нервов V типа (атрофия спинных мышц V типа), наследственный множественный экзостоз, наследственный неполипозный колоректальный рак, синдром наследственной периодической лихорадки (семейная средиземноморская лихорадка), наследственный полипоз (наследственный аденоматозный полипоз), наследственная легочная эмфизема (недостаточность альфа-1-антитрипсина), наследственная устойчивость к активированному протеину C (тромбофилия Лейдена, обусловленная фактором V), наследственная невропатия чувствительных и вегетативных нервов III типа (наследственная вегетативная дистония), наследственная спастическая параплегия (наследственный детский восходящий спастический паралич), наследственная атаксия спинного мозга (атаксия Фридрейха), наследственный склероз спинного мозга (атаксия Фридрейха), анемия Геррика (серповидно-клеточная анемия, гетерозиготная OSMED (синдром Вессенбахера-Цвеймюллера), гетерозиготная отоспондиломегаэпифизарная дисплазия (синдром Вессенбахера-Цвеймюллера), недостаточность HexA (болезнь Тея-Сакса), недостаточность гексозаминидазы A (болезнь Тея-Сакса), недостаточность альфа-субъединицы гексозаминидазы (вариант B) (болезнь Тея-Сакса), HFE-связанный гемохроматоз (гемохроматоз), HGPS (прогерия), болезнь Гиппеля-Линдау, HLAN (гемохроматоз), HMN V (атрофия спинных мышц V типа), HMSN (болезнь Шарко-Мари-Тута), HNPPC (наследственный неполипозный колоректальный рак), HNPP (наследственная невропатия с предрасположенностью к параличу со сдавливанием нерва), гомоцистинурия, недостаточность оксидазы гомогентизиновой кислоты (алкаптонурия), алкаптонурия, гомозиготная порфирия (гепатоэритропоэтическая порфирия), HP1 (первичная гипероксалурия), HP2 (первичная гипероксалурия), HPA (гиперфенилаланинемия), HPRT - недостаточность гипоксантингуанин-фосфорибозилтрансферазы (синдром Леша-Найхана), HSAN III типа (наследственная вегетативная дистония), HSAN3 (наследственная вегетативная дистония), HSN-III (наследственная вегетативная дистония), дерматоспараксис (синдром Элерса-Данлоса дерматоспараксического типа), болезнь Гентингтона, синдром прогерии Гетчинсона-Гилфорда (прогерия), гиперандрогенизм неклассического типа вследствие недостаточности 21-гидроксилазы (недостаточность 21-гидроксилазы), гипергилломикронемия (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), гиперглицинемия с кетоацидозом и лейкопенией (пропионовая ацидемия), гиперлипопротеинемия I типа (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), первичная гипероксалурия гиперфенилаланинемия, гипохондродисплазия (гипохондроплазия), гипохондрогенез, гипохондроплазия, гипохромная анемия (X-сцепленная сидеробластная анемия), врожденная гипокупремия (синдром Менке), недостаточность гипоксантинфосфорибозилтрансферазы (HPRT) (синдром Леша-Найхана), IAHSP (наследственный детский восходящий спастический паралич), идиопатический гемохроматоз (гемохроматоз 3 типа), идиопатический неонатальный гемохроматоз (неонатальный гемохроматоз), идиопатическая легочная гипертензия (первичная легочная гипертензия), нарушения иммунной системы (тяжелая форма X-сцепленного комбинированного иммунодефицита), пигментная инконтиненция, детская церебральная болезнь Гоше (болезнь Гоше 2 типа), детская болезнь Гоше (болезнь Гоше 2 типа), наследственный детский восходящий спастический паралич, бесплодие, наследственная эмфизема (недостаточность альфа-1-антитрипсина), наследственная трансмиссивная губковидная энцефалопатия, наследственная предрасположенность к параличу со сдавливанием нерва (наследственная невропатия с предрасположенностью

к параличу со сдавливанием нерва), синдром Инслея-Астлея (отоспондиломегаэпифизарная дисплазия), синдром перемежающейся острой порфирии (острая перемежающаяся порфирия), синдром полипоза кишечника и пигментации кожи (синдром Пейтца-Егерса), IP (пигментная инконтиненция), нарушение накопления железа (гемохроматоз),

5 изодицентрическая хромосома 15 (idic 15), изолированная глухота (бессиндромная глухота), синдром Джексона-Вейсса, JH (гемохроматоз 2 типа), синдром Юберта, JPLS (юношеский первичный боковой склероз), юношеский боковой амиотрофический склероз (боковой амиотрофический склероз 2 типа), юношеская подагра, хореоатетоз, синдром умственной отсталости (синдром Леша-Найхана), синдром юношеской

10 гиперуриемии (синдром Леша-Найхана), JWS (синдром Джексона-Вейсса), KD (X-сцепленная мышечная атрофия продолговатого мозга), болезнь Кеннеди (X-сцепленная мышечная атрофия продолговатого мозга), мышечная атрофия продолговатого мозга Кеннеди (X-сцепленная мышечная атрофия продолговатого мозга), гистиоцитоз, обусловленный керазином (болезнь Гоше), липоидоз, обусловленный керазином (болезнь

15 Гоше), тезауризмоз, обусловленный керазином (болезнь Гоше), кетоновая глицинемия (пропионовая ацидемия), кетоновая гиперглицинемия (пропионовая ацидемия), болезни почек (первичная гипероксалурия), синдром Клайнфелтера, дисплазия Книста, болезнь Краббе, лакунарная деменция (CADASIL), ахондрогенез Лангера-Сальдино (ахондрогенез II типа), дисплазия Лангера-Сальдино (ахондрогенез II типа), поздняя

20 болезнь Альцгеймера (болезнь Альцгеймера 2 типа), поздняя наследственная болезнь Альцгеймера (AD2) (болезнь Альцгеймера 2 типа), поздняя болезнь Краббе (LOKD) (болезнь Краббе), нарушения познавательной функции (неспособность к обучению), периоральный лентигоз (синдром Пейтца-Егерса), синдром Леша-Найхана, лейкодистрофия, лейкодистрофия с лихорадкой Розенталя (болезнь Александера),

25 губковидная лейкодистрофия (болезнь Канавана), LFS (синдром Ли-Фраумени), недостаточность липазы D (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), недостаточность LIPD (наследственная недостаточность липопротеин-липазы), наследственный цереброзидоз (болезнь Гоше), детский ганглиозидный липидоз (болезнь Тея-Сакса), липоидный гистиоцитоз (обусловленный керазином) (болезнь Гоше),

30 наследственная недостаточность липопротеин-липазы, болезни печени (галактоземия), болезнь Луи Герига (боковой амиотрофический склероз), синдром Луи-Бар (атаксия-телангиэктазия), синдром Линча (наследственный неполипозный колоректальный рак), недостаточность лизилгидроксилазы (синдром Элерса-Данлоса типа кифосколиоза), болезнь Мачадо-Джозефа (атаксия спинного мозга и мозжечка 3 типа), рак грудной

35 железы у мужчин (рак грудной железы), нарушения мужских половых органов, мужской синдром Тернера (синдром Нунана), злокачественное новообразование молочной железы (рак молочной железы), злокачественная опухоль молочной железы (рак молочной железы), злокачественная опухоль мочевого пузыря (рак мочевого пузыря), синдром Марфана 15, синдром маркера X (синдром слабой X-хромосомы), синдром

40 Мартина-Белла (синдром слабой X-хромосомы), синдром Мак-Куна-Олбрайта, синдром Мак-Леода, MEDNIK, средиземноморская анемия (бета-талассемия), семейная средиземноморская лихорадка, мегаэпифизарная карликовость (отоспондиломегаэпифизарная дисплазия), синдром Менке, умственная отсталость с костно-хрящевыми аномалиями (синдром Коффина-Лоури), нарушения обмена веществ,

45 метатропная карликовость II типа (дисплазия Книста), метатропная дисплазия II типа (дисплазия Книста), метгемоглобинемия, обусловленная бета-глобином, метилмалоновая ацидемия, MFS (синдром Марфана), МНАМ (синдром Каудена), МК (синдром Менке), микросиндром, микроцефалия, ММА (метилмалоновая ацидемия), MNK (синдром

Менке), синдром моносомии 1p36 (синдром делеции 1p36), моносомия X (синдром Тернера), заболевание двигательных нейронов, боковой амиотрофический склероз, нарушения движений, синдром Мовата-Вильсона, мукополисахаридоз (MPS I), муковисцидоз (фиброзно-кистозная дегенерация), синдром Мунке, деменция,

5 обусловленная несколькими инфарктами (CADASIL), поздняя недостаточность карбоксилазы, (недостаточность биотинидазы), синдром множественной гамартомы (синдром Каудена), множественный нейрофиброматоз (нейрофиброматоз), мышечная дистрофия, мышечная дистрофия типа болезни Дюшенна и Бекера, дистрофическая миотония), врожденная микседема (врожденный гипотиреоз), синдром Нансе-Инслея

10 (отоспондиломегаэпифизарная дисплазия), хондродисплазия Нансе-Свиня (отоспондиломегаэпифизарная дисплазия), NBIA1 (нейродегенерация, связанная с пантотенат-киназой), синдром Нейлла-Дингволла (синдром Коккейна), нейробластома сетчатки (ретинобластома), нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге 1 типа (нейродегенерация, связанная с пантотенат-киназой), нейрофиброматоз I типа,

15 нейрофиброматоз II типа, неврологические болезни, нервно-мышечные нарушения, невропатия, наследственная атрофия двигательных нервов V типа (атрофия мышц спины V типа), наследственная невропатия двигательных нервов с пирамидальными нейронами (боковой амиотрофический склероз 4 типа), NF (нейрофиброматоз), болезнь Ниманна-Пика, синдром Ноака (синдром Пфейффера), некетоновая гиперглицинемия

20 (глициновая энцефалопатия), ненейрогенная болезнь Гоше (болезнь Гоше 1 типа), нефенилкетоновая гиперфенилаланинемия (недостаточность тетрагидробиоптерина), бессиндромная глухота, синдром Нунана, болезнь Норрботтнана-Гоше (болезнь Гоше 3 типа), охроноз (алкаптонурия), охронозный артрит (алкаптонурия), ОI (несовершенный остеогенез), OSMED (отоспондиломегаэпифизарная дисплазия), несовершенный

25 остеогенез, остеопсатироз (несовершенный остеогенез), врожденный остеосклероз (ахондроплазия), отоспондиломегаэпифизарная дисплазия, оксалоз (первичная гипероксалурия), первичная оксалурия (первичная гипероксалурия), нейродегенерация, связанная с пантотенат-киназой, синдром Патау (трисомия 13), недостаточность PBGD (острая перемежающаяся порфирия), недостаточность PCC (пропионовая ацидемия),

30 PCT (позняя кожная порфирия), PDM (миотоническая дистрофия 2 типа), синдром Пендреда, периодическая болезнь (семейная средиземноморская лихорадка), периодический перитонит (семейная средиземноморская лихорадка), синдром лентигиноза (синдром Пейтца-Егерса), нарушения периферических нервов (наследственная вегетативная дистония), периферический нейрофиброматоз

35 (нейрофиброматоз I), мышечная атрофия малоберцовой кости (болезнь Шарко-Мари-Тута), недостаточность пероксисомной аланин:глиоксилат-аминотрансферазы (первичная гипероксалурия), синдром Пейтца-Егерса, синдром Пфейффера, недостаточность фенилаланингидроксилазы (фенилкетонурия), фенилкетонурия, феохромоцитома (болезнь Гиппеля-Линдау), синдром Робена с хондродисплазией плода

40 (синдром Вессенбахера-Цвеймюллера), пигментный цирроз печени (гемохроматоз), PJS (синдром Пейтца-Егерса), PKAN (нейродегенерация, связанная с пантотенат-киназой), PKU (фенилкетонурия), плюмбопорфирия (порфирия, обусловленная недостаточностью ALA), PMA (болезнь Шарко-Мари-Тута), полиоссальная фиброзная остеодисплазия (синдром Мак-Куна-Олбрайта), полипоз (наследственный

45 аденоматозный полипоз), гамартома кишечника (синдром Пейтца-Егерса), полипоз кишечника II (синдром Пейтца-Егерса), синдром полипов и пятен (синдром Пейтца-Егерса), недостаточность порфобилиногенсинтазы (порфирия, обусловленная недостаточностью ALA), порфирия, нарушение, обусловленное порфирином (порфирия),

РРН (первичная легочная гипертензия), недостаточность РРОХ (порфирия), синдром Прадера-Лабхарта-Вилли (синдром Прадера-Вилли), синдром Прадера-Вилли, пресенильная и сенильная деменция (болезнь Альцгеймера), первичный гемохроматоз (гемохроматоз), синдром первичной гиперуриемии (синдром Леша-Найхана), первичная легочная гипертензия, первичная старческая дегенеративная деменция (болезнь Альцгеймера), мутант проколлагена типа EDS VII (синдром Элерса-Данлоса типа артрохалазии), прогерия (синдром прогерии Гетчинсона-Гилфорда), прогерия-подобный синдром (синдром Коккейна), прогероидный нанизм (синдром Коккейна), прогрессирующая хорея, наследственная хроническая хорея Гентингтона (болезнь Гентингтона), прогрессирующая мышечная атрофия (атрофия спинных мышц), прогрессирующий деформирующий несовершенный остеогенез с нормальной склерой (несовершенный остеогенез III типа), PROMM (миотоническая дистрофия 2 типа), пропионовая ацидемия, недостаточность пропионил-СоА-карбоксилазы (пропионовая ацидемия), недостаточность протеина C, недостаточность протеина S, протопорфирия (эритропоэтическая протопорфирия), недостаточность протопорфириноген-оксидазы (пятнистая порфирия), проксимальная миотоническая дистрофия (миотоническая дистрофия 2 типа), проксимальная миотоническая миопатия (миотоническая дистрофия 2 типа), псевдобольница Гоше (псевдосиндром Улльриха-Тернера (синдром Нунана), псевдоксантома, психозный липидоз (болезнь Краббе), гипертензия легочной артерии (первичная легочная гипертензия), легочная гипертензия (первичная легочная гипертензия), PWS (синдром Прадера-Вилли), PXE - псевдоксантома, Rb (ретинобластома), болезнь Реклингхаузена (нейрофиброматоз 1), рецидивирующий полисерозит (семейная средиземноморская лихорадка), нарушения сетчатки, синдром пигментного ретинита-глухоты (синдром Ушера), ретинобластома, синдром Ретта, RFALS 3 типа (боковой амиотрофический склероз 2 типа), синдром Рикера (миотоническая дистрофия 2 типа), синдром Райли-Дея (наследственная вегетативная дистония), синдром Русси-Леви (болезнь Шарко-Мари-Тута), RSTS (синдром Рубинштейна-Тейби), RTS (синдром Ретта) (синдром Рубинштейна-Тейби), RTT (синдром Ретта), синдром Рубинштейна-Тейби, синдром Сака-Барабаса (синдром Элерса-Данлоса сосудистого типа), SADDAN, синдром наследственной саркомы Ли и Фрамени (синдром Ли-Фрамени), синдром саркомы, рака молочной железы, лейкоза и рака надпочечников (SBLA) (синдром Ли-Фрамени), синдром SBLA (синдром Ли-Фрамени), SBMA (X-сцепленная мышечная атрофия продолговатого мозга), SCD (серповидно-клеточная анемия), двухсторонняя невринома слухового нерва (нейрофиброматоз 2), SCIDX1 (тяжелая форма X-сцепленного комбинированного иммунодефицита), туберозный склероз, SDAT (болезнь Альцгеймера), врожденная SED (врожденная спондилоэпифизарная дисплазия), SED Струдвика (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), SEDc (врожденная спондилоэпифизарная дисплазия), SEMD типа болезни Струдвика (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), старческая деменция (болезнь Альцгеймера 2 типа), тяжелая форма ахондроплазии с отставанием развития и акантозом (SADDAN), синдром Шпринцена (синдром делеции 22q11.2), серповидно-клеточная анемия, синдром скелета-кожи-головного мозга (SADDAN), нарушения пигментации кожи, SMA (мышечная атрофия спинного мозга), SMED типа болезни Струдвика (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), SMED I типа (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), синдром Смита-Лемли-Опица, южноафриканская генетическая порфирия (пятнистая порфирия), детский восходящий спастический паралич (детский наследственный восходящий спастический паралич), нарушения речи и общения,

сфинголипидоз Тея-Сакса (болезнь Тея-Сакса), мышечная атрофия продолговатого мозга, мышечная атрофия спинного мозга, дистальная мышечная атрофия спинного мозга V типа (дистальная мышечная атрофия спинного мозга V типа), дистальная мышечная атрофия спинного мозга с преобладающим поражением верхних конечностей (дистальная мышечная атрофия спинного мозга V типа), атаксия спинного мозга и мозжечка, спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика, врожденная спондилоэпифизарная дисплазия, спондилоэпифизарная дисплазия (коллагенопатия II и XI типов), врожденная спондилометаэпифизарная дисплазия типа болезни Струдвика (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), спондилометафизарная дисплазия (SMD) (спондилометафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), спондилометафизарная дисплазия типа болезни Струдвика (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), губковидная дегенерация центральной нервной системы (болезнь Канавана), губковидная дегенерация головного мозга (болезнь Канавана), губковидная дегенерация белого вещества у новорожденных (болезнь Канавана), спорадическая первичная легочная гипертензия (первичная легочная гипертензия), синдром SSB (SADDAN), синдром сидерозных волос (синдром Менке), болезнь Штейнера (миотоническая дистрофия), синдром миотонической дистрофии Штейнера (миотоническая дистрофия), синдром Стиклера, инсульт (CADASIL), синдром Струдвика (спондилоэпиметафизарная дисплазия типа болезни Струдвика), подострая невропатия Гоше (болезнь Гоше 3 типа), шведская генетическая порфирия (острая перемежающаяся порфирия), шведская порфирия (острая перемежающаяся порфирия), хрящевая дисплазия (дисплазия Кнеста), болезнь Тея-Сакса, TD - смертельная недоразвитость (смертельная дисплазия), TD с прямыми бедренными костями и черепом в виде клеверного листа (смертельная дисплазия 2 типа), мозжечково-глазолицевая телеангиэктазия (атаксия-телеангиэктазия), синдром феминизации при мужском псевдогермафродитизме (синдром невосприимчивости к андрогену), недостаточность тетрагидробиоптерина, TFM - синдром феминизации при мужском псевдогермафродитизме (синдром невосприимчивости к андрогену), средняя талассемия (бета-талассемия), большая талассемия (бета-талассемия), смертельная дисплазия, мегалобластная анемия, обусловленная тиаминем, с сахарным диабетом и перцептивной глухотой, тромбофилия вследствие недостаточности кофактора для активированного протеина C типа болезни Лейдена (тромбофилия Лейдена, обусловленная фактором V), болезнь щитовидной железы, томакулезная невропатия (наследственная невропатия с предрасположенностью к параличу со сдавлением нерва), полная недостаточность HPRT (синдром Леша-Найхана), полная недостаточность гипоксантингуанин-фосфорибозилтрансферазы (синдром Леша-Найхана), синдром Туретте, трансмиссивная деменция, трансмиссивная губковидная энцефалопатия, синдром Тришера-Коллинза, Trias fragilitis ossium (несовершенный остеогенез I типа), синдром тройной X-хромосомы, синдром трех X (синдром тройной X-хромосомы), трисомия 21 (синдром Дауна), трисомия X (синдром тройной X-хромосомы), синдром Троизьера-Гано-Шаффарда (гемохроматоз), TS (синдром Тернера), TSD (болезнь Тея-Сакса), TSEs (болезнь, вызываемая прионом), туберозный склероз, синдром Тернера, синдром Тернера у женщин с X-хромосомой (синдром Нунана), фенотип Тернера (синдром Нунана), синдром, подобный болезни Тернера (синдром Нунана), болезнь Гоше 2 типа, болезнь Гоше 3 типа, болезнь, обусловленная недостаточностью UDP-галактозо-4-эпимеразы (галактоземия), недостаточность UDP-глюкозогексоза-1-фосфат-уридилитрансферазы (галактоземия), синдром Уллриха-Нунана (синдром Нунана), синдром Уллриха-Тернера (синдром Тернера), недифференцированная глухота (бессиндромная глухота),

недостаточность UPS (острая перемежающаяся порфирия), рак мочевого пузыря, недостаточность UROD (поздняя кожная порфирия), недостаточность уропорфириноген-декарбоксилазы (поздняя кожная порфирия), недостаточность уропорфириноген-синтазы (острая перемежающаяся порфирия), недостаточность UROS (врожденная эритропоэтическая порфирия), синдром Ушера, недостаточность UTP гексоза-1-фосфатуридилтрансферазы (галактоземия), синдром Богарта-Бертрона (болезнь Канавана), синдром Хоуа (несовершенный остеогенез I типа), пятнистая порфирия, небо-лицевой синдром (синдром делеции 22q11.2), синдром VHL (болезнь Гиппеля-Линдау), ухудшение зрения и слепота (синдром Альстрёма), болезнь Богарта-Бертрона (болезнь Канавана), болезнь Гиппеля-Линдау, болезнь Реклингхаузена-Эпплбаума (гемохроматоз), болезнь Реклингхаузена (нейрофиброматоз I), VP (пятнистая порфирия), болезнь Вролика (несовершенный остеогенез), синдром Ваарденберга, синдром Варберга-Фледелиуса (микросиндром), WD (болезнь Вильсона), синдром Вессенбахера-Цвеймюллера, болезнь Вильсона, синдром Вульфа-Гиршхорна, периодическая болезнь Вульфа (семейная средиземноморская лихорадка), WZS (синдром Вессенбахера-Цвеймюллера), пигментная ксеродерма, X-сцепленная умственная отсталость и макроорхидизм (синдром слабой X-хромосомы), X-сцепленная первичная гиперурицемия (синдром Леша-Найхана), тяжелая форма X-сцепленного комбинированного иммунодефицита, X-сцепленная сидеробластная анемия, X-сцепленная мышечная атрофия продолговатого мозга (болезнь Кеннеди), X-сцепленный дефект фермента мочевой ацидурии (синдром Леша-Найхана), X-SCID (тяжелая форма X-сцепленного комбинированного иммунодефицита), XLSA (X-сцепленная сидеробластная анемия), XSCID (тяжелая форма X-сцепленного комбинированного иммунодефицита), синдром XXX (синдром тройной X-хромосомы), синдром XXXX (48, XXXX), синдром XXXXX (49, XXXXX), синдром XXУ (синдром Клайнфелтера), трисомия XXУ (синдром Клайнфелтера), кариотип XYУ (синдром 47,XYУ), синдром XYУ (синдром 47,XYУ) и синдром YY (синдром 47,XYУ).

В дополнительном предпочтительном аспекте последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, или композицию по изобретению, содержащую множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, можно использовать для получения фармацевтической композиции, предназначенной для вышеуказанных целей, предпочтительно, для применения в генотерапии для лечения заболеваний, рассмотренных в настоящем описании изобретения.

Кроме того, фармацевтическую композицию по изобретению можно использовать в генной терапии для лечения заболевания или нарушения, предпочтительно, указанного в настоящем описании изобретения.

В последнем аспекте настоящее изобретение также относится к наборам, в частности, наборам частей. Такие наборы, в частности, наборы частей, как правило, в качестве компоненты содержат, отдельно или в комбинации с дополнительными компонентами, как определено в настоящем документе, по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, фармацевтическую композицию по изобретению или вакцину, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению. По меньшей мере одна последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, например, необязательно находится в комбинации с дополнительными компонентами, как определено в настоящем документе, таким образом по меньшей мере одна нуклеиновая кислота по изобретению предоставлено отдельно (первая часть набора) от по меньшей мере одной другой части набора, содержащей один или несколько других

компонентов. Например, фармацевтическая композиция по изобретению может находиться в одной или разных частях набора. В качестве примера, например, по меньшей мере одна часть набора может содержать по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, и по меньшей мере одна

5 дополнительная часть набора по меньшей мере один другой компонент, как определено в настоящем документе, например, по меньшей мере одна другая часть набора может содержать по меньшей мере одну фармацевтическую композицию или ее часть, например, по меньшей мере одна часть набора может содержать последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, как определено в настоящем документе, по меньшей мере одна

10 дополнительная часть набора по меньшей мере один другой компонент, как определено в настоящем документе, по меньшей мере одна дополнительная часть набора по меньшей мере один компонент фармацевтической композиции по изобретению, или фармацевтическую композицию по изобретению, как целое, и по меньшей мере одна дополнительная часть набора, например, по меньшей мере один фармацевтический носитель

15 или транспортер и т.д. В случае, если набор или набор частей содержит множество последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, один компонент набора может содержать только одну, несколько или все последовательности нуклеиновой кислоты по изобретению, содержащиеся в наборе. В альтернативном варианте осуществления каждая последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению может содержаться в различных/

20 отдельных компонентах набора так, что каждый компонент формирует часть набора. Также в первом компоненте в качестве части набора может содержаться более одной нуклеиновой кислоты, при этом один или несколько других (второй, третий и т.д.) компоненты (предоставляющих одну или несколько других частей набора) могут содержать одну или более одной нуклеиновых кислот по изобретению, которые могут быть идентичны

25 или частично идентичны или отличаться от первого компонента. Кроме того, набор или набор частей может содержать технические инструкции с информацией о введении и дозировании последовательностей нуклеиновой кислоты по изобретению, фармацевтической композиции по изобретению или любого из его компонентов или частей, например, если набор получают в виде набора частей.

30 Настоящее изобретение относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

35 где указанный пептид или белок, содержащий терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, может быть терапевтическим белком, предпочтительно, терапевтическим белком, используемым для лечения метаболических или эндокринных нарушений, нарушений крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний,

40 инфекционных заболеваний или иммунодефицитов, в гормонозаместительной терапии или перепрограммировании соматических клеток;

терапевтическим белком, выбранным из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных

45 (адъювантных) белков; или

антителом, предпочтительно, антителом, выбранным из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, антител, используемых для лечения иммунных нарушений, антител, используемых для лечения инфекционных заболеваний,

антител, используемых для лечения нарушений крови, антител, используемых для иммунорегуляции, антител, используемых для лечения диабета, антител, используемых для лечения болезни Альцгеймера, антител, используемых для лечения астмы, или антител, используемых для лечения смешанных нарушений.

5 Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность
10 нуклеиновой кислоты. Кроме того, изобретение относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, включающему стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную
15 экспрессирующую систему, клетку, ткань и/или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
b) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
20 c) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;
при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, который может быть терапевтическим белком, используемым:

для лечения метаболических или эндокринных нарушений,
25 для лечения нарушений крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов,
в гормонозаместительной терапии или
в перепрограммировании соматических клеток.

30 Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность
35 нуклеиновой кислоты. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, включающему стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты и применения или введения последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную
40 экспрессирующую систему, клетку, ткань и/или организм.

Настоящее изобретение дополнительно, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
b) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
45 c) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;
при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адьювантных или иммуностимулирующих белков, более предпочтительно,

из адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

5 Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Кроме того, изобретение относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, включающему стадии получения такой
10 последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты и применения или введения последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань и/или организм.

Настоящее изобретение дополнительно, предпочтительно, относится к
15 последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его
20 фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, который является терапевтическим антителом, более предпочтительно, антителом, выбранным из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, антител, используемых для лечения иммунных нарушений, антител, используемых для лечения инфекционных заболеваний, антител,
25 используемых для лечения нарушений крови, антител, используемых для иммунорегуляции, антител, используемых для лечения диабета, антител, используемых для лечения болезни Альцгеймера, антител, используемых для лечения астмы, или антител, используемых для лечения смешанных нарушений.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности
30 нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения
35 экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

40 Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

45 при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, используемый для лечения метаболических или эндокринных нарушений;

более предпочтительно, пептид или белок, выбранный из кислой сфингомиелиназы,

адипотида, бета-агалсидазы, альглюкозидазы, альфа-галактозидазы А, альфа-
 глюкозидазы, альфа-L-идуронидазы, альфа-N-ацетилглюкозаминидазы, амфирегулина,
 ангиопозтинов (Ang1, Ang2, Ang3, Ang4, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5,
 ANGPTL6, ANGPTL7), бета-целлулина, бета-глюкуронидазы, костных
 5 морфогенетических белков (BMP) (BMP1, BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7,
 BMP8a, BMP8b, BMP10, BMP15), белка CLN6, эпидермального фактора роста (EGF),
 эпигена, эпирегулина, фактора роста фибробластов (FGF, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4,
 FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, FGF-16,
 FGF-17, FGF-18, FGF-19, FGF-20, FGF-21, FGF-22, FGF-23), галсульфазы, грелина,
 10 глюкоцереброзидазы, GM-CSF, гепарин-связывающего EGF-подобного фактора роста
 (HB-EGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), гепцидина, альбумина человека,
 повышенной потери альбумина, идурсульфазы (идуронат-2-сульфатаза), интегринов
 $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ и $\alpha 5\beta 1$, лудуронат-сульфатазы, ларонидазы, N-ацетилгалактозамин-4-
 сульфатазы (rhASB; галсульфазы, арилсульфатазы А (ARSA), арилсульфатазы В (ARSB)),
 15 N-ацетилглюкозамин-6-сульфатазы, фактора роста нервов (NGF, нейротрофический
 фактор, выделенный из головного мозга (BDNF), нейротрофина-3 (NT-3) и нейротрофина
 4/5 (NT-4/5), нейрегулина (NRG1, NRG2, NRG3, NRG4), нейропилина (NRP-1, NRP-2),
 обестатина, тромбоцитарного фактора роста (PDGF (PDFF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-
 D), рецепторов бета-TGF (эндоглин, рецептор бета-TGF 1, рецептор бета-TGF 2, рецептор
 20 бета-TGF 3), тромбопоэтина (THPO) (фактор роста и развития мегакариоцитов (MGDF)),
 трансформирующего фактора роста (TGF (TGF-a, бета-TGF (TGFbeta1, TGFbeta2 и
 TGFbeta3))), VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F и PIGF),
 незиритида, трипсина, адренотропного фактора роста (ACTH), атриал-
 натриуретического пептида (ANP), холецистокинина, гастрин, лептина, окситоцина,
 25 соматостатина, вазопрессина (антидиуретический гормон), кальцитонина, эксенатида,
 гормона роста (GH), соматотропина, инсулина, инсулиноподобного фактора роста 1
 (IGF-1), мекасерминринфабата, аналога IGF-1, мекасермина, аналога IGF-1,
 пегвисоманта, прамлинтида, терипаратида (остатки 1-34 паразитовидного гормона
 человека), бекаплермина, альфа-дифтермина (костный морфогенетический белок 2),
 30 ацетата гистрелина (гонадолиберин, GnRH), октреотида и палифермина (фактор роста
 кератиноцитов, KGF).

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности
 нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.
 Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему
 35 такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее
 относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность
 нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения
 экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой
 последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую
 40 последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение указанной
 последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную
 экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности
 нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- 45 а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
 - б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
 - с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;
- при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его

фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, используемый для лечения нарушений крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов, более предпочтительно, пептид или белок, выбранный из альтеплазы (активатор плазминогена ткани, tPA), анистреплазы, антитромбина III (АТ-III), бивалирудина, альфа-дарбепоедина, альфа-дротрекогина (активированный протеин С), эритропоэтина, альфа-эпоэтина, эритропоэтина, эртропоэтина, фактора IX, фактора VIIa, фактора VIII, лепирудина, концентрата протеина С, ретеплазы (делеционный мутеин tPA), стрептокиназы, тенектеплазы, урокиназы, ангиостатина, иммунотоксина против CD22, денилейкин дифтитокса, иммуноцианина, MPS (металлопанстимулин), афлиберцепта, эндостатина, коллагеназы, дезоксирибонуклеазы I человека, дорназы, гиалуронидазы, папаина, L-аспарагиназы, Peg-аспарагиназы, расбуриказы, хорионического гонадотропина человека (HCG), фолликулостимулирующего гормона человека (FSH), альфа-лутропина, пролактина, ингибитора альфа-1-протеиназы, лактазы, ферментов поджелудочной железы (липаза, амилаза, протеаза), аденозиндеаминазы (бычья пегадемаза, PEG-ADA), абатацепта, алефацепта, анакинры, этанерцепта, антагониста рецептора интерлейкина-1 (IL-1), тимулина, антагониста альфа-TNF, энфувиртида и $\alpha 1$ -тимозина.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение предпочтительно относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, используемый в гормонозаместительной терапии, более предпочтительно, пептид или белок, выбранный из эстрогенов, прогестерона или прогестинов и тестостерона.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную

экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, используемый для перепрограммирования соматических клеток в плюри- или омнипотентные стволовые клетки, более предпочтительно, пептид или белок, выбранный из Oct-3/4, семейства Sox генов (Sox1, Sox2, Sox3 и Sox15), семейства Klf (Klf1, Klf2, Klf4 и Klf5), семейства Muc (с-мус, L-мус и N-мус), Nanog и LIN28.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение предпочтительно относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и

с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков, более предпочтительно, выбранный из адъювантных белков человека, наиболее предпочтительно, из паттерн-распознающих рецепторов TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11; NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4, NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7, NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, IPAF, NAIP, CIITA, RIG-1, MDA5 и LGP2, трансдукторов сигналов сигнального пути TLR, включающих адапторные белки, например, Trif и Cardif; компонентов сигнального пути мелких GTPаз (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab и т.д.), компонентов сигнального пути PIP (PI3K, Src-киназы и т.д.), компонентов MyD88-зависимого сигнального пути (MyD88, IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6 и т.д.), компонентов MyD88-независимого сигнального пути (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1, IRAK1 и т.д.); активированных киназ, включающих, например, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7, ERK1, ERK2, GSK3, PKC киназы, PKD киназы, GSK3 киназы, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK и TAK1; активированных факторов транскрипции, включающих, например, NF-κB, c-Fos, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-1, Elk-1, ATF2, IRF-3, IRF-7, белки теплового шока, такие как HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 и HSP90, gp96, фибриноген, дополнительный домен А повтора TypIII фибронектина; компонентов системы комплемента, включающих C1q, MBL, C1r, C1s, C2b, Bb, D, MASP-1, MASP-2, C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b, C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P и CD59, или индуцированные гены-мишени, включающие, например, бета-дефенсин, белки поверхности клетки; адъювантных белков человека, включающих trif, лиганд flt-3, Gp96 или фибронектин, цитокины, индуцирующие или усиливающие врожденную иммунную реакцию, которые включают альфа-IL-1, бета-IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, альфа-TNF, альфа-IFN, бета-IFN, гамма-IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF; хемокинов, включающих IL-8, IP-10, MCP-1, альфа-MIP-1, RANTES, эотаксин, CCL21; цитокинов, высвобождаемых из макрофагов, включающих IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 и альфа-TNF, а также IL-1R1 и альфа-IL-1.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и

с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков, более предпочтительно, выбранный из бактериальных (адъювантных) белков, наиболее предпочтительно, выбранный из бактериальных белков теплового шока или белков-компаньонов, включающих Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100; OmpA (белок наружной мембраны) из грамотрицательных бактерий; бактериальных поринов, включающих OmpF; бактериальных токсинов, включающих коклюшный токсин (PT) из *Bordetella pertussis*, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, мутант PT-9K/129G из коклюшного токсина, столбнячный токсин, холерный токсин (СТ), В-субъединицу холерного токсина, мутант СТК63 из холерного токсина, мутант СТЕ112К из СТ, термолабильный энтеротоксин (LT) *Escherichia coli*, В-субъединицу из термолабильного энтеротоксина (LTB), мутанты термолабильного энтеротоксина *Escherichia coli* с уменьшенной токсичностью, включающие LTK63, LTR72; модулин, растворимый в феноле; нейтрофил-активирующий белок (HP-NAP) из *Helicobacter pylori*, поверхностно-активный белок D; липопроtein наружного белка А из *Borrelia burgdorferi*, Ag38 (антиген длиной 38 кДа) из *Mycobacterium tuberculosis*, белок из бактериальной фимбрии; энтеротоксин СТ из *Vibrio cholerae*, пилин из пили грамотрицательных бактерий, поверхностно-активный белок А и бактериальные флагеллины.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков, более предпочтительно, выбранный из (адъювантных) белков простейших, наиболее предпочтительно, выбранный из Tc52 из *Trypanosoma cruzi*, PFTG из *Trypanosoma gondii*, белков теплового шока простейших, LeIF из *Leishmania spp.*, профилирующего белка из *Toxoplasma gondii*.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности

нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;

б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и

с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков, более предпочтительно, выбранный из вирусных (адъювантных) белков, наиболее предпочтительно, выбранный из гибридного гликопротеина респираторно-синцитиального вируса (F-протеин), белка оболочки вируса ММТ, белка вируса лейкоза мыши, белка гемагглютинаина вируса кори дикого типа.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтической композиции, содержащей такую

последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;

б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и

с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адъювантных или иммуностимулирующих белков, адъювантных белков человека, бактериальных (адъювантных) белков, (адъювантных) белков простейших, вирусных (адъювантных) белков, грибных (адъювантных) белков, более предпочтительно, выбранный из грибных (адъювантных) белков, наиболее предпочтительно, выбранный из грибного иммуномодулирующего белка (FIP, LZ-8) и гемоцианина лимфы улитки (KLH), OspA.

Настоящее изобретение дополнительно относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;

б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и

с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, которые, предпочтительно, включают 131I-тозитумаб, 3F8, 8H9, абагомаб, адекатумумаб, афутуумаб, алацизумаб пеголь, алемтузумаб, аматуксимаб, АМЕ-133v, AMG 102, анатумаб мафенатокс, аполизумаб, бавитуксимаб, бектумаб, белимумаб, бевацизумаб, биватузумаб мертанзин, блинатумаб, брентуксимаб ведотин, кантузумаб, кантузумаб мертанзин, кантузумаб равтанзин, капромаб пендетид, карлумаб, катумаксомаб, цетуксимаб, цитатузумаб богатокс, циксутумумаб, кливатузумаб тетраксетан, CNTO 328, CNTO 95, конатумумаб, дацетузумаб, далотузумаб, денозумаб, детумаб, дрозитуаb, экромексимаб, эдреколомаб, элотузумаб, элсилимомаб, энаватузумаб, энситуксимаб, эпратузумаб, эртумамаксомаб, эртумамаксомаб, этарацизумаб, фарлетузумаб, FBTA05, фиклатузумаб, фигитумумаб, фланвотумаб, галиксимаб, ганитумаб, GC1008, гемтузумаб, гемтузумаб озогамицин, гирентуксимаб, глембатумумаб ведотин, GS6624, HuC242-DM4, HuHMFG1, HuN901-DM1, ибритумаб, икрукумаб, ID09C3, индатуксимаб равтанзин, инотузумаб озогамицин, интетумумаб, ипилимумаб, иратумумаб, лабетузумаб, лексатумумаб, линтузумаб, лорвотузумаб мертанзин, лукатумумаб, лумиликсимаб, мапатумумаб, матузумаб, MDX-060, MEDI 522, митумаб, могамулизумаб, MORab-003, MORab-009, моксетумаб пазудотокс, MT103, наколомаб тафенатокс, наптумаб эстафенатокс, нарнатумаб, нецитумумаб, нимотузумаб, оларатумаб, онартузумаб, опортузумаб монатокс, ореговомаб, PAM4, панитумумаб, патритумаб, пемтумаб, пертузумаб, притумумаб, ракотумаб, радретумаб, рамуцирумаб, рилотумумаб, ритуксимаб, робатумумаб, самализумаб, SGN-30, SGN-40, сибротузумаб, силтуксимаб, табалумаб, такатузумаб тетраксетан, таплитумаб паптокс, тенатумаб, тепротумумаб, TGN1412, тицилимумаб (= тремелимумаб), тигатузумаб, TNX-650, тозитумаб, трастузумаб, TRBS07, тремелимумаб, TRU-016, тукотузумаб целмолейкин, ублитуксимаб, урелумаб, велтузумаб, велтузумаб (IMMU-106), волоциксимаб, волумумаб, WX-G250, залутумумаб и занолимумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему

такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение дополнительно относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который

5 включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его

15 фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения иммунных нарушений, которые, предпочтительно, включают эфализумаб, эспратуумаб, этролизумаб, фонтолизумаб, иксекизумаб, меполизумаб, милатузумаб, смешанные иммуноглобулины, приликсимаб, ритуксимаб, ронтализумаб, руплизумаб, сарилумаб, ведолизумаб, визилизумаб,

20 реслизумаб, адалимумаб, азелизумаб, атинумаб, атлизумаб, бертилиумаб, безилесомаб, BMS-945429, бриакинумаб, бродалумаб, канакинумаб, цертолизумаб пеголь, эрлизумаб, фезакинумаб, голимумаб, гомиликсимаб, инфликсимаб, маврилиумаб, натализумаб, окрелизумаб, одулимомаб, офатумумаб, озорализумаб, пекселизумаб, ровелизумаб, SBI-087, SBI-087, секукинумаб, сирукумаб, тализумаб, тоцилизумаб, торализумаб, TRU-

25 015, TRU-016, устекинумаб, вепалимумаб, золимумаб аритокс, сифалиумаб, лумиликсимаб и иммуноглобулин Rho(D).

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему

30 такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую

35 последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из

45 антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, предпочтительно, из антител, используемых для лечения инфекционных заболеваний, включающих, в частности, афелимомаб, CR6261, эдобакомаб, эфунгумаб, эксбивирумаб, фелвизумаб, форапавирумаб, ибализумаб, либивирумаб, мотавизумаб, небакумаб,

тувирумаб, уртоксазумаб, бавитуксимаб, пагибаксимаб, паливизумаб, панобакумаб, PRO 140, рафивирумаб, раксибакумаб, регавирумаб, севирумаб, сувизумаб и тефибазумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, предпочтительно, из антител, используемых для лечения нарушений крови, включающих, в частности, абциксимаб, аторолимумаб, экулизумаб, меполизумаб и милатузумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, предпочтительно, из антител, используемых для иммунорегуляции, включающих, в частности, антитимоцитарный глобулин, базиликсимаб, цеделизумаб, даклизумаб, гавилимомаб, инолимомаб, муромонаб-CD3, одулимомаб и сиплизумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышению экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых и опухолевых заболеваний, предпочтительно, из антител, используемых для лечения диабета, включающих, в частности, гевокизумаб, отеликсизумаб и теплизумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применения или введения указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, предпочтительно из антител, используемых для лечения болезни Альцгеймера, включающих, в частности, бапинеузумаб, кренезумаб, гантенерумаб, понезумаб, R1450 и соланезумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой

последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

5 Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

10 при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, предпочтительно, из антител, используемых для лечения астмы, включающих, в частности, бенрализумаб, энокизумаб, келиксимаб, лебрикизумаб, омализумаб, окселумаб, пасколизумаб и тралокинумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее
20 относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение
25 последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- 30 б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний,
35 предпочтительно из антител, используемых для лечения смешанных нарушений, включающих, в частности, блосозумаб, CaroRx, фрезолимумаб, фулранумаб, ромосозумаб, стамулумаб, танезумаб и ранибизумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

40 Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой
45 последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- 5 с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, который может быть терапевтическим белком, используемым

для лечения метаболических или эндокринных нарушений,

10 для лечения нарушений крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов,

в гормонозаместительной терапии или

в перепрограммировании соматических клеток,

15 более предпочтительно, терапевтическим белком, выбранным из кислой сфингомиелиназы, адипотида, бета-агальсидазы, альглюкозидазы, альфа-галактозидазы А, альфа-глюкозидазы, альфа-L-идуронидазы, альфа-N-ацетилглюкозаминидазы, амфирегулина, ангиопоэтинов (Ang1, Ang2, Ang3, Ang4, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, ANGPTL7), бета-целлулина, бета-глюкуронидазы, костных
20 морфогенетических белков BMP (BMP1, BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8a, BMP8b, BMP10, BMP15), белка CLN6, эпидермального фактора роста (EGF), эпигена, эпирегулина, фактора роста фибробластов (FGF, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, FGF-16, FGF-17, FGF-18, FGF-19, FGF-20, FGF-21, FGF-22, FGF-23), галсульфазы, грелина,
25 глюкоцереброзидазы, GM-CSF, гепарин-связывающего EGF-подобного фактора роста (HB-EGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), гепцидина, альбумина человека, повышенной потери альбумина, идурсульфазы (идуронат-2-сульфатаза), интегринов $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ и $\alpha 5\beta 1$, лудуронат-сульфатазы, ларонидазы, N-ацетилгалактозамин-4-сульфатазы (rhASB; галсульфаза, арилсульфатаза А (ARSA), арилсульфатаза В (ARSB)),
30 N-ацетилглюкозамин-6-сульфатазы, фактора роста нервов (NGF, нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга (BDNF), нейротрофина-3 (NT-3) и нейротрофина 4/5 (NT-4/5), нейрегулина (NRG1, NRG2, NRG3, NRG4), нейропилина (NRP-1, NRP-2), обестатина, тромбоцитарного фактора роста (PDGF (PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D), рецепторов бета-TGF (эндоглин, рецептор бета-TGF 1, рецептор бета-TGF 2, рецептор
35 бета-TGF 3), тромбопоэтина (THPO) (фактор роста и развития мегакариоцитов (MGDF)), трансформирующего фактора роста (TGF (TGF- α , бета-TGF (TGFbeta1, TGFbeta2 и TGFbeta3))), VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F и PlGF), незиритида, трипсина, адренкортикотрофического гормона (АСТН), атриал-натриуретического пептида (ANP), холецистокинина, гастрин, лептина, окситоцина,
40 соматостатина, вазопрессина (антидиуретический гормон), кальцитонина, эксенатида, гормона роста (GH), соматотропина, инсулина, инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1), мекасерминринфабата, аналога IGF-1, мекасермина, аналога IGF-1, пегвисоманта, прамлинтида, терипаратида (остатки 1-34 парашитовидного гормона человека), бекаплермина, альфа-диботермина (костный морфогенетический белок 2),
45 ацетата гистрелина (гонадолиберин, GnRH), октреотида и палифермина (фактор роста кератиноцитов, KGF), альтеплазы (активатор плазминогена ткани, tPA), анистреплазы, антитромбина III (АТ-III), бивалирудина, альфа-дарбепоедина, альфа-дротрекогина (активированный белок С), эритропоэтина, альфа-эпоэтина, фактора IX, фактора VIIa,

фактора VIII, лепирудина, концентрата белка C, ретеплазы (делеционный мутеин tPA), стрептокиназы, тенектеплазы, урокиназы, ангиостатина, иммунотоксина против CD22, денилейкин дифтитокса, иммуноцианина, MPS (металлопанстимулин), афлиберцепта, эндостатина, коллагеназы, дезоксирибонуклеазы I человека, дорназы, гиалуронидазы, папаина, L-аспарагиназы, Peg-аспарагиназы, расбуриказы, хорионического гонадотропина человека (HCG), фолликулостимулирующего гормона человека (FSH), альфа-лутропина, пролактина, ингибитора альфа-1-протеиназы, лактазы, ферментов поджелудочной железы (липаза, амилаза, протеаза), аденозиндеаминазы (бычья пегадемаза, PEG-ADA), абатацепта, алефацепта, анакинры, этанерцепта, антагониста рецептора интерлейкина-1 (IL-1), тимулина, антагониста альфа-TNF, энфувиртида, тимозина $\alpha 1$, эстрогенов, прогестерона или прогестинов, тестостерона, Ост-3/4, семейства Sox генов (Sox1, Sox2, Sox3 и Sox15), семейства Klf (Klf1, Klf2, Klf4 и Klf5), семейства Muc (с-мус, L-мус и N-мус), Nanog и LIN28.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и введение указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, выбранный из адьювантных или иммуностимулирующих белков, адьювантных белков человека, бактериальных (адьювантных) белков, (адьювантных) белков простейших, вирусных (адьювантных) белков, грибных (адьювантных) белков, более предпочтительно, выбранный из адьювантных белков человека, наиболее предпочтительно, выбранный из паттерн-распознающих рецепторов TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4, NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7, NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, IPAF, NAIP, CIITA, RIG-1, MDA5 и LGP2, трансдукторов сигналов сигнального пути TLR, включающих адапторные белки, например, Trif и Cardif; компонентов сигнального пути мелких GTPаз (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab и т.д.), компонентов сигнального пути PIP (PI3K, Src-киназы и т.д.), компонентов MyD88-зависимого сигнального пути (MyD88, IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6 и т.д.), компонентов MyD88-независимого сигнального пути (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1, IRAK1 и т.д.); активированных киназ, включающих, например, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7, ERK1, ERK2, GSK3, PKC киназы, PKD киназы, GSK3 киназы, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK и TAK1; активированных факторов транскрипции, включающих, например, NF- κ B, c-Fos, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-

1, Elk-1, ATF2, IRF-3, IRF-7, белки теплового шока, такие как HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 и HSP90, gp96, фибриноген, дополнительный домен А повтора ТипIII фибронектина; компонентов системы комплемента, включающих C1q, MBL, C1r, C1s, C2b, Bb, D, MASP-1, MASP-2, C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b, C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P и CD59, или индуцированные гены-мишени, включающие, например, бета-дефенсин, белки поверхности клетки; адьювантных белков человека, включающих trf, лиганд flt-3, Gp96 или фибронектин, цитокины, индуцирующие или усиливающие врожденную иммунную реакцию, которые включают альфа-IL-1, бета-IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, альфа-TNF, альфа-IFN, бета-IFN, гамма-IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF; хемокинов, включающих IL-8, IP-10, MCP-1, альфа-MIP-1, RANTES, эотаксин, CCL21; цитокинов, высвобождаемых из макрофагов, включающих IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 и альфа-TNF, а также IL-1R1 и альфа-IL-1, бактериальные белки теплового шока или белки-компаньоны, включающие Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100; OmpA (белок наружной мембраны) из грамотрицательных бактерий; бактериальных поринов, включающих OmpF; бактериальных токсинов, включающих коклюшный токсин (PT) из *Bordetella pertussis*, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, мутант PT-9K/129G из коклюшного токсина, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, столбнячный токсин, холерный токсин (СТ), В-субъединицу холерного токсина, мутант СТК63 из холерного токсина, мутант СТЕ112К из СТ, термолабильный энтеротоксин (LT) *Escherichia coli*, В-субъединицу из термолабильного энтеротоксина (LTB), мутанты термолабильного энтеротоксина *Escherichia coli* с уменьшенной токсичностью, включая LTK63, LTR72; модулина, растворимого в феноле; нейтрофил-активирующего белка (HP-NAP) из *Helicobacter pylori*, поверхностно-активного белка D; липопротеина наружного белка А из *Borrelia burgdorferi*, Ag38 (антиген длиной 38 кДа) из *Mycobacterium tuberculosis*, белков из бактериальной фимбрии; энтеротоксина СТ из *Vibrio cholerae*, пилина из пили грамотрицательных бактерий, поверхностно-активного белка А и бактериальных флагеллинов, Tc52 из *Trypanosoma cruzi*, PFTG из *Trypanosoma gondii*, белков теплового шока простейших, LeIF из *Leishmania spp.*, профилирующего белка из *Toxoplasma gondii*, гибридного гликопротеина респираторно-синцитиального вируса (F-протеин), белка оболочки вируса ММТ, белка вируса мышинного лейкоза, белка гемагглютинаина вируса кори дикого типа, грибного иммуномодулирующего белка (FIP, LZ-8) и гемоцианина лимфы улитки (KLH), OspA.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
- б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
- с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;

при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтическое антитело, выбранное из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, которые, предпочтительно, включают 131I-тозитумаб, 3F8, 8H9, абаговомаб, адекватумаб, афутузумаб, алацизумаб пеголь, алемтузумаб, аматуксимаб, АМЕ-133v, AMG 102, анатумаб мафенатокс, аполизумаб, бавитуксимаб, бектумаб, белимумаб, бевацизумаб, биватузумаб мертанзин, блинатумаб, брентуксимаб ведотин, кантузумаб, кантузумаб мертанзин, кантузумаб равтанзин, капромаб пендетид, карлумаб, катумаксомаб, цетуксимаб, цитатузумаб богатокс, циксутумаб,

кливатузумаб тетраксетан, CNTO 328, CNTO 95, конатумумаб, дацетузумаб, далотузумаб, денозумаб, детумомаб, дрозитумаб, экромексимаб, эдреколомаб, элотузумаб, элсилимомаб, энаватузумаб, энситуксимаб, эпратузумаб, эртумаксаб, эртумаксаб, этарацизумаб, фарлетузумаб, FBTA05, фиклатузумаб, фигитумумаб, фланвотумаб, галиксимаб, ганитумаб, GC1008, гемтузумаб, гемтузумаб озогамицин, гирентуксимаб, глембатумумаб ведотин, GS6624, HuC242-DM4, HuHMF1, HuN901-DM1, ибритумомаб, икрукумаб, ID09C3, индатуксимаб равтанзин, инотузумаб озогамицин, интетумумаб, ипилимумаб, иратумумаб, лабетузумаб, лексатумумаб, линтузумаб, лорвотузумаб мертанзин, лукатумумаб, лумиликсимаб, мапатумумаб, матузумаб, MDX-060, MEDI 522, митумомаб, могамулизумаб, MORab-003, MORab-009, моксетумомаб пазудотокс, MT103, наколомаб тафенатокс, наптумомаб эстафенатокс, нарнатумаб, нецитумумаб, нимотузумаб, оларатумаб, онартузумаб, опортузумаб монатокс, ореговумаб, PAM4, панитумумаб, патритумаб, пемтумомаб, пертузумаб, притумумаб, ракотумомаб, радретумаб, рамуцирумаб, рилотумумаб, ритуксимаб, робатумумаб, самализумаб, SGN-30, SGN-40, сибротузумаб, силтуксимаб, табалумаб, такатузумаб тетраксетан, таплитумомаб паптокс, тенатумомаб, тепротумумаб, TGN1412, тицилимумаб (= тремелимумаб), тигатузумаб, TNX-650, тозитумомаб, трастузумаб, TRBS07, тремелимумаб, TRU-016, тукотузумаб целмолейкин, ублитуксимаб, урелумаб, велтузумаб, велтузумаб (IMMU-106), волоциксимаб, волумумаб, WX-G250, залутумумаб, занолимумаб, эфализумаб, эпратузумаб, этролизумаб, фонтолизумаб, иксекизумаб, меполизумаб, милатузумаб, смешанные иммуноглобулины, приликсимаб, ритуксимаб, ронтализумаб, руплизумаб, сарилумаб, ведолизумаб, визилизумаб, реслизумаб, адалимумаб, азелизумаб, атинумаб, атлизумаб, бертилимумаб, безилесомаб, BMS-945429, бриакинумаб, бродалумаб, канакинумаб, цертолизумаб пеголь, эрлизумаб, фезакинумаб, голимумаб, гомиликсимаб, инфликсимаб, маврилимумаб, натализумаб, окрелизумаб, одулимумаб, офатумумаб, озорализумаб, пекселизумаб, ровелизумаб, SBI-087, SBI-087, секукинумаб, сирукумаб, тализумаб, тоцилизумаб, торализумаб, TRU-015, TRU-016, устекинумаб, вепалимомаб, золимумаб аритокс, сифалимумаб, лумиликсимаб, иммуноглобулин Rho(D), афелимомаб, CR6261, эдобакомаб, эфунгумаб, эксбивирумаб, фелвизумаб, форапирумаб, ибализумаб, либивирумаб, мотавизумаб, небакумаб, тувирумаб, уртоксазумаб, бавитуксимаб, пагибаксимаб, паливизумаб, панобакумаб, PRO 140, рафивирумаб, раксикакумаб, регавирумаб, севирумаб, сувизумаб, тефибазумаб, абциксимаб, аторолимумаб, экулизумаб, меполизумаб, милатузумаб, антитимоцитарный глобулин, базиликсимаб, цеделизумаб, даклизумаб, гавилимомаб, инолимумаб, муромонаб-CD3, одулимумаб, сиплизумаб, гевокизумаб, отеликсизумаб, теплизумаб, бапинеузаумаб, кренезумаб, гантенерумаб, понезумаб, R1450, соланезумаб, бенрализумаб, энокизумаб, келиксимаб, лебрикизумаб, омализумаб, окселумаб, пасколизумаб, тралокинумаб, блосозумаб, CaroRx, фрезолимумаб, фулранумаб, ромосозумаб, стамулумаб, танезумаб и ранибизумаб.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании. Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение

последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- 5 а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
 - б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
 - с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;
- при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, который
- 10 является белковым гормоном.

Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее

- 15 относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение указанной
- 20 последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

Настоящее изобретение, предпочтительно, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей или кодирующей:

- а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;
 - 25 б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
 - с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;
- при этом указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, предпочтительно, терапевтический белок, который
- является белковым гормоном.

30 Настоящее изобретение далее относится к применению такой последовательности нуклеиновой кислоты в генной терапии, как определено в настоящем описании.

Настоящее изобретение далее относится к набору или набору частей, содержащему такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее

- 35 относится к фармацевтической композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты. Настоящее изобретение далее относится к способу повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, который включает стадии получения такой последовательности нуклеиновой кислоты или композиции, содержащей такую последовательность нуклеиновой кислоты, и применение или введение указанной последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную
- 40 экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

В настоящем изобретении, если не указано иначе, различные свойства альтернатив и вариантов осуществления можно комбинировать друг с другом. Кроме того, термин "содержащий" не следует рассматривать, как означающий "состоящий из", если это конкретно не указано. Однако, если это применимо в контексте настоящего изобретения,

45 термин "содержащий" можно заменять термином "состоящий из".

Фигуры:

Приведенные ниже фигуры предназначены для дополнительной иллюстрации изобретения, и их не следует рассматривать в качестве дополнительного ограничения

настоящего изобретения.

Фигура 1: представлена консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, полученная из последовательностей структур "стебель-петля" многоклеточных и простейших (как опубликовано в Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Выровнено 4001 последовательности структур "стебель-петля" гистонов из многоклеточных и простейших и для каждого положения в последовательности структуры "стебель-петля" указано количество встречающихся нуклеотидов. Полученная консенсусная последовательность, представляющая все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях, приведена с использованием однобуквенного кода нуклеотидов. В дополнение к консенсусной последовательности приведены последовательности, представляющие по меньшей мере 99%, 95% и 90% нуклеотидов, присутствующих в анализируемых последовательностях.

Фигура 2: представлена консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, полученная из последовательности структур "стебель-петля" простейших (как опубликовано в Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Выровнено 131 последовательность структур "стебель-петля" гистонов из простейших и для каждого положения в последовательности структуры "стебель-петля" указано количество встречающихся нуклеотидов. Полученная консенсусная последовательность, представляющая все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях, приведена с использованием однобуквенного кода нуклеотидов. В дополнение к консенсусной последовательности приведены последовательности, представляющие по меньшей мере 99%, 95% и 90% нуклеотидов, присутствующих в анализируемых последовательностях.

Фигура 3: представлена консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, полученная из последовательности структур "стебель-петля" многоклеточных (как опубликовано в Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Выровнено 3870 последовательностей структур "стебель-петля" гистонов из многоклеточных и для каждого положения в последовательности структуры "стебель-петля" указано количество встречающихся нуклеотидов. Полученная консенсусная последовательность, представляющая все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях, приведена с использованием однобуквенного кода нуклеотидов. В дополнение к консенсусной последовательности приведены последовательности, представляющие по меньшей мере 99%, 95% и 90% нуклеотидов, присутствующих в анализируемых последовательностях.

Фигура 4: представлена консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, полученная из последовательности структур "стебель-петля" позвоночных (как опубликовано в Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Выровнено 1333 последовательностей структур "стебель-петля" гистонов позвоночных и для каждого положения в последовательности структуры "стебель-петля" указано количество встречающихся нуклеотидов. Полученная консенсусная последовательность, представляющая все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях, приведена с использованием однобуквенного кода нуклеотидов. В дополнение к консенсусной последовательности приведены последовательности, представляющие по меньшей мере 99%, 95% и 90% нуклеотидов, присутствующих в анализируемых последовательностях.

Фигура 5: представлена консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, полученная из последовательности структур "стебель-петля" человека (Homo

sapiens) (как опубликовано в Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Выровнены 84 последовательности структур "стебель-петля" гистонов человека и для каждого положения в последовательности структуры "стебель-петля" указано количество встречающихся нуклеотидов. Полученная консенсусная последовательность, представляющая все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях, приведена с использованием однобуквенного кода нуклеотидов. В дополнение к консенсусной последовательности приведены последовательности, представляющие по меньшей мере 99%, 95% и 90% нуклеотидов, присутствующих в анализируемых последовательностях.

Фигуры 6-19: представлена мРНК после транскрипции *in vitro*.

Приведены обозначения и последовательность мРНК, полученных транскрипцией *in vitro*. Используют следующие сокращения:

ppLuc (GC): обогащенная GC последовательность мРНК, кодирующая люциферазу *Photinus pyralis*;

ag: 3'-нетранслируемая область (UTR) гена альфа-глобина;

A64: последовательность поли(A) с 64 остатками аденилата;

A120: последовательность поли(A) с 120 остатками аденилата;

histoneSL: структура "стебель-петля" гистонов;

aCPSL: структура "стебель-петля", которую выбрали из библиотеки вследствие ее

специфического связывания с белком α CP-2KL;

PolioCL: 5'-лист клевера геномной РНК вируса полиомиелита;

G30: последовательность поли(G) с 30 остатками гуанилата;

U30: последовательность поли(U) с 30 остатками уридилата;

SL: неспецифическая/искусственная стебель-петля;

N32: неспецифическая последовательность из 32 нуклеотидов;

MmEPO (GC): последовательность мРНК с большим содержанием GC, кодирующая ЕРО мыши.

В последовательностях выделены следующие элементы: кодирующая область (ORF) (заглавные буквы), ag (жирным), histoneSL (подчеркнуто), различные дополнительные тестированные последовательности (курсив).

Фигура 6: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag (SEQ ID NO: 43).

Посредством линеаризации исходного вектора в участке рестрикции непосредственно после 3'-UTR альфа-глобина (ag) получена мРНК без последовательности поли(A).

Фигура 7: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64 (SEQ ID NO: 44).

Посредством линеаризации исходного вектора в участке рестрикции непосредственно после последовательности поли(A) A64 получена мРНК, заканчивающаяся последовательностью поли(A) A64.

Фигура 8: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-histoneSL (SEQ ID NO: 45).

Последовательность поли(A) A64 замещена histoneSL. Последовательность структуры "стебель-петля" гистонов, используемую в примерах, получали по Cakmakci et al. (2008). *Molecular and Cellular Biology*, 28(3), 1182-1194.

Фигура 9: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-histoneSL (SEQ ID NO: 46).

С 3'-конца от поли(A) A64 добавляли histoneSL.

Фигура 10: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A120 (SEQ ID NO: 47).

Последовательность поли(А) А64 замещали последовательностью поли(А) А120. Фигура 11: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-ag (SEQ ID NO: 48).

С 3'-конца от поли(А) А64 добавляли вторую 3'-UTR альфа-глобина.

Фигура 12: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-aCPSL (SEQ ID NO: 49).

С 3'-конца от поли(А) А64 добавляли структуру "стебель-петля". Структуру "стебель-петля" выбирали из библиотеки вследствие ее специфического связывания с белком α CP-2KL (Thisted et al., (2001), The Journal of Biological Chemistry, 276(20), 17484-17496).

α CP-2KL представляет собой изоформу α CP-2, наиболее сильно экспрессированного белка α CP (связывающего поли(С) мРНК альфа-глобина белок) (Makeyev et al., (2000), Genomics, 67(3), 301-316), группы связывающих РНК белков, которые связываются с 3'-UTR альфа-глобина (Chkheidze et al., (1999), Molecular and Cellular Biology, 19(7), 4572-4581).

Фигура 13: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-PolioCL (SEQ ID NO: 50).

С 3'-конца от поли(А) А64 добавляли 5'-лист клевера из геномной РНК вируса полиомиелита.

Фигура 14: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-G30 (SEQ ID NO: 51).

С 3'-конца от поли(А) А64 добавляли участок из 30 остатков гуанилата.

Фигура 15: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-U30 (SEQ ID NO: 52).

С 3'-конца от поли(А) А64 добавляли участок из 30 остатков уридилата.

Фигура 16: представлена последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-SL (SEQ ID NO: 53).

С 3'-конца от поли(А) А64 добавляли структуру "стебель-петля". Верхняя часть стебля и петли получали по (Babendure et al., (2006), RNA (New York, N.Y.), 12(5), 851-861).

Структура "стебель-петля" состоит из 17 пар оснований, богатого CG стебля и петли из 6 оснований.

Фигура 17: представлена ppLuc(GC)-ag-A64-N32 (SEQ ID NO: 54).

Посредством линеаризации исходного вектора в альтернативном участке рестрикции получена мРНК с 32 дополнительными нуклеотидами после поли(А).

Фигура 18: представлена последовательность мРНК MmEPO (GC)-ag-A64-C30 (SEQ ID NO: 55).

Фигура 19: представлена последовательность мРНК MmEPO (GC)-ag-A64-C30-histonSL (SEQ ID NO: 56).

Фигура 20: показано, что комбинация поли(А) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК синергическим образом.

Исследовали влияние последовательности поли(А), histoneSL и комбинации поли(А) и histoneSL на экспрессию люциферазы с мРНК. Таким образом, различные мРНК электропорировали в клетки HeLa. Уровни люциферазы измеряли через 6, 24 и 48 часов после трансфекции. С последовательности мРНК, не содержащей ни последовательности поли(А), ни histoneSL, экспрессировалось мало люциферазы. Последовательность поли(А) или histoneSL увеличивают уровень люциферазы. Однако удивительно, что комбинация поли(А) и histoneSL дополнительно сильно увеличивает уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно, таким образом действуя синергически. Данные нанесены на

диаграмму в виде среднего количества $RLU \pm SD$ (относительных световых единиц $\pm$ стандартное отклонение) из трансфекций в трех повторениях. Конкретные RLU приведены в примере 10.2.

Фигура 21: показано, что комбинация поли(A) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК вне зависимости от их порядка.

Исследовали влияние последовательности поли(A), histoneSL, комбинации поли(A) и histoneSL и их порядка на экспрессию люциферазы с мРНК. Таким образом, в клетки HeLa посредством липофекции вводили различные мРНК. Уровни люциферазы измеряли через 6, 24 и 48 часов после начала трансфекции. Последовательность поли(A) A64 или histoneSL обеспечивали сравнимые уровни люциферазы. Увеличение длины последовательности поли(A) с A64 до A120 или до A300 умеренно увеличивает уровень люциферазы. В отличие от этого комбинация поли(A) и histoneSL увеличивает уровень люциферазы намного больше, чем удлинение последовательности поли(A). Комбинация поли(A) и histoneSL действует синергически, так как это увеличивает уровень люциферазы во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно. Синергическое действие комбинации поли(A) и histoneSL наблюдают вне зависимости от порядка поли(A) и histoneSL и вне зависимости от длины поли(A) мРНК с A64-histoneSL или histoneSL-A250. Данные нанесены на диаграмму в виде среднего количества $RLU \pm SD$ из трансфекций в трех повторениях. Конкретные RLU приведены в примере 10.3.

Фигура 22: показано, что повышение экспрессии белка комбинацией поли(A) и histoneSL является специфическим.

Исследовали влияние комбинирования поли(A) и histoneSL или поли(A) и альтернативных последовательностей на экспрессию люциферазы с мРНК. Таким образом в клетки HeLa электропорировали различные мРНК. Уровни люциферазы измеряли через 6, 24 и 48 часов после трансфекции. Последовательность поли(A) или histoneSL обеспечивали сравнимые уровни люциферазы. Комбинация поли(A) и histoneSL сильно увеличивает уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно, таким образом, действуя синергически. В отличие от этого, комбинирования поли(A) с любой из других последовательностей не оказывало влияние на уровень люциферазы по сравнению с мРНК, содержащей только последовательность поли(A). Таким образом, комбинация поли(A) и histoneSL действует специфически и синергически. Данные нанесены на диаграмму в виде среднего количества $RLU \pm SD$ из трансфекций в трех повторениях. Конкретные RLU приведены в примере 10.4.

Фигура 23: показано, что комбинация поли(A) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК синергическим образом *in vivo*.

Исследовали влияние последовательности поли(A), histoneSL и комбинация поли(A) и histoneSL на экспрессию люциферазы с мРНК *in vivo*. Таким образом, мышам интрадермально инъецировали различные мРНК. Через 16 часов после инъекции мышей умерщвляли и измеряли уровни люциферазы в участках инъекций. Люцифераза экспрессируется с мРНК, содержащих histoneSL или последовательностью поли(A). Однако удивительно, что комбинация поли(A) и histoneSL сильно увеличивает уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно, таким образом, действуя синергически. Данные нанесены на диаграмму в виде среднего количества $RLU \pm SEM$ (относительные световые единицы $\pm$ стандартная ошибка среднего). Конкретные RLU приведены в примере 10.5.

Фигура 24: показана последовательность мРНК трастузумаб (GC)-ag-A64-C30 (SEQ

ID NO: 57). Указанная последовательность кодирует антитело трастузумаб (герцептин), содержащее легкую и тяжелую цепи, которое описано в публикации WO 2008/083949.

Фигура 25: показана последовательность мРНК трастузумаб (GC)-ag-A64-C30-histonSL (SEQ ID NO: 58). Указанная последовательность кодирует антитело трастузумаб (герцептин), содержащее легкую и тяжелую цепи, которое описано в публикации WO 2008/083949.

Примеры

Приведенные ниже примеры предназначены для дополнительной иллюстрации изобретения, и их не следует рассматривать в качестве дополнительного ограничения настоящего изобретения.

1. Получение консенсусных последовательностей гистон-стебель-петля

Перед проведением экспериментов определяли консенсусные последовательности структур "стебель-петля" гистонов на основе последовательностей структур "стебель-петля" гистонов многоклеточных и простейших. Последовательности получали из приложения, предоставленного Lopez et al. (Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308), где определено большое количество природных последовательностей структур "стебель-петля" гистонов посредством поиска геномных последовательностей и маркеров экспрессируемых последовательностей. Сначала все последовательности многоклеточных и простейших (4001 последовательность), или все последовательности простейших (131 последовательность), или, альтернативно, многоклеточных (3870 последовательностей), или позвоночных (1333 последовательности) или людей (84 последовательности) группировали и выравнивали. Затем определяли количество встречающихся нуклеотидов в каждом положении. На основе полученных таким образом таблиц получали консенсусные последовательности для 5 различных групп последовательностей, представляющие все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях. Кроме того, также получали более ограниченные консенсусные последовательности, более выделяя консервативные нуклеотиды.

2. Получение матричных ДНК

Конструировали вектор для транскрипции *in vitro*, содержащий промотор T7 с последующей обогащенной GC последовательностью, кодирующей люциферазу *Photinus pyralis* (ppLuc(GC)), центральной частью 3'-нетранслируемой области (UTR) альфа-глобина (ag) и последовательностью поли(A). Непосредственно за последовательностью поли(A) следовал участок рестрикции, используемый для линейаризации вектора перед транскрипцией *in vitro* для получения мРНК, заканчивающейся последовательностью поли(A) A64. мРНК, получаемую из этого вектора, соответственно, посредством транскрипции *in vitro*, обозначают как "ppLuc(GC)-ag-A64".

Линейаризация этого вектора в альтернативных участках рестрикции перед транскрипцией *in vitro* позволяла получать мРНК, дополненную дополнительными нуклеотидами с 3'-конца от A64 или с отсутствием A64. Кроме того, исходный вектор модифицировали для включения альтернативных последовательностей. В итоге из этих векторов посредством транскрипции *in vitro* получали представленные ниже мРНК (последовательности мРНК представлены на фиг. 6-17):

ppLuc(GC) - ag (SEQ ID NO: 43);

ppLuc(GC) - ag - A64 (SEQ ID NO: 44);

ppLuc(GC) - ag - histoneSL (SEQ ID NO: 45);

ppLuc(GC) - ag - A64 - histoneSL (SEQ ID NO: 46);

ppLuc(GC) - ag - A120 (SEQ ID NO: 47);

ppLuc(GC) - ag - A64 - ag (SEQ ID NO: 48);
 ppLuc(GC) - ag - A64 - aCPSL (SEQ ID NO: 49);
 ppLuc(GC) - ag - A64 - PolioCL (SEQ ID NO: 50);
 ppLuc(GC) - ag - A64 - G30 (SEQ ID NO: 51);
 5 ppLuc(GC) - ag - A64 - U30 (SEQ ID NO: 52);
 ppLuc(GC) - ag - A64 - SL (SEQ ID NO: 53);
 ppLuc(GC) - ag - A64 - N32 (SEQ ID NO: 54).

Кроме того, таким образом, как описано выше, получали последовательности плазмидной ДНК, кодирующие терапевтический белок ЕРО.

10 В итоге, с этих векторов посредством транскрипции *in vitro* получали приводимые ниже мРНК (последовательности мРНК приведены на фиг. 18-19):

MmEPO (GC)-ag-A64-C30 (SEQ ID NO: 55);
 MmEPO (GC)-ag-A64-C30-histoneSL (SEQ ID NO: 56)

Последовательности плазмидных ДНК, кодирующие антитело трастузумаб, могут
 15 быть получены вышеописанным способом.

Нижеследующие мРНК были получены из указанных векторов путем транскрипции *in vitro* (последовательность мРНК показаны на фиг. 24 и 25).

Трастузумаб (GC)-ag-A64-C30 (SEQ ID NO: 57)
 Трастузумаб (GC)-ag-A64-C30-histoneSL (SEQ ID NO: 58).

20 3. Транскрипция *in vitro*

Матричную ДНК по примеру 2 линейаризовали и транскрибировали *in vitro* с использованием полимеразы Т7. Затем матричную ДНК расщепляли посредством обработки ДНКазой. Все транскрипты мРНК содержали 5'-кэпирующую структуру, полученную посредством добавления избытка N7-метилгуанозин-5'-трифосфат-5'-
 25 гуанозина к реакции транскрипции. Полученную таким образом мРНК очищали и ресуспендировали в воде.

4. Ферментативное аденилирование мРНК

Две мРНК ферментативно аденилировали:
 ppLuc(GC)-ag-A64 и ppLuc(GC)-ag-histoneSL.

30 С этой целью, РНК инкубировали с поли(А)-полимеразой E. coli и АТФ (набор Poly (A) Polymerase Tailing Kit, Epicentre, Madison, USA) по инструкциям производителя. мРНК с достроенной последовательностью поли(А) очищали и ресуспендировали в воде. Длину последовательности поли(А) определяли посредством электрофореза в агарозном геле. Начальную мРНК достраивали приблизительно 250 остатками аденилата,
 35 полученные мРНК обозначают как

ppLuc(GC)-ag-A300 и ppLuc(GC)-ag-histoneSL-A250, соответственно.

5. Экспрессия люциферазы посредством электропорации мРНК

40 Клетки HeLa трипсинизировали и промывали в опти-MEM. 1×10^5 клеток в 200 мкл опти-MEM электропорировали 0,5 мкг кодирующей ppLuc мРНК. В качестве контроля, отдельно проводили электропорацию мРНК, не кодирующей ppLuc.

Электропорированные клетки высевали в 24-луночные планшеты в 1 мл среды RPMI 1640. Через 6, 24 или 48 часов после трансфекции среду отбирали и клетки лизировали в 200 мкл лизирующего буфера (25 mM Tris, pH 7,5 (HCl), 2 mM ЭДТА, 10% глицерин, 1% Triton X-100, 2 mM DTT, 1 mM PMSF). Лизаты хранили при -20°C до измерения
 45 активности ppLuc.

6. Экспрессия люциферазы посредством липофекции мРНК

Клетки HeLa высевали в 96-луночные планшеты при плотности 2×10^4 клеток на лунку. Через сутки клетки отмывали в опти-MEM, а затем трансфицировали 0,25 мкг

образующей комплекс с липофектином кодирующей ppLuc мРНК в 150 мкл опти-MEM. В качестве контроля отдельно проводили липофекцию мРНК, не кодирующей ppLuc. Через 6 часов после начала трансфекции в некоторых лунках опти-MEM отбирали и клетки лизировали в 200 мкл лизирующего буфера. В это время в оставшихся лунках опти-MEM заменяли на среду RPMI 1640. В этих лунках среду отбирали и клетки лизировали в 200 мкл лизирующего буфера через 24 или 48 часов после начала трансфекции. Лизаты хранили при -20°C до измерения активности ppLuc.

7. Измерение активности люциферазы

Активность ppLuc измеряли в виде относительных световых единиц (RLU) в планшетном спектрофотометре BioTek SynergyHT при времени измерения 5 секунд с использованием 50 мкл лизата и 200 мкл люциферинового буфера (25 мМ глицилглицин, pH 7,8 (NaOH), 15 мМ MgSO₄, 2 мМ АТФ, 75 мкМ люциферин). Конкретные RLU рассчитывали, вычитая RLU контрольной РНК из общих RLU.

8. Экспрессия люциферазы посредством интрадермальной инъекции мРНК (экспрессия люциферазы in vivo)

Мышей анестезировали смесью ромпуна и кетавета. Каждую кодирующую ppLuc мРНК инъецировали интрадермально (0,5 мкг мРНК в 50 мкл на инъекцию). В качестве контроля отдельно инъецировали мРНК, не кодирующую ppLuc. Через 16 часов после инъекции мышей умерщвляли и собирали ткань. Образцы ткани быстро замораживали в жидком азоте и лизировали в устройстве для лизиса ткани (Qiagen) в 800 мкл лизирующего буфера (25 мМ Tris, pH 7,5 (HCl), 2 мМ ЭДТА, 10% глицерин, 1% Triton X-100, 2 мМ DTT, 1 мМ PMSF). Затем образцы центрифугировали при 13500 об/мин при 4°C в течение 10 минут. Лизаты хранили при -80°C до измерения активности ppLuc (см. 7. измерение активности люциферазы).

9. Экспрессия MmEPO в клетках HeLa

Клетки HeLa обрабатывали трипсином и промывали в среде opti-MEM. 1×10⁵ клеток в 200 мкл среды opti-MEM электропорировали 0,5 мкг MmEPO-кодирующей мРНК. В качестве контрольного образца отдельно электропорировали постороннюю мРНК. Электропорированные клетки высевали на 24-луночные планшеты в 1 мл среды RPMI 1640. Через 6, 24 или 48 часов после трансфекции из культур клеток удаляли супернатанты. Содержание EPO в супернатантах измеряли, используя набор для анализа методом ELISA эритропоэтин-квантикин мышей/крыс (R&D Systems) в соответствии с инструкциями производителя.

10. Результаты

10.1. Последовательности структуры "стебель-петля" гистонов:

Для характеристики последовательностей структуры "стебель-петля" гистонов группировали и выравнивали последовательности многоклеточных и простейших (4001 последовательность), или простейших (131 последовательность) или альтернативно многоклеточных (3870 последовательностей) или позвоночных (1333 последовательности) или людей (84 последовательности). Затем определяли количество встречающихся нуклеотидов в каждом положении. На основе полученных таким образом таблиц получали консенсусные последовательности для 5 различных групп последовательностей, представляющие все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях. В комбинированной консенсусной последовательности многоклеточных и простейших 3 нуклеотида являются консервативными, T/U в петле и G и C в стебле, формирующих пары оснований. Как правило, структурно формируется стебель из 6 пар оснований и петля из 4 нуклеотидов. Однако обычными являются измененные структуры: из 84 структур "стебель-петля"

гистонов, принадлежащих человеку, две содержат стебель только из 5 нуклеотидов, содержащий 4 пары оснований и одно несоответствие. Другая структура "стебель-петля" гистонов человека содержит стебель только из 5 пар оснований. Еще четыре структуры "стебель-петля" гистонов человека содержат стебель длиной 6 нуклеотидов, но содержат одно несоответствие в трех различных положениях, соответственно. Кроме того, четыре структуры "стебель-петля" гистонов человека содержат одну пару неоднозначных оснований в двух различных положениях, соответственно. В отношении петли, по-видимому, длина в 4 нуклеотида необходима не строго, так как у *D. discoideum* идентифицирована петля из 5 нуклеотидов.

В дополнение к консенсусной последовательности, представляющей все нуклеотиды, присутствующие в анализируемых последовательностях, также получали более ограниченные консенсусные последовательности, более выделяя консервативные нуклеотиды. В итоге, получали следующие последовательности:

(Конс): представляет все присутствующие нуклеотиды.

(99%): представляет по меньшей мере 99% всех присутствующих нуклеотидов.

(95%): представляет по меньшей мере 95% всех присутствующих нуклеотидов.

(90%): представляет по меньшей мере 90% всех присутствующих нуклеотидов.

Результаты анализа последовательностей структуры "стебель-петля" гистонов обобщены в приведенных ниже таблицах 1-5 (также см. фиг. 1-5):

Таблица 1

Консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов многоклеточных и простейших: (на основе выравнивания 4001 последовательности структур "стебель-петля" гистонов многоклеточных и простейших) (также см. фиг. 1)

						<	<	<	<	<	<	.	.	.	.	>	>	>	>	>	>					
# A	2224	1586	3075	2872	1284	184	0	13	12	9	1	47	59	0	675	3818	195	1596	523	0	14	3727	61	771	2012	2495
# T	172	188	47	205	19	6	0	569	1620	199	3947	3830	3704	4001	182	1	21	15	11	0	179	8	64	557	201	690
# C	1557	2211	875	918	2675	270	0	3394	2342	3783	51	119	227	0	3140	7	50	31	16	4001	3543	154	3870	2636	1744	674
# G	25	16	4	6	23	3541	4001	25	27	10	2	5	11	0	4	175	3735	2359	3451	0	265	112	4	37	43	138
Cons	N*	N*	N	N	N	N	G	N	N	N	N	N	N	T	N	N	N	N	N	C	N	N	N	N*	N*	N*
99%	H*	H*	H	H	V	V	G	Y	Y	Y	Y	H	H	T	H	R	V	V	R	C	B	V	H	H*	N*	N*
95%	M*	H*	M	H	M	S	G	Y	Y	Y	T	T	Y	T	M	A	R	R	R	C	S	M	C	H*	H*	H*
90%	M*	M*	M	M	M	S	G	Y	Y	C	T	T	T	T	M	A	G	R	R	C	S	A	C	H*	M*	H*

Таблица 2

Консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов простейших: (на основе выравнивания 131 последовательности структур "стебель-петля" гистонов простейших) (также см. фиг. 2)

						<	<	<	<	<	<	•	•	•	•	>	>	>	>	>	>					
# A	52	32	71	82	76	13	0	12	12	9	1	46	3	0	75	82	53	79	20	0	4	94	17	35	74	56
# T	20	32	37	21	8	3	0	21	85	58	86	70	65	131	28	1	17	13	10	0	15	7	31	32	20	28
# C	45	59	20	25	38	0	0	86	8	54	42	13	58	0	27	2	6	31	10	131	112	5	82	58	30	40
# G	14	8	3	3	9	115	131	12	26	10	2	2	5	0	1	46	55	8	91	0	0	25	1	6	7	7
Cons	N*	N*	N	N	N	D	G	N	N	N	N	N	N	T	N	N	N	N	N	C	H	N	N	N*	N*	N*
99%	N*	N*	N	N	N	D	G	N	N	N	B	N	N	T	H	V	N	N	N	C	H	N	H	N*	N*	N*
95%	N*	N*	H	H	N	R	G	N	N	N	Y	H	B	T	H	R	D	N	N	C	Y	D	H	H*	N*	N*
90%	N*	H*	H	H	V	R	G	N	D	B	Y	H	Y	T	H	R	D	H	N	C	Y	R	H	H*	H*	H*

Таблица 3

Консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов многоклеточных: (на основе выравнивания 3870 (включая 1333 последовательности позвоночных) последовательностей структур "стебель-петля" гистонов многоклеточных) (также см. фиг. 3)

						<	<	<	<	<	<	•	•	•	•	>	>	>	>	>	>					
# A	2172	1554	3004	2790	1208	171	0	1	0	0	0	1	56	0	600	3736	142	1517	503	0	10	3633	44	736	1938	2443
# T	152	156	10	184	11	3	0	548	1535	141	3861	3760	3639	3870	154	0	4	2	1	0	164	1	33	525	181	662
# C	1512	2152	855	893	2637	270	0	3308	2334	3729	9	106	169	0	3113	5	44	0	6	3870	3431	149	3788	2578	1714	634
# G	11	8	1	3	14	3426	3870	13	1	0	0	3	6	0	3	129	3680	2351	3360	0	265	87	3	31	36	131
Cons	N*	N*	N	N	N	N	G	N	B	Y	Y	N	N	T	N	V	N	D	N	C	N	N	N	N*	N*	N*
99%	H*	H*	M	H	M	V	G	Y	Y	Y	T	Y	H	T	H	R	V	R	R	C	B	V	M	H*	H*	N*
95%	M*	M*	M	M	M	S	G	Y	Y	C	T	T	Y	T	M	A	G	R	R	C	S	M	C	H*	H*	H*
90%	M*	M*	M	M	M	S	G	Y	Y	C	T	T	T	T	M	A	G	R	R	C	S	A	C	H*	M*	H*

Таблица 4

Консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов позвоночных: (на основе выравнивания 1333 последовательностей структур "стебель-петля" гистонов позвоночных) (также см. фиг. 4)

						<	<	<	<	<	<	•	•	•	•	>	>	>	>	>	>					
# A	661	146	1315	1323	920	8	0	1	0	0	0	1	4	0	441	1333	0	1199	21	0	1	1126	26	81	380	960
# T	63	121	2	2	6	2	0	39	1217	2	1331	1329	1207	1333	30	0	1	0	1	0	2	1	22	91	91	12
# C	601	1062	16	6	403	1	0	1293	116	1331	2	0	121	0	862	0	2	0	0	1333	1328	128	1284	1143	834	361
# G	8	4	0	2	4	1322	1333	0	0	0	0	3	1	0	0	0	1330	134	1311	0	2	78	1	18	28	0
Cons	N*	N*	H	N	N	N	G	H	Y	Y	Y	D	N	T	H	A	B	R	D	C	N	N	N	N*	N*	H*
99%	H*	H*	M	A	M	G	G	Y	Y	C	T	T	Y	T	H	A	G	R	R	C	C	V	H	N*	N*	M*
95%	H*	H*	A	A	M	G	G	C	Y	C	T	T	Y	T	M	A	G	R	G	C	C	V	C	H*	H*	M*
90%	M*	M*	A	A	M	G	G	C	T	C	T	T	T	T	M	A	G	R	G	C	C	M	C	Y*	M*	M*

Таблица 5

Консенсусная последовательность структуры "стебель-петля" гистонов *Homo sapiens*: (на основе выравнивания 84 последовательностей структур "стебель-петля" гистонов человека) (также см. фиг. 5)

						<	<	<	<	<	<	•	•	•	•	>	>	>	>	>	>					
# A	10	17	84	84	76	1	0	1	0	0	0	1	0	0	12	84	0	65	3	0	0	69	5	0	10	64
# T	8	6	0	0	2	2	0	1	67	0	84	80	81	84	5	0	0	0	0	0	0	0	4	25	24	3
# C	62	61	0	0	6	0	0	82	17	84	0	0	3	0	67	0	1	0	0	84	84	5	75	57	44	17
# G	4	0	0	0	0	81	84	0	0	0	0	3	0	0	0	0	83	19	81	0	0	10	0	2	6	0
Cons	N*	H*	A	A	H	D	G	H	Y	C	T	D	Y	T	H	A	S	R	R	C	C	V	H	B*	N*	H*
99%	N*	H*	A	A	H	D	G	H	Y	C	T	D	Y	T	H	A	S	R	R	C	C	V	H	B*	N*	H*
95%	H*	H*	A	A	M	G	G	C	Y	C	T	T	T	T	H	A	G	R	G	C	C	V	M	Y*	N*	M*
90%	H*	M*	A	A	A	G	G	C	Y	C	T	T	T	T	M	A	G	R	G	C	C	R	M	Y*	H*	M*

где использованные сокращения определяли следующим образом:

Сокращение	Основания нуклеотидов	Примечание
G	G	Гуанин
A	A	Аденин
T	T	Тимин
U	U	Урацил
C	C	Цитозин
R	G или A	Пурин
Y	T/U или C	Пиримидин
M	A или C	Амино
K	G или T/U	Кето
S	G или C	Сильное (3Н-связи)
W	A или T/U	Слабое (2Н-связи)
H	A или C или T/U	Не G
B	G или T/U или C	Не A
V	G или C или A	Не T/U
D	G или A или T/U	Не C
N	G или C или T/U или A	Любое основание
*	Присутствует или нет	Основание может присутствовать или нет

10.2. Комбинация поли(A) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК синергичным образом.

Для исследования влияния комбинации поли(A) и histoneSL на экспрессию белка с мРНК синтезировали мРНК с различными последовательностями с 3'-конца от 3'-UTR альфа-глобина: мРНК, на 3'-конце просто заканчивающиеся 3'-UTR, таким образом, не имея последовательности поли(A) и histoneSL, или содержащие с 3'-конца от 3'-UTR последовательность поли(A) A64 или histoneSL в качестве альтернативы друг другу, или и поли(A) A64, и histoneSL. Кодировующую люциферазу мРНК или контрольную мРНК электропорировали в клетки HeLa. Уровни люциферазы измеряли через 6, 24 и 48 часов после трансфекции (см. приведенную ниже таблицу 6 и фиг. 20).

Таблица 6			
мРНК	RLU через 6 часов	RLU через 24 часа	RLU через 48 часов
ppLuc(GC)-ag-A64-histoneSL	466553	375169	70735
ppLuc(GC)-ag-histoneSL	50947	3022	84
ppLuc(GC)-ag-A64	10471	19529	4364
ppLuc(GC)-ag	997	217	42

С последовательности мРНК, не содержащей ни последовательности поли(A), ни histoneSL, экспрессировалось мало люциферазы. Последовательность поли(A) или histoneSL увеличивают уровень в сходной степени. Любая мРНК обеспечивала уровень

люциферазы, намного больший, чем мРНК с отсутствием поли(А) и histoneSL. Однако удивительно, что комбинация поли(А) и histoneSL дополнительно сильно увеличивала уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно. Величина повышения уровня люциферазы при комбинировании поли(А) и histoneSL в одной и той же мРНК демонстрирует, что они действуют синергически.

Синергию между поли(А) и histoneSL количественно определяли, деля сигнал от мРНК с поли(А)-histoneSL (+/+) на сумму сигналов от мРНК с histoneSL (-/+) и мРНК с поли(А) (+/-) (см. приведенную ниже таблицу 7).

Таблица 7					
	A64	histoneSL	RLU через 6 часов	RLU через 24 часа	RLU через 48 часов
	+	+	466553	375169	70735
	-	+	50947	3022	84
	+	-	10471	19529	4364
Синергизм			7,6	16,6	15,9

Рассчитанный таким образом показатель указывает на то, насколько уровень люциферазы с мРНК с комбинацией поли(А) и histoneSL превышает уровень, который можно было бы ожидать, если бы влияние поли(А) и histoneSL было чисто аддитивным. Уровень люциферазы с мРНК с комбинацией поли(А) и histoneSL до величины в 16,6 раз превышал уровень, который мог бы присутствовать, если бы их эффекты были чисто аддитивными. Этот результат подтверждает, что комбинация поли(А) и histoneSL действует, существенно синергически увеличивая экспрессию белка.

10.3. Комбинация поли(А) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК вне зависимости от их порядка.

Влияние комбинации поли(А) и histoneSL может зависеть от длины последовательности поли(А) и порядка поли(А) и histoneSL. Таким образом, синтезировали мРНК с увеличенной длиной последовательности поли(А) и мРНК с поли(А) и histoneSL в обратном порядке: две мРНК содержали с 3'-конца от 3'-UTR последовательность поли(А) A120 или A300. Одна дополнительная мРНК с 3'-конца от 3'-UTR содержала сначала histoneSL с последующей последовательностью поли(А) A250. Кодирующую люциферазу мРНК или контрольную мРНК посредством липофекции вводили в клетки HeLa. Уровни люциферазы измеряли через 6, 24 и 48 часов после начала трансфекции (см. приведенную ниже таблицу 8 и фиг. 21).

Таблица 8				
мРНК	RLU через 6 часов	RLU через 24 часа	RLU через 48 часов	
ppLuc(GC)-ag-histoneSL-A250	98472	734222	146479	
ppLuc(GC)-ag-A64-histoneSL	123674	317343	89579	
ppLuc(GC)-ag-histoneSL	7291	4565	916	
ppLuc(GC)-ag-A300	4357	38560	11829	
ppLuc(GC)-ag-A120	4371	45929	10142	
ppLuc(GC)-ag-A64	1928	26781	537	

Последовательность поли(А) A64 или histoneSL обеспечивали сравнимые уровни люциферазы. В соответствии с предыдущим экспериментом комбинация A64 и histoneSL сильно увеличивала уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно. Величина подъема уровня люциферазы при комбинации поли(А) и histoneSL в одной мРНК демонстрируют, что они действуют синергически. Синергию между A64 и histoneSL количественно определяли, как и ранее, на основе уровней люциферазы мРНК с A64-histoneSL, A64 и

histoneSL (см. приведенную ниже таблицу 9). Уровень люциферазы, получаемой с мРНК с комбинацией A64 и histoneSL, до величины в 61,7 раз превышал уровень, который мог бы присутствовать, если бы эффекты поли(A) и histoneSL были чисто аддитивными.

Таблица 9					
	A64	histoneSL	RLU через 6 часов	RLU через 24 часа	RLU через 48 часов
	+	+	123674	317343	89579
	-	+	7291	4565	916
	+	-	1928	26781	537
Синергизм			13,4	10,1	61,7

В отличие от этого, увеличение длины последовательности поли(A) с A64 до A120 или до A300 только умеренно увеличивало уровень люциферазы (см. таблицу 8 и фиг. 19). мРНК с наибольшей последовательностью поли(A), A300, также сравнивали с мРНК, в которой последовательность поли(A) сходной длины комбинировали с histoneSL, histoneSL-A250. В дополнение к наличию длинной последовательности поли(A) в этой мРНК относительно мРНК с A64-histoneSL изменяли порядок histoneSL и поли(A). Комбинация A250 и histoneSL сильно увеличивала уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого или с histoneSL, или с A300. Также синергию между A250 и histoneSL количественно определяли как ранее, сравнивая RLU, полученные для мРНК с histoneSL-A250, с RLU, полученные для мРНК с A300 и мРНК с histoneSL (см. приведенную ниже таблицу 10). Уровень люциферазы с мРНК, комбинирующей A250 и histoneSL до величины в 17,0 раз превышал уровень, мог бы присутствовать, если бы эффекты поли(A) и histoneSL были чисто аддитивными.

Таблица 10					
	histoneSL	A250/A300	RLU через 6 часов	RLU через 24 часа	RLU через 48 часов
	+	+	98472	734222	146479
	+	-	7291	4565	916
	-	+	4357	38560	11829
Синергизм			8,5	17,0	11,5

Таким образом, высокое синергическое действие комбинации histoneSL и поли(A) на экспрессию белка с мРНК показано для значительно различающихся длин поли(A) и вне зависимости от порядка поли(A) и histoneSL.

10.4. Повышение экспрессии белка посредством комбинации поли(A) и histoneSL является специфичным

Для исследования специфичности влияния комбинации поли(A) и histoneSL на экспрессию белка с мРНК, синтезировали мРНК с альтернативными последовательностями в комбинации с поли(A): эти мРНК с 3'-конца от A64 содержали одну из семи различных последовательностей, соответственно. Кодировующую люциферазу мРНК или контрольную мРНК электропорировали в клетки HeLa. Уровни люциферазы измеряли через 6, 24 и 48 часов после трансфекции (см. приведенную ниже таблицу 11 и фигуру 22).

Таблица 11			
мРНК	RLU через 6 часов	RLU через 24 часа	RLU через 48 часов
ppLuc(GC)-ag-A64-N32	33501	38979	2641
ppLuc(GC)-ag-A64-SL	28176	20364	874
ppLuc(GC)-ag-A64-U30	41632	54676	3408
ppLuc(GC)-ag-A64-G30	46763	49210	3382
ppLuc(GC)-ag-A64-PolioCL	46428	26090	1655

ppLuc(GC)-ag-A64-aCPSL	34176	53090	3338
ppLuc(GC)-ag-A64-ag	18534	18194	989
ppLuc(GC)-ag-A64-histoneSL	282677	437543	69292
ppLuc(GC)-ag-histoneSL	27597	3171	0
ppLuc(GC)-ag-A64	14339	48414	9357

Последовательность поли(А) или histoneSL обеспечивали сравнимые уровни люциферазы. Также комбинация поли(А) и histoneSL сильно увеличивала уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно, таким образом, действуя синергически. В отличие от этого, комбинирование поли(А) с любой из альтернативных последовательностей не демонстрировала действия на уровень люциферазы по сравнению с мРНК, содержащей только последовательность поли(А). Таким образом, комбинация поли(А) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК синергичным образом, и это влияние является специфичным.

10.5. Комбинация поли(А) и histoneSL повышает экспрессию белка с мРНК синергичным образом *in vivo*.

Для исследования влияния комбинации поли(А) и histoneSL на экспрессию белка с мРНК *in vivo*, мышам интрадермально инъецировали кодирующую люциферазу мРНК с различными последовательностями с 3'-конца от 3'-UTR альфа-глобина или контрольную мРНК: мРНК с 3'-конца от 3'-UTR содержали последовательность поли(А) А64 или histoneSL в качестве альтернативы друг другу, или и поли(А) А64, и histoneSL. Уровни люциферазы измеряли через 16 часов после инъекция (см. приведенную ниже таблицу 12 и фиг. 23).

Таблица 12	
мРНК	RLU через 16 часов
ppLuc(GC)-ag-A64-histoneSL	38081
ppLuc(GC)-ag-histoneSL	137
ppLuc(GC)-ag-A64	4607

Люцифераза экспрессировалась с мРНК с histoneSL или с последовательностью поли(А). Однако удивительно, что комбинация поли(А) и histoneSL дополнительно сильно увеличивала уровень люциферазы, во много раз выше уровня, наблюдаемого при использовании любого из элементов отдельно. Величина повышения уровня люциферазы при комбинировании поли(А) и histoneSL в одной мРНК демонстрирует, что они действуют синергически.

Синергию между поли(А) и histoneSL количественно определяли, деля сигнал от мРНК с поли(А)-histoneSL (+/+) на сумму сигналов от мРНК с histoneSL (-/+) и мРНК с поли(А) (+/-) (см. приведенную ниже таблицу 13).

Таблица 13			
	A64	histoneSL	RLU через 16 часов
	+	+	38081
	-	+	137
	+	-	4607
Синергизм			8,0

Рассчитанный таким образом показатель указывает на то, насколько уровень люциферазы с мРНК с комбинацией поли(А) и histoneSL превышает уровень, который можно было бы ожидать, если бы влияние поли(А) и histoneSL было чисто аддитивным. Уровень люциферазы с мРНК с комбинацией поли(А) и histoneSL до величины в 8 раз превышал уровень, который мог бы присутствовать, если бы их эффекты были чисто

аддитивными. Этот результат подтверждает, что комбинация поли(А) и histoneSL действует, существенно синергически увеличивая экспрессию белка *in vivo*.

11. Экспрессия антител и их исследование

Линия клеток

5 Гуманизированные антитела экспрессируют на основе РНК в клетках СНО-К1 или ВНК-21 (HER2-отрицательные клетки почки сирийского хомячка). HER2 экспрессирован на высоком уровне в линии опухолевых клеток ВТ-474, поэтому указанные клетки используют для определения уровней антител при помощи анализа FACS. Все линии клеток за исключением СНО культивируют в среде RPMI, содержащей FCS и глутамин, 10 в соответствии с информацией поставщика. Клетки СНО выращивают в среде Хэма F12, содержащей 10% FCS. Все линии клеток могут быть приобретены в Германской коллекции культур клеток (DSMZ, Braunschweig, Germany).

Экспрессия антител

Разные количества мРНК (с большим содержанием G/C, как показано на фигурах 15 24 и 25), кодирующей гуманизированное антитело герцептин (трастузумаб), трансфицируют в клетки СНО или ВНК методом электропорации (300 В, 450 мкФ для клеток СНО и 300 В, 150 мкФ для клеток ВНК). Трансфицированные клетки высевают на 24-луночные планшеты для культур клеток с плотностью 200000-400000 клеток/лунку. Для сбора секретированного белка среду заменяют 250 мкл свежей среды после 20 сепления клеток с пластиковой поверхностью. Секретированный белок собирают в течение 24-96 часов и хранят при 4°C. Кроме того, клетки собирают в 50 мкл физиологического раствора с фосфатным буфером (однократный буфер PBS), содержащим 0,5% BSA, и разрушают, выполняя три цикла замораживания-оттаивания. Клеточный лизат очищают центрифугированием и хранят при -80°C.

25 Анализ методом вестерн-блоттинга

Для обнаружения трансляции трансфицированной РНК белки из супернатантов культур клеток или клеточные лизаты отделяют при помощи электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии 12% додецилсульфата натрия (SDS-PAGE) и наносят на нитроцеллюлозную мембрану. В качестве контрольного образца может 30 быть использовано гуманизированное антитело герцептин (Roche). После окончания блоттинга мембраны инкубируют с биотинилированным антителом козы против IgG человека (Dianiva), стрептавидином, связанным с пероксидазой из хрена (BD), и хемилюминесцентным субстратом (SuperSignal West Pico, Pierce). Окрашивание детектируют при помощи хемилюминесцентной камеры Fuji LAS-1000.

35 Анализ методом FACS

Образование функциональных антител можно продемонстрировать путем окрашивания антиген-экспрессирующих клеток-мишеней методом FACS. Для исследования продуцирования функциональных антител супернатанты культур РНК- 40 трансфицированных клеток собирают через 48-96 часов. Примерно 200000 клеток-мишеней ВТ-474, экспрессирующих HER2, инкубируют с контрольными антителами (герцептин, Roche) или супернатантами культур клеток. Для обнаружения связанных антител клетки окрашивают биотинилированным антителом козы против IgG человека (Dianova) и PE-меченным стрептавидином (Invitrogen). Клетки анализируют в устройстве FACSCanto II (BD).

45

(57) Формула изобретения

1. Нуклеиновая кислота последовательностью, содержащей или кодирующей:
 - а) кодирующую область, кодирующую по меньшей мере один пептид или белок;

б) по меньшей мере одну структуру "стебель-петля" гистонов, и
 с) последовательность поли(А) или сигнал полиаденилирования;
 где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, выбранные из:

- 5 (i) терапевтических белков, используемых для лечения метаболических или эндокринных нарушений;
- (ii) терапевтических белков, используемых для лечения нарушений крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов;
- 10 (iii) терапевтических белков, используемых для гормонозаместительной терапии;
- (iv) терапевтических белков, используемых для перепрограммирования соматических клеток в плюри- или омнипотентные стволовые клетки;
- (v) терапевтических белков, выбранных из адъювантных или иммуностимулирующих белков; и
- 15 (vi) антител.

2. Нуклеиновая кислота по п. 1, где по меньшей мере одна структура "стебель-петля" гистонов является гетерологичной в отношении кодирующей области, кодирующей по меньшей мере один пептид или белок, где кодирующая область, предпочтительно, не должна кодировать белок гистона или его фрагмент, производное или вариант,
 20 выполняющий функцию гистона или гистоноподобную функцию.

3. Нуклеиновая кислота по п. 1 или 2, где пептид или белок, кодированный кодирующей областью, содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, где фрагмент, вариант или производное терапевтического белка сохраняет по меньшей мере 50% биологической активности природного
 25 полноразмерного терапевтического белка.

4. Нуклеиновая кислота по п. 1 или 3, где кодирующая область не кодирует репортерный белок, маркерный или селективный белок.

5. Нуклеиновая кислота по п. 1 или 3, где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, выбранные из
 30 терапевтических белков, используемых для лечения метаболических или эндокринных нарушений, включая кислую сфингомиелиназу, адипотид, бета-агалсидазу, альглюкозидазу, альфа-галактозидазу А, альфа-глюкозидазу, альфа-L-идуронидазу, альфа-N-ацетилглюкозаминидазу, амфирегулин, ангиопоэтины (Ang1, Ang2, Ang3, Ang4, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, ANGPTL7), бета-целлулин, бета-
 35 глюкоуронидазу, костные морфогенетические белки BMP (BMP1, BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8a, BMP8b, BMP10, BMP15), белок CLN6, эпидермальный фактор роста (EGF), эпиген, эпирегулин, фактор роста фибробластов (FGF, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, FGF-16, FGF-17, FGF-18, FGF-19, FGF-20, FGF-21, FGF-22, FGF-23), галсульфазу,
 40 грелин, глюкоцереброзидазу, GM-CSF, гепарин-связывающий EGF-подобный фактор роста (HB-EGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), гепцидин, альбумин человека, повышенную потерю альбумина, идурсульфазу (идуронат-2-сульфатаза), интегрины $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ и $\alpha 5\beta 1$, лудуронат-сульфатазу, ларонидазу, N-ацетилгалактозамин-4-сульфатазу (rhASB; галсульфазу, арилсульфатазу А (ARSA), арилсульфатазу В (ARSB)),
 45 N-ацетилглюкозамин-6-сульфатазу, фактор роста нервов (NGF, нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга (BDNF), нейротрофин-3 (NT-3) и нейротрофин 4/5 (NT-4/5), нейрорегулин (NRG1, NRG2, NRG3, NRG4), нейропилин (NRP-1, NRP-2), обестатин, тромбоцитарный фактор роста (PDGF (PDFF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D)),

рецептор бета-TGF (эндоглин, рецептор бета-TGF 1, рецептор бета-TGF 2, рецептор бета-TGF 3), тромбopoэтин (THPO) (фактор роста и развития мегакариоцитов (MGDF)), трансформирующий фактор роста (TGF (TGF-а, бета-TGF (TGFbeta1, TGFbeta2 и TGFbeta3))), VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F и PIGF),
 5 незиритид, трипсин, адренкортикотрофический гормон (АСТН), атриал-натриуретический пептид (АНР), холецистокинин, гастрин, лептин, окситоцин, соматостатин, вазопрессин (антидиуретический гормон), кальцитонин, эксенатид, гормон роста (GH), соматотропин, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), мекасермин ринфабат, аналог IGF-1, мекасермин, аналог IGF-1, пегвисомант,
 10 прамлинтид, терипаратид (остатки 1-34 паразитовидного гормона человека), бекаплермин, альфа-диботермин (костный морфогенетический белок 2), ацетат гистрелина (гонадолиберин, GnRH), октреотид и палифермин (фактор роста кератиноцитов, KGF);

из терапевтических белков, используемых для лечения нарушений крови, заболеваний
 15 сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов, включая альтеплазу (активатор плазминогена ткани, tPA), анистреплазу, антитромбин III (АТ-III), бивалирудин, альфа-дарбепoэтин, альфа-дротрекогин (активированный белок С), эритропоэтин, альфа-эпоэтин, фактор IX, фактор VIIa, фактор VIII, лепирудин,
 20 концентрат белка С, ретеплазу (делеционный мутеин tPA), стрептокиназу, тенектеплазу, урокиназу, ангиостатин, иммунотоксин против CD22, денилейкин дифтитокс, иммуноцианин, MPS (металлопанстимулин), афлиберцепт, эндостатин, коллагеназу, дезоксирибонуклеазу I человека, дорназу, гиалуронидазу, папаин, L-аспарагиназу, Peg-аспарагиназу, расбуриказу, хорионический гонадотропин человека (HCG),
 25 фолликулостимулирующий гормон человека (FSH), альфа-лутропин, пролактин, ингибитор альфа-1-протеиназы, лактазу, ферменты поджелудочной железы (липаза, амилаза, протеаза), аденозиндеаминазу (бычья пегадемаза, PEG-ADA), абатацепт, алефацепт, анакинру, этанерцепт, антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL-1), тимулин, антагонист альфа-TNF, энфувиртид и тимозина α1;

30 из терапевтических белков, выбранных из адъювантных или иммуностимулирующих белков, включая

адъювантные белки человека, в частности, паттерн-распознающие рецепторы TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11; NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4, NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7,
 35 NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, IPAF, NAIP, CIITA, RIG-1, MDA5 и LGP2, трансдукторы сигналов сигнального пути TLR, включающие адапторные белки, включающие, например, Trif и Cardif; компоненты сигнального пути мелких GTPаз (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab и т.д.), компоненты сигнального пути PIP (PI3K, Src-киназы и т.д.), компоненты MyD88-зависимого сигнального пути (MyD88,
 40 IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6 и т.д.), компоненты MyD88-независимого сигнального пути (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1, IRAK1 и т.д.); активированные киназы, включающие, например, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7, ERK1, ERK2, GSK3, PKC киназы, PKD киназы, GSK3 киназы, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK и TAK1; активированные факторы транскрипции, включающие,
 45 например, NF-κB, c-Fos, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-1, Elk-1, ATF2, IRF-3, IRF-7, белки теплового шока, такие как HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 и HSP90, gp96, фибриноген, дополнительный домен А повтора TypIII фибронектина; компоненты системы комплементов, включающие Clq, MBL, Clr, Cls, C2b, Bb, D, MASP-1, MASP-2,

C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b, C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P и CD59, или индуцированные гены-мишени, включающие, например, бета-дефенсин, белки поверхности клетки; адьювантные белки человека, включающие *trif*, лиганд *flt-3*, *Grp96* или фибронектин, цитокины, индуцирующие или усиливающие врожденную иммунную реакцию, которые включают альфа-IL-1, бета-IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, альфа-TNF, альфа-IFN, бета-IFN, гамма-IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF; хемокины, включающие IL-8, IP-10, MCP-1, альфа-MIP-1, RANTES, эотаксин, CCL21; цитокины, высвобождаемые из макрофагов, включающие IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 и альфа-TNF, а также IL-1R1 и альфа-IL-1;

из бактериальных (адьювантных) белков, в частности, бактериальных белков теплового шока или белков-компаньонов, включающих *Hsp60*, *Hsp70*, *Hsp90*, *Hsp100*; *OmpA* (белок наружной мембраны) из грамотрицательных бактерий; бактериальные порины, включающие *OmpF*; бактериальные токсины, включающие коклюшный токсин (PT) из *Bordetella pertussis*, аденилатциклазу коклюшного токсина *CyaA* и *CyaC* из *Bordetella pertussis*, мутант PT-9K/129G из коклюшного токсина, аденилатциклазу коклюшного токсина *CyaA* и *CyaC* из *Bordetella pertussis*, столбнячный токсин, холерный токсин (CT), В-субъединицу холерного токсина, мутант СТК63 из холерного токсина, мутант СТЕ112К из CT, термолабильный энтеротоксин (LT) *Escherichia coli*, В-субъединицу из термолабильного энтеротоксина (LTB), мутанты термолабильного энтеротоксина *Escherichia coli* с уменьшенной токсичностью, включая LTK63, LTR72; модулин, растворимый в феноле; нейтрофил-активирующий белок (HP-NAP) из *Helicobacter pylori*, поверхностно-активный белок D; липопротеин наружного белка A из *Borrelia burgdorferi*, Ag38 (антиген длиной 38 кДа) из *Mycobacterium tuberculosis*, белки из бактериальной фимбрии; энтеротоксин CT из *Vibrio cholerae*, пилин из пили грамотрицательных бактерий, поверхностно-активный белок A и бактериальные флагеллины;

из (адьювантных) белков простейших, включающих, в частности, Tc52 из *Trypanosoma cruzi*, PFTG из *Trypanosoma gondii*, белки теплового шока простейших, LeIF из *Leishmania spp.*, профилирующий белок из *Toxoplasma gondii*, вирусные (адьювантные) белки, в частности, гибридный гликопротеин респираторно-синцитиального вируса (F-протеин), белок оболочки вируса ММТ, белок вируса мышинного лейкоза, белок гемагглютинаина вируса кори дикого типа, грибные (адьювантные) белки, в частности, грибной иммуномодулирующий белок (FIP, LZ-8) и гемоцианин лимфы улитки (KLH), *OspA*;

из терапевтических белков, используемых для гормонозаместительной терапии, включающих, в частности, эстрогены, прогестерон или прогестины и тестостерон;

из терапевтических белков, используемых для перепрограммирования соматических клеток в плюри- или омнипотентные стволовые клетки, включающие, в частности, Oct-3/4, семейство Sox генов (*Sox1*, *Sox2*, *Sox3* и *Sox15*), семейство Klf (*Klf1*, *Klf2*, *Klf4* и *Klf5*), семейство Мус (*c-мус*, *L-мус* и *N-мус*), *Nanog* и *LIN28*;

из терапевтических белков, выбранных из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, включающих, в частности, 131I-тозитумаб, 3F8, 8H9, абаговомаб, адекатумумаб, афутузумаб, алацизумаб пеголь, алемтузумаб, аматуксимаб, АМЕ-133v, AMG 102, анатумомаб мафенатокс, аполизумаб, бавитуксимаб, бектумомаб, белимумаб, бевацизумаб, биватузумаб мертанзин, блинатумомаб, брентуксимаб ведотин, кантузумаб, кантузумаб мертанзин, кантузумаб равтанзин, капромаб пендетид, карлумаб, катумаксомаб, цетуксимаб, цитатузумаб богатокс, циксутумумаб, кливатузумаб тетраксетан, CNTO 328, CNTO 95, конатумумаб, дацетузумаб, далотузумаб, денозумаб, детумомаб, дрозитумаб, экромексимаб, эдреколомаб, элотузумаб,

элсилимомаб, энаватузумаб, энситуксимаб, эпратузумаб, эртумакомаб, эртумакомаб, этарацизумаб, фарлетузумаб, FBTa05, фиклатузумаб, фигитумумаб, фланвотумаб, галиксимаб, ганитумаб, GC1008, гемтузумаб, гемтузумаб озогамидин, гирентуксимаб, глембатумумаб ведотин, GS6624, HuC242-DM4, HuHMFG1, HuN901-DM1, ибритумумаб, икрукумаб, ID09C3, индатуксимаб равтанзин, инотузумаб озогамидин, интетумумаб, ипилимумаб, иратумумаб, лабетузумаб, лексатумумаб, линтузумаб, лорвотузумаб мертанзин, лукатумумаб, лумиликсимаб, мапатумумаб, матузумаб, MDX-060, MEDI 522, митумумаб, могамулизумаб, MORab-003, MORab-009, моксетумумаб пазудотокс, MT103, наколомаб тафенатокс, наптумумаб эстафенатокс, нарнатумаб, нецитумумаб, нимотузумаб, оларатумаб, онартузумаб, опортузумаб монатокс, ореговомаб, PAM4, панитумумаб, патритумаб, пемтумумаб, пертузумаб, притумумаб, ракотумумаб, радретумаб, рамуцирумаб, рилотумумаб, ритуксимаб, робатумумаб, самализумаб, SGN-30, SGN-40, сибротузумаб, силтуксимаб, табалумаб, такатузумаб тетраксетан, таплитумумаб паптокс, тенатумумаб, тепротумумаб, TGN1412, тицилимумаб (= тремелимумаб), тигатузумаб, TNX-650, тозитумумаб, трастузумаб, TRBS07, тремелимумаб, TRU-016, тукотузумаб целмолейкин, ублитуксимаб, урелумаб, велтузумаб, велтузумаб (IMMU-106), волоциксимаб, вотумумаб, WX-G250, залутумумаб и занолимумаб;

из антител, используемых для лечения иммунных нарушений, включающих, в частности, эфализумаб, эпратузумаб, этролизумаб, фонтолизумаб, иксекизумаб, меполизумаб, милатузумаб, смешанные иммуноглобулины, приликсимаб, ритуксимаб, ронтализумаб, руплизумаб, сарилумаб, ведолизумаб, визилизумаб, реслизумаб, адалимумаб, азелизумаб, атинумаб, атлизумаб, бертилимумаб, безилесомаб, BMS-945429, бриакинумаб, бродалумаб, канакинумаб, цертолизумаб пеголь, эрлизумаб, фезакинумаб, голимумаб, гомиликсимаб, инфликсимаб, маврилимумаб, натализумаб, окрелизумаб, одулимумаб, офатумумаб, озорализумаб, пекселизумаб, ровелизумаб, SBI-087, SBI-087, секукинумаб, сирукумаб, тализумаб, тоцилизумаб, торализумаб, TRU-015, TRU-016, устекинумаб, вепалимумаб, золимумаб аритокс, сифалимумаб, лумиликсимаб и иммуноглобулин Rho(D);

из антител, используемых для лечения инфекционных заболеваний, включающих, в частности, афелимомаб, CR6261, эдобакомаб, эфунгумаб, эксбивирумаб, фелвизумаб, форабириумаб, ибализумаб, либивирумаб, мотавизумаб, небакумаб, тувирумаб, уртоксазумаб, бавитуксимаб, пагибаксимаб, паливизумаб, панобакумаб, PRO 140, рафивирумаб, раксибакумаб, регавирумаб, севирумаб, сувизумаб и тефибазумаб;

из антител, используемых для лечения нарушений крови, включающих, в частности, абциксимаб, аторолимумаб, экулизумаб, меполизумаб и милатузумаб;

из антител, используемых для иммунорегуляции, включающих, в частности, антитимоцитарный глобулин, базиликсимаб, цеделизумаб, даклизумаб, гавилимомаб, инолимумаб, муромонаб-CD3, одулимумаб и сиплизумаб;

из антител, используемых для лечения диабета, включающих, в частности, гевокизумаб, отеликсизумаб и теплизумаб;

из антител, используемых для лечения болезни Альцгеймера, включающих, в частности, бапинеузумаб, кренезумаб, гантенерумаб, понезумаб, R1450 и соланезумаб;

из антител, используемых для лечения астмы, включающих, в частности, бенрализумаб, эноклизумаб, келиксимаб, лебрикизумаб, омализумаб, окселумаб, пасколизумаб и тралокинумаб;

и из антител, используемых для лечения смешанных нарушений, включающих, в частности, блосозумаб, CaroRx, фрезолимумаб, фулранумаб, ромосозумаб, стамулумаб,

танезумаб и ранибизумаб.

6. Нуклеиновая кислота по п. 4, где указанный пептид или белок содержит терапевтический белок или его фрагмент, вариант или производное, выбранные из терапевтических белков, используемых для лечения метаболических или эндокринных нарушений, включая кислую сфингомиелиназу, адипотид, бета-агалсидазу, альфглюкозидазу, альфа-галактозидазу А, альфа-глюкозидазу, альфа-L-идуронидазу, альфа-N-ацетилглюкозаминидазу, амфирегулин, ангиопоэтины (Ang1, Ang2, Ang3, Ang4, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6, ANGPTL7), бета-целлулин, бета-глюкуронидазу, костные морфогенетические белки BMP (BMP1, BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8a, BMP8b, BMP10, BMP15), белок CLN6, эпидермальный фактор роста (EGF), эпиген, эпирегулин, фактор роста фибробластов (FGF, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, FGF-16, FGF-17, FGF-18, FGF-19, FGF-20, FGF-21, FGF-22, FGF-23), галсульфазу, грелин, глюкоцереб्रोзидазу, GM-CSF, гепарин-связывающий EGF-подобный фактор роста (HB-EGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), гепцидин, альбумин человека, повышенную потерю альбумина, идурсульфазу (идуронат-2-сульфатаза), интегрины $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ и $\alpha 5\beta 1$, лудуронат-сульфатазу, ларонидазу, N-ацетилгалактозамин-4-сульфатазу (rhASB; галсульфазу, арилсульфатазу А (ARSA), арилсульфатазу В (ARSB)), N-ацетилглюкозамин-6-сульфатазу, фактор роста нервов (NGF, нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга (BDNF), нейротрофин-3 (NT-3) и нейротрофин 4/5 (NT-4/5), нейрорегулин (NRG1, NRG2, NRG3, NRG4), нейропилин (NRP-1, NRP-2), обестатин, тромбоцитарный фактор роста (PDGF (PDFF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D), рецептор бета-TGF (эндоглин, рецептор бета-TGF 1, рецептор бета-TGF 2, рецептор бета-TGF 3), тромбопоэтин (THPO) (фактор роста и развития мегакариоцитов (MGDF)), трансформирующий фактор роста (TGF (TGF-a, бета-TGF (TGFbeta1, TGFbeta2 и TGFbeta3))), VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F и PIGF), незиритид, трипсин, адренкортикотрофический гормон (ACTH), атриал-натриуретический пептид (ANP), холецистокинин, гастрин, лептин, окситоцин, соматостатин, вазопрессин (антидиуретический гормон), кальцитонин, эксенатид, гормон роста (GH), соматотропин, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), мекасермин ринфабат, аналог IGF-1, мекасермин, аналог IGF-1, пегвисомант, прамлинтид, терипаратид (остатки 1-34 паразитовидного гормона человека), бекаплермин, альфа-диботермин (костный морфогенетический белок 2), ацетат гистрелина (гонадолиберин, GnRH), октреотид и палифермин (фактор роста кератиноцитов, KGF);

из терапевтических белков, используемых для лечения нарушений крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, заболеваний дыхательной системы, раковых или опухолевых заболеваний, инфекционных заболеваний или иммунодефицитов, включая альтеплазу (активатор плазминогена ткани, tPA), анистреплазу, антитромбин III (AT-III), бивалирудин, альфа-дарбепоэтин, альфа-дротрекогин (активированный белок C), эритропоэтин, альфа-эпоэтин, фактор IX, фактор VIIa, фактор VIII, лепирудин, концентрат белка C, ретеплазу (делеционный мутеин tPA), стрептокиназу, тенектеплазу, урокиназу, ангиостатин, иммунотоксин против CD22, денилейкин дифтитокс, иммуноцианин, MPS (металлопанстимулин), афлиберцепт, эндостатин, коллагеназу, дезоксирибонуклеазу I человека, дорназу, гиалуронидазу, папаин, L-аспарагиназу, Рег-аспарагиназу, расбуриказу, хорионический гонадотропин человека (HCG), фолликулостимулирующий гормон человека (FSH), альфа-лутропин, пролактин, ингибитор альфа-1-протеиназы, лактазу, ферменты поджелудочной железы (липаза,

амилаза, протеаза), аденозиндеаминазу (бычья пегадемаза, PEG-ADA), абатацепт, алефацепт, анакинру, этанерцепт, антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL-1), тимулин, антагонист альфа-TNF, энфувиртид и тимозина $\alpha 1$;

из терапевтических белков, выбранных из адъювантных или иммуностимулирующих белков, включая адъювантные белки человека, в частности, паттерн-распознающие рецепторы TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11; NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4, NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7, NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, IPAF, NAIP, CIITA, RIG-1, MDA5 и LGP2, трансдукторы сигналов сигнального пути TLR, включающие адапторные белки, включающие, например, Trif и Cardif; компоненты сигнального пути мелких GTPаз (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab и т.д.), компоненты сигнального пути PIP (PI3K, Src-киназы и т.д.), компоненты MyD88-зависимого сигнального пути (MyD88, IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6 и т.д.), компоненты MyD88-независимого сигнального пути (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1, IRAK1 и т.д.); активированные киназы, включающие, например, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7, ERK1, ERK2, GSK3, PKC киназы, PKD киназы, GSK3 киназы, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK и TAK1; активированные факторы транскрипции, включающие, например, NF- κ B, c-Fos, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-1, Elk-1, ATF2, IRF-3, IRF-7, белки теплового шока, такие как HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 и HSP90, gp96, фибриноген, дополнительный домен A повтора TypIII фибронектина; компоненты системы комплемента, включающие C1q, MBL, C1r, C1s, C2b, Bb, D, MASP-1, MASP-2, C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b, C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P и CD59, или индуцированные гены-мишени, включающие, например, бета-дефенсин, белки поверхности клетки; адъювантные белки человека, включающие trif, лиганд flt-3, Gp96 или фибронектин, цитокины, индуцирующие или усиливающие врожденную иммунную реакцию, которые включают альфа-IL-1, бета-IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, альфа-TNF, альфа-IFN, бета-IFN, гамма-IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF; хемокины, включающие IL-8, IP-10, MCP-1, альфа-MIP-1, RANTES, эотаксин, CCL21; цитокины, высвобождаемые из макрофагов, включающие IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 и альфа-TNF, а также IL-1R1 и альфа-IL-1;

из бактериальных (адъювантных) белков, в частности, бактериальных белков теплового шока или белков-компаньонов, включающих Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100; OmpA (белок наружной мембраны) из грамотрицательных бактерий; бактериальные порины, включающие OmpF; бактериальные токсины, включающие коклюшный токсин (PT) из *Bordetella pertussis*, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, мутант PT-9K/129G из коклюшного токсина, аденилатциклазу коклюшного токсина CyaA и CyaC из *Bordetella pertussis*, столбнячный токсин, холерный токсин (СТ), В-субъединицу холерного токсина, мутант СТК63 из холерного токсина, мутант STE112K из СТ, термолабильный энтеротоксин (LT) *Escherichia coli*, В-субъединицу из термолабильного энтеротоксина (LTB), мутанты термолабильного энтеротоксина *Escherichia coli* с уменьшенной токсичностью, включая LTK63, LTR72; модулин, растворимый в феноле; нейтрофил-активирующий белок (HP-NAP) из *Helicobacter pylori*, поверхностно-активный белок D; липопроtein наружного белка A из *Borrelia burgdorferi*, Ag38 (антиген длиной 38 кДа) из *Mycobacterium tuberculosis*, белки из бактериальной фимбрии; энтеротоксин СТ из *Vibrio cholerae*, пилин из пили грамотрицательных бактерий, поверхностно-активный белок A и бактериальные флагеллины;

из (адъювантных) белков простейших, включающих, в частности, Tc52 из *Trypanosoma*

- cruzi, PFTG из *Trypanosoma gondii*, белки теплового шока простейших, LeIF из *Leishmania spp.*, профилирующий белок из *Toxoplasma gondii*, вирусные (адьювантные) белки, в частности, гибридный гликопротеин респираторно-синцитиального вируса (F-протеин), белок оболочки вируса ММТ, белок вируса мышинного лейкоза, белок гемагглютинаина
- 5 вируса кори дикого типа, грибные (адьювантные) белки, в частности, грибной иммуномодулирующий белок (FIP, LZ-8) и гемоцианин лимфы улитки (KLH), OspA;
- из терапевтических белков, используемых для гормонозаместительной терапии, включающих, в частности, эстрогены, прогестерон или прогестины и тестостерон;
- из терапевтических белков, используемых для перепрограммирования соматических
- 10 клеток в плюри- или омнипотентные стволовые клетки, включающие, в частности, Oct-3/4, семейство Sox генов (Sox1, Sox2, Sox3 и Sox15), семейство Klf (Klf1, Klf2, Klf4 и Klf5), семейство Мус (с-мус, L-мус и N-мус), Nanog и LIN28;
- из терапевтических белков, выбранных из антител, используемых для лечения раковых или опухолевых заболеваний, включающих, в частности, 131I-тозитумаб, 3F8, 8H9,
- 15 абагоумаб, адекватумаб, афутуумаб, алацизумаб пеголь, алемтузумаб, аматуксимаб, АМЕ-133v, AMG 102, анатумаб мафенатокс, аполизумаб, бавитуксимаб, бектумаб, белимуаб, бевализумаб, биватузумаб мертанзин, блинатумаб, брентуксимаб ведотин, кантузумаб, кантузумаб мертанзин, кантузумаб равтанзин, капромаб пендетид, карлумаб, катумаксомаб, цетуксимаб, цитатузумаб богатокс, циксутумаб,
- 20 кливатузумаб тетраксетан, CNTO 328, CNTO 95, конатумаб, дацетузумаб, далотузумаб, денозумаб, детумаб, дрозитуаб, экромексимаб, эдреколомаб, элотузумаб, элсилимомаб, энаватузумаб, энситуксимаб, эпратузумаб, эртумамаксомаб, эртумамаксомаб, этарализумаб, фарлетузумаб, FBTA05, фиклатузумаб, фигитумаб, фланвотумаб, галиксимаб, ганитумаб, GC1008, гемтузумаб, гемтузумаб озогамидин, гирентуксимаб,
- 25 глембатумаб ведотин, GS6624, HuC242-DM4, HuNMFG1, HuN901-DM1, ибритумаб, икрукумаб, ID09C3, индатуксимаб равтанзин, инотузумаб озогамидин, интетумаб, ипилимуаб, иратумаб, лабетузумаб, лексатумаб, линтузумаб, лорвотузумаб мертанзин, лукатумаб, лумиликсимаб, мапатумаб, матузумаб, MDX-060, MEDI 522, митумаб, могамулизумаб, MORab-003, MORab-009, моксетумаб пазудотокс,
- 30 МТ103, наколомаб тафенатокс, наптумаб эстафенатокс, нарнумаб, нецитумаб, нимотузумаб, оларатумаб, онартузумаб, опортузумаб монатокс, ореговомаб, РАМ4, панитумаб, патритумаб, пемтумаб, пертузумаб, притумаб, ракотумаб, радретумаб, рамуцирумаб, рилотумаб, ритуксимаб, робатумаб, самализумаб, SGN-30, SGN-40, сибротузумаб, силтуксимаб, табалумаб, такатузумаб тетраксетан,
- 35 таплитумаб паптокс, тенатумаб, тепротумаб, TGN1412, тицилимуаб (= тремелимуаб), тигатузумаб, TNX-650, тозитумаб, трастузумаб, TRBS07, тремелимуаб, TRU-016, тукотузумаб целмолейкин, ублитуксимаб, урелумаб, велтузумаб, велтузумаб (IMMU-106), волоциксимаб, вотумаб, WX-G250, залутумаб и занолимуаб;
- 40 из антител, используемых для лечения иммунных нарушений, включающих, в частности, эфализумаб, эпратузумаб, этролизумаб, фонтолизумаб, иксекизумаб, меполизумаб, милатузумаб, смешанные иммуноглобулины, приликсимаб, ритуксимаб, ронтализумаб, руплизумаб, сарилумаб, ведализумаб, визилизумаб, реслизумаб, адалимуаб, азелизумаб, атинумаб, атлизумаб, бертилимуаб, безилесомаб, BMS-
- 45 945429, бриакинумаб, бродалумаб, канакинумаб, цертолизумаб пеголь, эрлизумаб, фезакинумаб, голимуаб, гомиликсимаб, инфликсимаб, маврилимуаб, натализумаб, окрелизумаб, одулимомаб, офатумаб, озорализумаб, пекселизумаб, ровелизумаб, SBI-087, SBI-087, секукинумаб, сирукумаб, тализумаб, тоцилизумаб, торализумаб, TRU-

015, TRU-016, устекинумаб, вепалимомаб, золимомаб аритокс, сифалимунаб, лумиликсимаб и иммуноглобулин Rho(D);

из антител, используемых для лечения инфекционных заболеваний, включающих, в частности, афелимомаб, CR6261, эдобакомаб, эфунгунаб, эксбивирумаб, фелвизумаб, форапавирумаб, ибализумаб, либивирумаб, мотавизумаб, небакумаб, тувирумаб, уртоксазумаб, бавитуксимаб, пагибаксимаб, паливизумаб, панобакумаб, PRO 140, рафивирумаб, раксибакумаб, регавирумаб, севирумаб, сувизумаб и тефибазумаб;

из антител, используемых для лечения нарушений крови, включающих, в частности, абциксимаб, аторолимумаб, экулизумаб, меполизумаб и милатузумаб;

из антител, используемых для иммунорегуляции, включающих, в частности, антитимоцитарный глобулин, базиликсимаб, цеделизумаб, даклизумаб, гавилимомаб, инолимомаб, муромонаб-CD3, одулимомаб и сиплизумаб;

из антител, используемых для лечения диабета, включающих, в частности, гевокизумаб, отеликсизумаб и теплизумаб;

из антител, используемых для лечения болезни Альцгеймера, включающих, в частности, бапинеузумаб, кренезумаб, гантенерумаб, понезумаб, R1450 и соланезумаб;

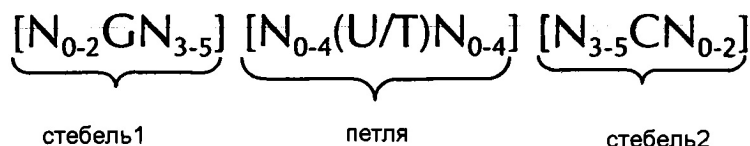
из антител, используемых для лечения астмы, включающих, в частности, бенрализумаб, эноклизумаб, келиксимаб, лебрикизумаб, омализумаб, окселумаб, пасколизумаб и тралокинумаб;

и из антител, используемых для лечения смешанных нарушений, включающих, в частности, блосозумаб, CaroRx, фрезолимумаб, фулранумаб, ромосозумаб, стамулунаб, танезумаб и ранибизумаб.

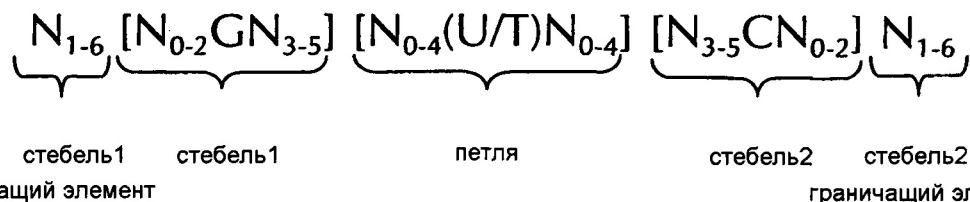
7. Нуклеиновая кислота по п. 1, где нуклеиновая кислота представляет собой РНК, предпочтительно, мРНК.

8. Нуклеиновая кислота по п. 1 или 7, где по меньшей мере одна структура "стебель-петля" гистонов выбрана из следующих формул (I) или (II):

формула (I) (последовательность структуры "стебель-петля" без граничащих со стеблем элементов):



формула (II) (последовательность структуры "стебель-петля" с граничащими со стеблем элементами):



где:

граничащие со стеблем1 или стеблем2 элементы N_{1-6} представляют собой непрерывные последовательности из N в количестве от 1 до 6, предпочтительно, от 2 до 6, более предпочтительно, от 2 до 5, еще более предпочтительно, от 3 до 5, наиболее предпочтительно, от 4 до 5 или 5, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов;

стебель1 $[N_{0-2}GN_{3-5}]$ является обратно комплементарным или частично обратно комплементарным с элементом стебель2 и представляет собой непрерывную

последовательность длиной от 5 до 7 нуклеотидов;

где N_{0-2} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 0 до 2, предпочтительно, от 0 до 1, более предпочтительно, 1, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов;

где N_{3-5} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 3 до 5, предпочтительно, от 4 до 5, более предпочтительно, 4, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов, и

где G представляет собой гуанозин или его аналог и необязательно может быть замещен цитидином или его аналогом, при условии, что комплементарный ему нуклеотид цитидин в стебле2 замещен гуанозином;

последовательность петли $[N_{0-4}(U/T)N_{0-4}]$ расположена между элементами стебель1 и стебель2, и представляет собой непрерывную последовательность из нуклеотидов в количестве от 3 до 5, более предпочтительно, из 4 нуклеотидов;

где каждая N_{0-4} не зависит от другой непрерывной последовательности из N в количестве от 0 до 4, предпочтительно, от 1 до 3, более предпочтительно, от 1 до 2, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов; и

где U/T представляет собой уридин или необязательно тимидин;

стебель2 $[N_{3-5}CN_{0-2}]$ является обратно комплементарным или частично обратно комплементарным с элементом стебель1 и представляет собой непрерывную последовательность из нуклеотидов в количестве от 5 до 7;

где N_{3-5} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 3 до 5, предпочтительно, от 4 до 5, более предпочтительно, 4, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов;

где N_{0-2} представляет собой непрерывную последовательность из N в количестве от 0 до 2, предпочтительно, от 0 до 1, более предпочтительно, 1, где каждый N независимо от другого выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C или аналогов этих нуклеотидов; и

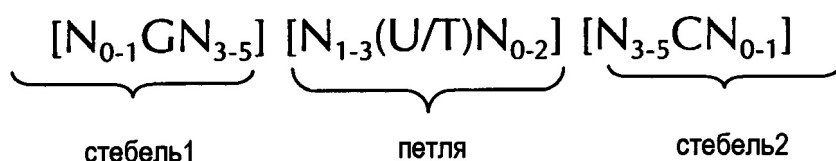
где C представляет собой цитидин или его аналог и необязательно может быть замещен гуанозином или его аналогом при условии, что комплементарный ему нуклеотид гуанозин в стебле1 замещен цитидином;

где

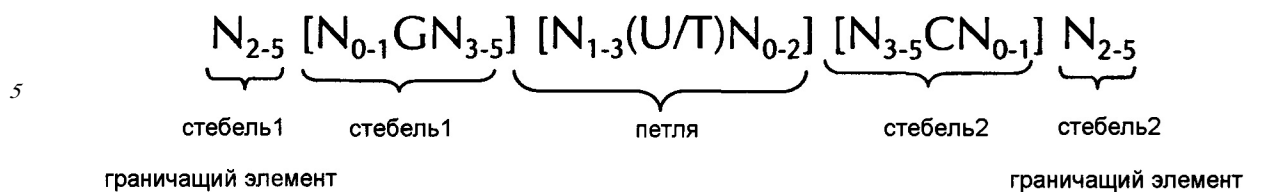
стебель1 и стебель2 способны к спариванию оснований друг с другом с формированием обратно комплементарной последовательности, где спаривание оснований может происходить между стеблем1 и стеблем2, или

с формированием частично обратно комплементарной последовательности, где между стеблем1 и стеблем2 может происходить неполное спаривание оснований.

9. Нуклеиновая кислота по п. 8, где по меньшей мере одна структура "стебель-петля" гистонов выбрана по меньшей мере из одной из следующих формул (Ia) или (IIa):



формула (Ia) (последовательность структуры "стебель-петля" без граничащих со стеблем элементов)



формула (IIa) (последовательность структуры "стебель-петля" с граничащими со стеблем элементами).

10 Нуклеиновая кислота по п. 1, где последовательность поли (А) содержит последовательность длиной приблизительно от 25 до приблизительно 400 аденозиновых нуклеотидов, предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 50 до приблизительно 400 аденозиновых нуклеотидов, более предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 50 до приблизительно 300 аденозиновых нуклеотидов, еще более предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 50 до приблизительно 250 аденозиновых нуклеотидов, наиболее предпочтительно, последовательность длиной приблизительно от 60 до приблизительно 250 аденозиновых нуклеотидов.

20 11. Нуклеиновая кислота по п. 1 или 10, где сигнал полиаденилирования содержит консенсусную последовательность NN(U/T)ANA, предпочтительно, AA(U/T)AAA или A(U/T)(U/T)AAA.

12. Нуклеиновая кислота по п. 1, где последовательность нуклеиновой кислоты представляет собой модифицированную нуклеиновую кислоту, в частности, стабилизированную нуклеиновую кислоту.

13. Нуклеиновая кислота по п. 12, где содержание G/C кодирующей области, кодирующей по меньшей мере один пептид или белок, указанной модифицированной нуклеиновой кислоты увеличено по сравнению с содержанием G/C кодирующей области нуклеиновой кислоты дикого типа, где кодируемая указанной модифицированной нуклеиновой кислотой аминокислотная последовательность, предпочтительно, не является модифицированной по сравнению с аминокислотной последовательностью, кодируемой нуклеиновой кислотой дикого типа.

14. Набор для использования в качестве лекарственного средства в генной терапии, содержащий множество или более одной последовательности нуклеиновой кислоты, каждая по любому из пп. 1-13.

15. Фармацевтическая композиция для использования в генной терапии, содержащая нуклеиновую кислоту по любому из пп. 1-13 в эффективном количестве и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель.

16. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 1-13 для применения в качестве лекарственного средства.

17. Композиция по п. 15 для применения в качестве лекарственного средства.

18. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 1-13 для применения в генной терапии.

19. Применение последовательности нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-13 или набора по п. 14 или композиции по п. 15 для повышения экспрессии указанного кодируемого пептида или белка.

20. Применение последовательности нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-13 или набора по п. 14 или композиции по п. 15 для повышения экспрессии указанного кодируемого пептида или белка в генной терапии.

21. Способ повышения экспрессии кодируемого пептида или белка, включающий стадии:

а) получения последовательности нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-13 или композиции по п. 15;

5 б) применения или введения последовательности нуклеиновой кислоты или композиции в бесклеточную экспрессирующую систему, клетку, ткань или организм.

10

15

20

25

30

35

40

45

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> CUREVAC GMBH
 <120> НУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА, СОДЕРЖАЩАЯ ИЛИ КОДИРУЮЩАЯ СТРУКТУРУ
 "СТЕБЕЛЬ-ПЕТЛЯ" ГИСТОНОВ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПОЛИ(А) ИЛИ
 СИГНАЛ ПОЛИАДЕНИЛИРОВАНИЯ, ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ
 КОДИРУЕМОГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО БЕЛКА
 <130> CU01P130WO
 <140> PCT/EP2012/000671
 <141> 2012-02-15
 <160> 58
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 16
 <212> РНК
 <213> искусственная
 <220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (Ic):
 консенсусная последовательность структуры «стебель-петля» гистонов
 многоклеточных и простейших без граничащих со стеблем элементов
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(8)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(14)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов
 <400> 1
 ngnnnnnnnnnn nnnncn 16
 <210> 2
 <211> 26
 <212> РНК
 <213> искусственная
 <220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (IIc):

консенсусная

последовательность структуры «стебель-петля» гистонов многоклеточных
и простейших с граничащими со стеблем элементами

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(6)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(13)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(19)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(26)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 2
nnnnnnngnnn nnnunnnnnnc nnnnnn

26

<210> 3
<211> 16
<212> RNK
<213> искусственная

<220>
<223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (Id): без
граничащих
со стеблем элементов

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(8)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(14)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature

<222> (16)..(16)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 3
 ncnnnnnnnun nnnngn 16

<210> 4
 <211> 26
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (IId):
 с граничащими со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(6)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(13)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(19)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (21)..(26)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 4
 nnnnnnnnnnn nnnnnnnng nnnnnn 26

<210> 5
 <211> 16
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (Ie):
 консенсусная последовательность структуры "стебель-петля"
 гистонов простейших без граничащих со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(8)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>

<221> misc_feature
 <222> (10)..(14)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 5
 dgnnnnnnnnun nnnnch 16

<210> 6
 <211> 26
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (Ile):
 консенсусная последовательность структуры "стебель-петля"
 гистонов простейших с граничащими со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(13)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(19)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(26)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 6
 nnnnndggnnn nnnunnnnnnc hnnnnn 26

<210> 7
 <211> 16
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (If):
 консенсусная
 последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 многоклеточных без граничащих со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,

или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(8)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 7
 ngnbyynnun vndncn

16

<210> 8
 <211> 26
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (IIf):
 консенсусная
 последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 многоклеточных с граничащими со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(6)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,

или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(13)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (21)..(26)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 8
 nnnnnngnby ynnunvndnc nnnnnn

26

<210> 9
 <211> 16
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (Ig):
 консенсусная
 последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
 позвоночных без граничащих со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C,

или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 9
nghyydnuh abrdcn 16

<210> 10
<211> 26
<212> РНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (IIg):
консенсусная
последовательность структуры "стебель-петля" гистонов
позвоночных с граничащими со стеблем элементами

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(6)
<223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(25)
<223> п выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 10
nnhnnnghyy ydnuhabrdc nnnnnh 26

<210> 11
<211> 16
<212> РНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (Ih):
консенсусная
последовательность структуры "стебель-петля" гистонов человека
(*Homo sapiens*) без граничащих со стеблем элементами

<400> 11
dghycudyuh asrrcc 16

<210> 12
<211> 26

<212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность структуры «стебель-петля» гистонов (IIh):
 консенсусная
 последовательность структуры "стебель-петля" гистонов человека
 (*Homo sapiens*) с граничащими со стеблем элементами

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 12
 nhaahdghyc udyuhasrrc cvhbnh 26

<210> 13
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих
 со стеблем элементами) по формуле (Ic)

<400> 13
 vgyyyhhth rvvrcb 16

<210> 14
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих
 со стеблем элементами) по формуле (Ic)

<400> 14
 sgyyyttytm arrrcs 16

<210> 15
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих
 со стеблем элементами) по формуле (Ic)

<400> 15
sgyyctttttm agrrcs

16

<210> 16
<211> 16
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ie)

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(8)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(14)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C, или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 16
dgnnnbnnth vnnch

16

<210> 17
<211> 16
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ie)

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(14)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из A, U, T, G и C, или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 17
rgnnnyhbth rdnncy

16

<210> 18
<211> 16

10

<212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ie)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 18
 rgndbyhyth rdhncy 16

<210> 19
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (If)

<400> 19
 vgyyytyhth rvrrcb 16

<210> 20
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (If)

<400> 20
 sgyycttytm agrrcs 16

<210> 21
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (If)

<400> 21
 sgyycttttm agrrcs 16

<210> 22
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ig)

<400> 22
 ggyuucttyth agrcc 16

<210> 23
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ig)

<400> 23
 ggcuycttytm agrgcc 16

<210> 24
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ig)

<400> 24
 ggctcttttm agrgcc 16

<210> 25
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ih)

<400> 25
 dghyctdyth asrrcc 16

<210> 26
 <211> 16
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>

<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ih)

<400> 26
ggcyctttth agrgcc 16

<210> 27
<211> 16
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (без граничащих со стеблем элементами) по формуле (Ih)

<400> 27
ggcycttttm agrgcc 16

<210> 28
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIc)

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 28
hhhhvvgyyy yhhthrvvrc bvhnnn 26

<210> 29
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIc)

<400> 29
mhmhmsgyyy ttytmarrrc smchhh 26

<210> 30
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>

13

<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIc)

<400> 30
mmmmmsggycc tttttagrrc sachmh

26

<210> 31
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIe)

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(10)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(13)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(19)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 31
nnnnndgnnn bnnthvnnnc hnhnnn

26

<210> 32
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIe)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(10)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(19)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(26)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 32
 nnhhnrgnnn yhbthrdnnc ydhnnn

26

<210> 33
 <211> 26
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIe)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)

15

<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 33
nhhhvrgndb yhythrdhnc yrhhhh 26

<210> 34
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>

<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
со стеблем элементами) по формуле (IIIf)

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 34
hhmhmvgyyy tythrvrrc bvmhnh 26

<210> 35
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>

<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
со стеблем элементами) по формуле (IIIf)

<400> 35
mmmmmsgyyc ttytmgrrc smchhh 26

<210> 36
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>

<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
со стеблем элементами) по формуле (IIIf)

<400> 36
mmmmmsgyyc ttttmgrrc sachmh 26

<210> 37
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>

<223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
со стеблем элементами) по формуле (IIIf)

16

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (24)..(25)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 37
 hhmamgggyc ttythagrrc cvhnnm 26

<210> 38
 <211> 26
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
 со стеблем элементами) по формуле (IIg)

<400> 38
 hhaamggcyc ttytmagrgc cvchhm 26

<210> 39
 <211> 26
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
 со стеблем элементами) по формуле (IIg)

<400> 39
 mmaamggctc ttttmagrgc смсymm 26

<210> 40
 <211> 26
 <212> ДНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательности структуры «стебель-петля» гистонов (с граничащими
 со стеблем элементами) по формуле (IIh)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, U, Т, G и С,
 или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 40
 nhaahdghyc tdythasrrc cvhbnh 26

<210> 41
 <211> 26

<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» тистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIh)

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> n выбран из нуклеотидов, выбранных из А, У, Т, Г и С, или из аналогов этих нуклеотидов

<400> 41
hhaamggcyc tttthagrgc cvmynm 26

<210> 42
<211> 26
<212> ДНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательности структуры «стебель-петля» тистонов (с граничащими со стеблем элементами) по формуле (IIh)

<400> 42
hmaaaggcyc tttttagrgc crmyhm 26

<210> 43
<211> 1747
<212> РНК
<213> искусственная

<220>
<223> последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag

<400> 43
gggagaaaagc uugaggaugc aggacgcca gaacaucagc aaggggcccg cgcccuucua 60
cccgugugag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaac gguacgcccu 120
ggugccgggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc ccuacgcgga 180
guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguaacggcc ugaacacca 240
ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc ucaugccgg ugcugggcg 300
ccucucauc ggcgugggcg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
gauccugaac gucgagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg 540
cuucaacgag uacgacuucg ucccgagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc 660
cugcgugcg uucucgcacg ccggggaccc caucuucggc aaccagauc uccgggacac 720

18

cgccaauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccuuggggcua 780
 ccucaucugc ggcuuuccggg ugguccugau guaccggauu gaggaggagc uguuccugcg 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugug ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg agguggggcga ggcgguggcc aagcgguucc accuccgggg 1020
 cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cagcagcggc auccugauca cccccgaggg 1080
 ggacgacaag cggggcgccg ugggcaaggu ggucccgauu uucgaggcca agguggugga 1140
 ccuggacacc ggcaagaccc uggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc 1200
 gaugaucaug agcgguacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcugggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa ggcuaaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug succagcacc ccaacaucuu cgacgcccgc guggccggggc ugccggacga 1440
 cgacgcccgc gagcugccgg ccgcgugguu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg 1560
 cgugguguuu guggacgag ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaua 1680
 agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua 1740
 auagauc 1747

<210> 44

<211> 1806

<212> РНК

<213> искусственная

<220>

<223> последовательность мРНК ppLuc (GC) -ag-A64

<400> 44

gggagaaaag uugaggauug aggacgcca gaacaucagg aagggccccg cgcccuucua 60
 cccgucggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacggccu 120
 ggugccgggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcg 300
 ccucuuauc ggcgugggcg ugcggccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggauacgcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg 540

19

cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaaggggug gcccugccgc accggaccgc 660
 cugcgugcgc uuucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac 720
 cgccauccug agcgugugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccuggggcu 780
 ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccuggu ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugcgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg agggggcgga ggccguggcc aagcgggucc accuccggg 1020
 cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg 1080
 ggacgacaag ccggcgcccg ugggcaaggu ggucccgguu uucgaggcca agggugugga 1140
 ccuggacacc ggcaagacc ugggugugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggcc 1200
 gaugaucaug agcgguacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcugcgug cacagcgcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa ggguaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug succagcacc ccaacauuu cgacgccgcg guggccgggc ugccggacga 1440
 cgacgccgcg gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg 1560
 cgugguguuu guggacgag ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaauaagg ccaagaagg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaua 1680
 agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggccuccuc cccuccuugc accgagauua 1740
 auaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaa 1806

<210> 45

<211> 1772

<212> PHK

<213> искусственная

<220>

<223> последовательность МРНК ppLuc(GC)-ag-histoneSL

<400> 45

gggagaaagc uugaggauug aggacgcaa gaacauaag aagggcccgg cgcccuucua 60
 cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc 120
 ggugccgggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcg 300

20

ccucucauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccgagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc 660
 cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccgacac 720
 cgccaucug agcguugguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua 780
 ccucaucugc ggcuuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugc 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugc ucagcuucu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg agguuggcga ggcguggcc aagcgguucc accuccggg 1020
 cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccgaggg 1080
 ggacgacaag ccgggcgcgc ugggcaaggu ggucccguc uucgaggcca agguugggga 1140
 ccuggacacc ggcaagaccc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc 1200
 gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug succagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga 1440
 cgacgccggc gagcugccgg ccggcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggggc 1560
 cgugguguuu guggacgagg ucccgagggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucsaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaua 1680
 agacugacua gcccgauggg ccucccaacg gggccuccuc cccuccuugc accgagaaua 1740
 auagaucua aaggcucuuu ucagagccac ca 1772

<210> 46

<211> 1835

<212> РНК

<213> искусственная

<220>

<223> последовательность мРНК ppLuc(GC)-ag-A64-histoneSL

<400> 46

gggagaaaagc uugaggaugg aggacgcaa gaacaucagg aaggggcccg cggccuucua 60
 ccccguggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacggccu 120

21

```

ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga      180
guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa      240
ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcgc      300
ccucuaucau ggcgugggccg ugcggccggc gaacgacaua uacaacgagc gggagcugcu      360
gaacagcaug gggauacgac agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa      420
gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa      480
gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggccgg      540
cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ugcggcugau      600
caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc      660
cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac      720
cgccauccug agcguugugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcua      780
ccucaucugc ggcuuuccggg ugguccugau guaccggauu gaggaggagc uguuccugcg      840
gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugug ucagcuucuu      900
cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ugcgacggg      960
gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggcgugggcc aagcggaucc accuccggg      1020
cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg      1080
ggacgacaag cggggcgccg ugggcaaggu ggucccgauu uucgaggcca agguggugga      1140
ccuggacacc ggcaagacc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc      1200
gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga      1260
cggcugggcug cacagcgcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuuauucgu      1320
cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga      1380
gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugcgggacga      1440
cgacgccggc gagcugccgg ccgcgguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga      1500
gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg      1560
cguggugauu guggacgag ucccgaagg gccugaccgg aagcucgacg cccggaagau      1620
ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggcaagau gccguguaag acuaguuaa      1680
agacugacua gcccgaugg ccuccaacc gggccuccc cccuccuugc accgagaua      1740
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      1800
aaaaaauca ucaaaggcuc uuucagagc cacca      1835

```

```

<210> 47
<211> 1869
<212> РНК
<213> искусственная

```

<220>

<223> последовательность МРНК ppLuc (GC) -ag-A120

<400> 47

```

gggagaaaagc uugaggaugg aggacgcca gaacaucagg aaggggcccg cgcccuucua      60
cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu      120
ggugccgggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga      180
guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggc ugaacaccaa      240
ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcg      300
ccucuucauc ggcgugggcg ugcggcgcc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu      360
gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa      420
gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa      480
gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg      540
cuucaacgag uacgacuucg ucccgagag cuucgaccgg gacaagacca ugcggcgau      600
caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc      660
cugcgugcgcg uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca uccggacac      720
cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua      780
ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccggau gaggaggagc uguuccugcg      840
gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcugug ccgaccugug ucagcuucuu      900
cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg      960
ggcgccccc cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcgguucc accuccggg      1020
cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccgaggg      1080
ggacgacaag ccggcgcccg ugggcaaggu ggucccguc uucgaggcca agguggugga      1140
ccuggacacc ggcaagacc uggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc      1200
gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacggccuca ucgacaagga      1260
cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu      1320
cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa ggguaccag guggcgccgg ccgagcugga      1380
gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugcgggacga      1440
cgacgccggc gagcugccgg ccggguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga      1500
gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaugaagc ugcggggcg      1560
cgugguguuu guggacgag uccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau      1620
ccgcgagauc cugaucagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguaua      1680
agacugacua gcccgaugg ccucccaacg ggccuccuc cccuccuugc accgagaua      1740
auagaucuaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa      1800

```

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860
 aaaaaaaaaa 1869

<210> 48
 <211> 1858
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность мРНК ppLuc (GC) -ag-A64-ag

<400> 48
 gggagaaaagc uugaggauagg agggacgcca gaacaucagg aaggggcccg cggccuucua 60
 cccgcugagg gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgcccu 120
 ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcgc 300
 ccucuuauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gucgagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac caggguuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggccgg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc 660
 cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauc ucccggacac 720
 cgccauccug agcguagguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcua 780
 ccuauucgc ggcuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugcu ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccugggc aagcgggucc accuccggg 1020
 cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccgaggg 1080
 ggacgacaag ccggcgcccg ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggugga 1140
 ccugacaccc ggcaagacc ugggcugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggccc 1200
 gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcuggcug cacagcgcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuuauucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgcccg ccgagcugga 1380
 gagcauccug succagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga 1440
 cgacgccggc gagcugcccg ccgcgguggu ggugcuggag cagggaaga ccaugacgga 1500

24

gaaggagauC gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg 1560
 cgugguguuc guggacgagg ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauC cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa 1680
 agacugacua gcccgauagg ccucccaacg ggccuccuc cccuccuugc accgagauua 1740
 auaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaugca uccugcccga ugggcccucc aacgggccc ucccccucc uugcaccg 1858

<210> 49
 <211> 1894
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность мРНК ppLuc (GC) -ag-A64-aCPSL

<400> 49
 gggagaaagc uugaggaugg aggcagccaa gaacaucaag aaggggcccg gccccuucua 60
 cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc 120
 ggugccgggc acgaucgccc ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugcccg ugcugggcg 300
 ccuciucauc ggcgugggcg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggaucaagg agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gucgagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgcggg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc 660
 cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac 720
 cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua 780
 ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugc 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugug ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgcccagcg 960
 gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcgggucc accuccggg 1020
 cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cagcagcgcg auccugauca ccccagagg 1080
 ggacgacaag ccgggcgccc ugggcaaggu ggucccguc uucgaggcca aggugggga 1140
 ccuggacacc ggcaagaccc ugggcuugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggc 1200
 gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagg 1260

25

cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug succagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga 1440
 cgacgccggc gagcugccgg ccgcgguugu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcgg 1560
 cgugguguuc guggacgagg ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuuaa 1680
 agacugacua gcccgauggg ccuccaaccg ggcccuccuc cccuccuugc accgagaaua 1740
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaugca ucaauuccua cagcugaggc gcugugauuc ccuaucggcg uucauucccu 1860
 auacauuagc acagcgccau ugcauguagg aauu 1894

<210> 50

<211> 1909

<212> РНК

<213> искусственная

<220>

<223> последовательность мРНК ppLuc(GC) -ag-A64-PolioCL

<400> 50

gggagaaaagc uugaggaugg aggacgccaa gaacaucaag aaggggccgg cgcccuucua 60
 cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacggccu 120
 ggugccgggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc cuuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg 300
 ccucuuauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggaucaagg agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucaua uggacagcaa 480
 gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc uccgcccggg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc 660
 cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauc ucccggacac 720
 cgccauccug agcguuggug cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcua 780
 ccucaucugc ggcuuuccgg ugguccugau guaccggguu gaggaggagc uguuccugcg 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccuggu ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960

26

gggcgccccg cugagcaagg agguugggga gggcguggcc aagcgguucc accucccggg 1020
 cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgaggg 1080
 ggacgacaag ccggggcgccg ugggcaaggu ggucccgguu uucgaggcca agguuggugga 1140
 ccuggacacc ggcaagaccg ugggugugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggcc 1200
 gaugaucaug agcgguuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcugggcug cacagcgggc acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggcgccggc ugccggacga 1440
 cgacgccggc gagcugccgg ccgcgguugu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg 1560
 cgugguguuuc guggacgagg ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagau gccguguaag acuaguuaa 1680
 agacugacua gcccgauagg ccucccaacg ggccuccuc cccuccuugc accgagaua 1740
 auaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaugca ucaauucuaa aacagcucug ggguuguacc caccacagag gccacgugg 1860
 cggcuaguac uccgguauug cgguaaccuu guacgccugu uuuaagaau 1909

<210> 51
 <211> 1841
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность мРНК pPLuc(GC)-ag-A64-G30

<400> 51
 gggagaaagc uugaggaugg aggagccaa gaacaucaag aaggggcccg cggccuucua 60
 cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc 120
 ggugccgggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacauagag gucgacauc cuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg 300
 ccucuuauc gggcugggcg ugcggggcg gaacgacau uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggauagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gucgagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac caggguuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccgagag cuucgaccgg gacaagacca ugcggcgau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gcccgccgc accggaccgc 660

27

cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac 720
 cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccuggggcu 780
 ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgacccugu ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg agguugggca gggcguggcc aagcgguucc accucccggg 1020
 cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgaggg 1080
 ggacgacaag cggggcgccg ugggcaaggu ggucccgaucc uucgaggcca agguugggga 1140
 ccuggacacc ggcaagacc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc 1200
 gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcugggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgcggcg guggcgggcg ugcgggacga 1440
 cgacgcggcg gagcugccgg ccgcgugguu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg 1560
 cguggguguu guggacgagg ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa 1680
 agacugacua gcccgauggg ccucccaacg gggccuccuc cccuccuugc accgagauua 1740
 auaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaugca uggggggggg gggggggggg gggggggggg g 1841

<210> 52

<211> 1841

<212> PHK

<213> искусственная

<220>

<223> последовательность мРНК pPLuc (GC) -ag-A64-U30

<400> 52

gggagaaagc uugaggaugg aggacgcaa gaacaucaag aaggggcccg cggccuucua 60
 cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacggccu 120
 ggugccggcg acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccugggcga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg 300
 ccucuucauc gggcugggcg ugcggccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggaucaagg agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420

gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg	540
cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
caugaacagc agcggcgagca ccggccugcc gaagggggug gcccugccgc accggaccgc	660
cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
cgccauccug agcguugguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcua	780
ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugc ucagcuucu	900
cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
gggcgccccg cugagcaagg agguugggca ggccguggcc aagcgguucc accuccggg	1020
cauccgccag ggcuaccggc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccgaggg	1080
ggacgacaag ccgggcgcgc ugggcaaggu ggucccgucc uucgaggcca agguugggga	1140
ccuggacacc ggcaagacc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggccc	1200
gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa ggguaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
gagcauccug cuccagcacc ccaacauuu cgacgcgggc guggccgggc ugccggacga	1440
cgacgcgggc gagcugccgg ccgcgguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcgg	1560
cgugguguuu guggacgagg ucccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua	1740
auaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
aaaaaavgca uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu u	1841

<210> 53

<211> 1857

<212> РНК

<213> искусственная

<220>

<223> последовательность мРНК ppLuc (GC) -ag-A64-SL

<400> 53

gggagaaaagc uugaggaugg aggacgcca gaacaucagg aaggggcccg cggccuucua	60
cccguggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc	120
ggugccgggc acgaucgscu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga	180

guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg 300
 ccucuuauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggauacagc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac cagggcuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggccgg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaaggggggug gccugccgc accggaccgc 660
 cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauc ucccggacac 720
 cgccauccug agcgugggug cguuccacca cggcuucggc auguacaga ccuggggcu 780
 ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccggguu gaggaggagc uguuccugc 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugcu ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggcgugggcc aagcgguucc accuccggg 1020
 cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg 1080
 ggacgacaag ccgggcgcgc ugggcaaggu ggucccgguu uucgaggcca agguggugga 1140
 ccuggacacc ggcaagacc uggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggccc 1200
 gaugaucaug agcggcuacg ugaacaacc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcugggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgcccgc guggccgggc ugccggacga 1440
 cgacgcccgc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcg 1560
 cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucagg ccaagaagg cggcaagau gccguguaag acuaguuua 1680
 agacugacua gcccgauggg ccucccaacg gggccuccuc cccuccuugc accgagauua 1740
 auaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaugca uuauggcggc cguguccacc acggauauca ccguggugga cgcggcc 1857

<210> 54

<211> 1838

<212> РНК

<213> искусственная

<220>

<223> ppLuc (GC) -ag-A64-N32

<400> 54
 gggagaaagc uugaggauagg agggacgcaa gaacaucaag aaggggcccgg cggccuucua 60
 cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc 120
 ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga 180
 guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cggua'cggcc ugaacaccaa 240
 ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg 300
 ccucuuauc ggcgugggcg ucgcccggc gaacgacau uacaacgagc gggagcugcu 360
 gaacagcaug gggauacgc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa 420
 gauccugaac gucgagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa 480
 gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgcgggg 540
 cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau 600
 caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccucggcg accggaccgc 660
 cugcgugcg uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac 720
 cgccauccug agcugggugc cguuccacca cggcuucggc auguacaga ccuggggcu 780
 ccucaucugc ggcuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg 840
 gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcugcug ccgaccugcu ucagcuucuu 900
 cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg 960
 gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcggguucc accuccgggg 1020
 cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cagcagcgcg auccugauca ccccgagggg 1080
 ggacgacaag ccgggcggcg ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggguga 1140
 ccuggacacc ggcaagacc uggggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggccc 1200
 gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga 1260
 cggcugggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuuauccgu 1320
 cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa ggguaccag guggcgccgg ccgagcugga 1380
 gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgcccgc guggccgggc ugccggacga 1440
 cgacgcccgc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga 1500
 gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg 1560
 cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau 1620
 ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaua 1680
 agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggccuccuc ccuccuugc accgagauua 1740
 auaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaugca uccccucua gacaaugga auuccaua 1838

<210> 55
 <211> 771
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность мРНК МмЕРО (GC) -ag-A64-C30

<400> 55
 gggagaaagc uuaccauggg cgugcccagag cggccgaccc ugcuccugcu gcucagccug 60
 cugcucaucc cccuggggcu gcccguccuc ugcgcccccc cgcgccugau cugcgacucc 120
 cgggugcugg agcgcuacau ccucgaggcc aaggaggcgg agaacgugac caugggcugc 180
 gccgaggggc cccggcugag cgagaacauc acgguccccc acaccaaggu gaacuucua 240
 gccuggaagc gcauggaggu ggaggagcag gccaucgagg ucuggcaggg ccuguccuc 300
 cugagcgagg ccauccugca ggcgcaggcc cuccuggcc auccagcca gccccggag 360
 acacugcagc uccacaucga caaggccauc uccgggcugc ggagccugac cuccuccug 420
 cgcgugcugg gcgcgcagaa ggagcucaug agcccgccc acacgacccc cccggccccg 480
 cugcggaccc ugaccgugga cacguucugc aagcucuucc gcgucuaacg caacuuccug 540
 cggggcaagc ugaagcucua caccggggag gugugccgcc ggggcgaccg cugaccacua 600
 guuaaagac ugacuagccc gaugggccuc ccaacgggcc cuccucccu ccuugcaccg 660
 agauuaaua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720
 aaaaaaaaaa aaauuucccc ccccccccc ccccccccc cccccucua g 771

<210> 56
 <211> 796
 <212> РНК
 <213> искусственная

<220>
 <223> последовательность мРНК МмЕРО (GC) - ag - A64 -C30 - histoneSL

<400> 56
 gggagaaagc uuaccauggg cgugcccagag cggccgaccc ugcuccugcu gcucagccug 60
 cugcucaucc cccuggggcu gcccguccuc ugcgcccccc cgcgccugau cugcgacucc 120
 cgggugcugg agcgcuacau ccucgaggcc aaggaggcgg agaacgugac caugggcugc 180
 gccgaggggc cccggcugag cgagaacauc acgguccccc acaccaaggu gaacuucua 240
 gccuggaagc gcauggaggu ggaggagcag gccaucgagg ucuggcaggg ccuguccuc 300
 cugagcgagg ccauccugca ggcgcaggcc cuccuggcc auccagcca gccccggag 360
 acacugcagc uccacaucga caaggccauc uccgggcugc ggagccugac cuccuccug 420
 cgcgugcugg gcgcgcagaa ggagcucaug agcccgccc acacgacccc cccggccccg 480
 cugcggaccc ugaccgugga cacguucugc aagcucuucc gcgucuaacg caacuuccug 540

32

cgggggcaagc ugaagcucua caccggggag gugugccgcc ggggcgaccg cugaccacua 600
 guuaaagac ugacuagccc gaugggccuc ccaacgggcc cuccuccccu ccuugcaccg 660
 agauuaauaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720
 aaaaaaaaaa aaugcauccc cccccccccc cccccccccc ccccccccaa aggcucuuuu 780
 cagagccacc agaauu 796

<210> 57
 <211> 3040
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Трастузумаб(GC) - аг - A64 -C30

<400> 57
 gggagaaaagc uuaccauggc cgugauggcg ccgcggagccc ugguccuccu gcugagcggc 60
 gccucgccc ugacgcagac cugggcccggg gaggugcagc uggucgagag cggcgggggc 120
 cucgugcagc cgggcggguc gcugcgccug agcugcgccg cgagcggggu caacaucaag 180
 gacaccuaca uccacugggg gcgccaggcc cccggcaagg gccucgagug ggucgcccgg 240
 aucuacccca cgaacgggua caccgcuaac gccgacagcg ugaaggggcg guuacaccauc 300
 agcgcggaaca ccucgaagaa cacggccuac cugcagauga acagccugcg cggcgaggac 360
 accgccgugu acuacugcag ccggugggggc ggcgacgggu ucuacgccau ggacuacugg 420
 gggcagggga ccucgucac cgugagcagc gcgucgacga agggggccag cguguucccg 480
 cuggccccca gcagcaagag caccagcggc gggaccggcg ccucgggcug ccucgucaag 540
 gacuacuucc ccgagcccgu gaccgugucg uggaacagcg gcgcgugac gagcgggguc 600
 cacaccuucc cggccgugcu gcagagcagc ggccucuacu cgcugagcag cguggucacc 660
 gugcccagca gcagccuggg gaccagagcg uacaucugca acgugaacca caagcccucg 720
 aacaccaagg ucgacaagaa gguggagccc ccgaagagcu gcgacaagac ccacaccugc 780
 ccgcccugcc ccgccccga gcuccugggc gggcccagcg uguuccuguu cccgcccagg 840
 cccaaggaca cgcucaugau cagccgcacc cccgaggua ccugcguggu ggucgacgug 900
 agccacgagg accccgaggu gaagucaac ugguacgucg acggcgugga ggugcacaac 960
 gccaaagaca agccgcggga ggagcaguac aacucgacgu accgcgugcu gagcgugcug 1020
 accguccugc accaggacug gcucaacggc aaggaguaca agugcaaggu gagcaacaag 1080
 gccucgccc cgcccaucga gaagaccauc agcaaggcca aggggcagcc ccgggagccg 1140
 cagguguaca ccugccccc cagcccgac gagcucacga agaaccaggu cagccugacc 1200
 ugccugguga agggcuucua cccucggac aucgcccugg agugggagag caacggggcag 1260
 ccggagaaca acuacaagac cccccggcc guccucgaca gcgacggcag cuucuuccug 1320

uacagcaagc ugacggugga caagucgagg uggcagcagg gcaacguguu cagcugcagc 1380
 gucaugcagc agggccucca caaccacuac acccagaaga gccugagccu gagccccggg 1440
 aagcaucauc aucaucauca uugaccaugc auuugaaagc cggggguggg agauccggau 1500
 ugccagucug cucgauaucg caggcugggu ccgugacuac ccacuccccc uuuaauuccg 1560
 ccccucuccc uccccccccc cuaacguuac uggccgaagc cgcuggaau aaggccggug 1620
 ugcguuuguc uauauguuau uuuccaccu auugccgucu uuuggcaaug ugagggcccg 1680
 gaaaccuggc ccugucuucu ugacgagcau uccuaggggu cuuuccccc ucgccaag 1740
 aaugcaaggu cuguugaaug ucgugaagga agcaguuccu cuggaagcuu cuugaagaca 1800
 aacaacgucu guagcgacc uuuugaggc gcggaacccc ccaccuggcg acaggugccu 1860
 cugcgcccaa aagccacgug uauaagauac accugcaaag gcggcacaac cccagugcca 1920
 cguugugagu uggauaguug uggaaagagu caaauggcuc uccucaagcg uauucaacaa 1980
 ggggcugaag gaugcccaga agguaccca uuguauaggga ucugaucugg ggccucggug 2040
 cacaugcuuu acguguguuu agucgagguu aaaaaacguc uaggccccc gaaccacggg 2100
 gacgugguuu uccuuugaaa aacacgauga uauuagauu accauggccg ugauggcgcc 2160
 gcggaaccug guccuccugc ugagcgggcg ccucgcccug acgcagaccu gggccgggga 2220
 cauccagaug acccagagcc cgucgagccu gagcgccagc guggcgacc gggucacgau 2280
 caccugccgc gcgagccagg acgugaacac cgccguggcc ugguaaccag agaagcccg 2340
 gaaggccccc aagcuccuga ucuacucggc gagcuuccug uacagcgcg ucccagccg 2400
 guucagcggg ucgcgcagc gcaccgacu cagcucacc aucagcagcc ugcagccgga 2460
 ggacuucgcc accuacuacu gccagcagca cuacaccacg cccccaccu ucgggcaggg 2520
 caccaaggug gagaucaagc ggaccguggc cgccccagc gucuucaucu uccgcccag 2580
 cgacgagcag cugaagucgg gcacggccag cguggugugc succugaaca acuuuaccc 2640
 ccgcgagcg aagguccagu ggaaggugga caacgccug cagagcggga acagccagga 2700
 gagcgugacc gagcaggacu cgaaggacag caccuacagc cucagcagca cccugacgu 2760
 gagcaaggcc gacuacgaga agcacaaggu cuacgccugc gaggugaccc accaggggu 2820
 cucgagcccc gugaccaaga gcuucaaccg gggcgagugc ugaccacuag uuuaagacu 2880
 gacuagcccg augggccucc caacgggccc uccuccccc cuugcaccga gauuaauaaa 2940
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000
 auauuccccc ccccccccc ccccccccc cccccucua 3040

<210> 58
 <211> 3065
 <212> РНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Трaктызымaб (GC) - ag - A64 -C30 - histoneSL

<400> 58

```

gggagaaaagc uuaccauggc cgugauggcg ccgcggagccc ugguccuccu gcugagcggc      60
gcccucgccc ugacgcagac cugggcccggg gagguvcagc uggucgagag cggcggggggc      120
cucgugcagc cgggcggguc gcugcggcug agcugcgccg cgagcggguu caacaucaag      180
gacaccuaca uccacugggg gcgccaggcc cccggcaagg gccucgagug ggucgcccgg      240
aucuacccca cgaacgggua cccccguac gccgacagcg ugaaggggcg guuacccauc      300
agcgcggaca ccucgaagaa cacggccuac cugcagauga acagccugcg cggcgaggac      360
accgccgugu acucugcag cggguggggc ggcgacgggu ucucgccaau ggacuacugg      420
gggcaggggca cccucgucac cgugagcagc gcgucgacga aggggcccag cguguuuccg      480
cuggccccca gcagcaagag caccagcggc gggaccggcg cccugggcug ccucgucaag      540
gacuacuucc ccgagcccgu gaccgugucg uggaacagcg gcgcgcugac gagcgggguc      600
cacaccuucc cggccgugcu gcagagcagc ggccucuacu cgcugagcag cgugguacac      660
gugcccagca gcagccuggg gaccagagcg uacaucugca acgugaacca caagcccucg      720
aacaccaagg ucgacaagaa gguggagccc ccgaagagcu gcgacaagac ccacaccugc      780
ccgcccugcc ccgccccga gcuccugggc gggcccagcg uguuccuguu cccgcccagg      840
cccaaggaca cgcucaugau cagccgcacc cccgagguca ccugcguggu ggucgacgug      900
agccacgagg accccgaggu gaaguucaac ugguacgucg acggcgugga ggugcacaac      960
gccaagacca agccgcggga ggagcaguac aacucgacgu accgcgucgu gagcgugcug      1020
accguccugc accaggacug gcucaacggc aaggaguaca agugcaaggu gagcaacaag      1080
gcccugcccc cgcccacga gaagaccauc agcaaggcca aggggcagcc cggggagccg      1140
cagguguaca cccugcccc cagccgcgac gagcucacga agaaccaggu cagccugacc      1200
ugccugguga agggcuucua cccucggac aucgcccugg agugggagag caacggggcag      1260
ccggagaaca acuacaagac cccccggc guccucgaca gcgacggcag cuucuuccug      1320
uacagcaagc ugacggugga caagucgcgg uggcagcagg gcaacguguu cagcugcagc      1380
gucaugcacg agggccucca caaccacuac acccagaaga gccugagccu gagccccggg      1440
aagcaucauc aucaucauca uugaccaugc auuugaaagc cggggguggg agauccggau      1500
ugccagucug cuggauaucg caggcugggg ccgugacuac ccacuccccc uuuaauuccg      1560
ccccucuccc ucccccccc cuaacguuac uggccgaagc cgcuuuggaau aaggccggug      1620
ugcguuuguc uauauguuau uuuccaccau auugccgucu uuuggcaaag ugagggcccc      1680
gaaaccuggc ccugucuucu ugacgagcau uccuaggggu cuuuccccuc ucgccaagg      1740
aaugcaaggu cuguugaaug ucgugaagga agcaguuccu cuggaagcuu cuugaagaca      1800

```

aacaacgucu guagcgaccc uuugcaggca gcggaacccc ccaccuggcg acaggugccu	1860
cugcgggcaa aagccacgug uauaagauac accugcaaag gcggcacaac cccagugcca	1920
cguugugagu uggauaguug uggaaagagu caaauggcuc uccucaagcg uauucaacaa	1980
ggggcugaag gaugcccaga agguacccca uuguauaggga ucugaucugg ggccucggug	2040
cacaugcuuu acguguguuu agucgagguu aaaaaacguc uaggccccc gaaccacggg	2100
gacgugguuu uccuuugaaa aacacgauga uauuagaucu accauggccg ugauggcgcc	2160
gcggacccug guccuccugc ugagcggcgc ccucgcccug acgcagaccu gggccgggga	2220
cauccagaug acccagagcc cgucgagccu gagcgccagc gugggagacc gggucacgau	2280
caccugccgc gcgagccagg acgugaacac cgccguggcc ugguaccagc agaagcccgg	2340
gaaggccccc aagcuccuga ucuacucggc gagcuuccug uacagcggcg ucccagccg	2400
guucagcggg ucgcgcagcg gcaccgacuu cacgcucacc aucagcagcc ugcagccgga	2460
ggacuucgcc accuacuacu gccagcagca cuacaccacg cccccaccu ucgggcaggg	2520
caccaagguu gagaucaagc ggaccguggc cgccccagc gucuucaucu ucccgcccag	2580
cgacgagcag cugaagucgg gcacggccag cguggugugc cuccugaaca acuuuaccc	2640
ccgcgagcgc aagguccagu ggaaggugga caacgcccug cagagcggga acagccagga	2700
gagcgugacc gagcaggacu cgaaggacag caccuacagc cucagcagca cccugacgu	2760
gagcaaggcc gacuacgaga agcacaaggu cuacgcucgc gaggugaccc accaggggcu	2820
cucgagcccc gugaccaaga gcuucaaccg gggcgagugc ugaccacuag uuauaagacu	2880
gacuagcccc augggccucc caacggggccc uccuccccuc cuugcaccga gauuaauaaa	2940
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	3000
augcaucccc cccccccccc cccccccccc cccccccaaa ggcucuuuuc agagccacca	3060
gaauu	3065

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

ФИГ.1

ФИГ.2

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

ФИГ.3

4/25

					<	<	<	<	<	<	*	*	*	*	>	>	>	>								
# A	661	146	1315	1323	920	8	0	1	0	0	0	1	4	0	441	1333	0	1199	21	0	1	1126	26	81	380	960
# T	63	121	2	2	6	2	0	39	1217	2	1331	1329	1207	1333	30	0	1	0	1	0	2	1	22	91	91	12
# C	601	1062	16	6	403	1	0	1293	116	1331	2	0	121	0	862	0	2	0	0	1333	1328	128	1284	1143	834	361
# G	8	4	0	2	4	1322	1333	0	0	0	0	3	1	0	0	0	1330	134	1311	0	2	78	1	18	28	0
Cons	N*	N*	H	N	N	N	G	H	Y	Y	Y	D	N	T	H	A	B	R	D	C	N	N	N	N*	N*	H*
99%	H*	H*	M	A	M	G	G	Y	Y	C	T	T	Y	T	H	A	G	R	R	C	C	V	H	N*	N*	M*
95%	H*	H*	A	A	M	G	G	C	Y	C	T	T	Y	T	M	A	G	R	G	C	C	V	C	H*	H*	M*
90%	M*	M*	A	A	M	G	G	C	T	C	T	T	T	T	M	A	G	R	G	C	C	M	C	Y*	M*	M*

Стебель1

Петля

Стебель2

ФИГ.4

5/25

					<	<	<	<	<	*	*	*	>	>	>	>										
#A	10	17	84	84	76	1	0	1	0	0	0	1	0	0	12	84	0	65	3	0	0	69	5	0	10	64
#T	8	6	0	0	2	2	0	1	67	0	84	80	81	84	5	0	0	0	0	0	0	0	4	25	24	3
#C	62	61	0	0	6	0	0	82	17	84	0	0	3	0	67	0	1	0	0	84	84	5	75	57	44	17
#G	4	0	0	0	0	81	84	0	0	0	0	3	0	0	0	0	83	19	81	0	0	10	0	2	6	0
Cons	N*	H*	A	A	H	D	C	H	Y	C	T	D	Y	T	H	A	S	R	R	C	C	V	H	B*	N*	H*
99%	N*	H*	A	A	H	D	C	H	Y	C	T	D	Y	T	H	A	S	R	R	C	C	V	H	B*	N*	H*
95%	H*	H*	A	A	M	G	C	C	Y	C	T	T	T	T	H	A	G	R	R	C	C	V	M	Y*	N*	M*
90%	H*	M*	A	A	A	G	C	C	Y	C	T	T	T	T	M	A	G	R	G	C	C	R	M	Y*	H*	M*

Стебель1

Петля

Стебель2

ФИГ.5

6/25

ppLuc(GC) – ag

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUUGGUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUC AAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguauua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
auagauc-3'

ФИГ.6

7/25

ppLuc(GC) – ag – A64

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCC
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGAGGCCACCAACGCCCUCAUUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACUUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACCGCGGUGGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUAAGacuaguua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAA-3'

ФИГ.7

8/25

ppLuc(GC) – ag – histoneSL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCGCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA Agacuaguaua
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** agauua
auagaucu CAAAGGCUCUUUUCAGAGCCACCA – 3'

Фиг.8

9/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – histoneSL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCC
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUC AUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUC AUUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUGCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACUUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUCUUCGU
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUCAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUUCGACCGCGGUGGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA Agacuaguaua
agacugacua**GCCCCAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
auAA
 AAAAAAugcauCAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCA–3'

ФИГ.9

10/25

ppLuc(GC) – ag – A120

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCGCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGAGGCCACCAACGCCCUAUCGACAAGGA
 CGGCUUGGUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUC AAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCUGCCGGACGA
 CGACGCCGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA Agacuaguaua
 agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** agauua
 auagaucuAA
 AA
 AAAAAAAA-3'

ФИГ.10

11/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – ag

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUGCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGCG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCaucGACAAGGA
 CGGCUUGGUCGACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUCUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGCGUGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCUAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCCCGUGUAAGacuaguua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAugcau**CCUGCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG3'**

ФИГ.11

12/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – aCPSL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCC
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGCG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCAACAAGGA
 CGGCUUGGUGCAGCAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACCGCGCGUGGCCGGGCGCCGGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCCCGUGUAAGacuaguua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAugcauCAAUCCUACACGUGAGGCGCUGUGAUUCCCUAUCCCCCUCAUUCCCU
 AUACAUUAGCACAGCGCCAUUGCAUGUAGGAAUU-3'

ФИГ.12

13/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – PolioCL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGCUUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUC AUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUC AUGGGCGUGGCCGUGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCGCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUUGGUGCAGACGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUC AUGCU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGCGUGGCCGGGCGUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCCCGUGUA *Agacuaguua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
au **AA**
AAAAA *ugcau* **CAAUUCUAAAACAGCUCUGGGGUUGUACCCACCCAGAGGCCACGUGG**
CGGCUAGUACUCCGGUAUUGCGGUACCCUUGUACGCCUGUUUUAGAAUU-3'

ФИГ.13

[illegible]

ФИГ.14

15/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – U30

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCC
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCAGCGG
 GGGCGCCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUAACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCGUCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCCCGUGUAAGacuaguaua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAUGcaUU-3'

ФИГ.15

16/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – SL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUC AUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUC AUCCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCGCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUAACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUC AUUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACCGCGGUGGCCGGGCUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguauua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
au **AA**
AAAAAA *ugcauUAUGGCGGCCGUGUCCACCACGGAUAUCACCGUGGUGGACGCGGCC-3'*

ФИГ.16

17/25

ppLuc(GC) – ag – A64 – N32

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGAACCAAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUC AAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA Agacuaguaua
 agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** agauua
 auAA
 AAAAAAUGCauCCCCUCUAGACAAUUGGAAUCCAUA-3'

ФИГ.17

18/25

MmEPO(GC) – ag – A64 – C30

gggagaaagcuuaccAUGGGCGUGCCCGAGCGGCCGACCCUGCUCCUGCUGCUCAGCCUG
 CUGCUCUAUCCCCUGGGGCGUGCCCGUCCUCUGCGCCCCCGCGCCUGAUCUGCGACUCC
 CGGGUGCUGGAGCGCUACAUCCUCGAGGCCAAGGAGGCGGAGAACGUGACCAUGGGCUGC
 GCCGAGGGGGCCCCGGCUGAGCGAGAACAUACGGUCCCCGACAÇCAAGGUGAACUUCUAC
 GCCUGGAAGCGCAUGGAGGUGGAGGAGCAGGCCAUCGAGGUCUGGCAGGGCCUGUCCUC
 CUGAGCGAGGCCAUCCUGCAGGCGCAGGCCCUCCUGGCCAACUCCAGCCAGCCCCGGAG
 ACACUGCAGCUCCACAUCGACAAGGCCAUCUCCGGGCUGCGGAGCCUGACCUCCUCCUG
 CGCGUGCUGGGCGCGCAGAAGGAGCUCAUGAGCCCGCCGACACGACCCCCCGGCCCCG
 CUGCGGACCCUGACCGUGGACACGUUCUGCAAGCUCUCCGCGUCUACGCCAACUCCUG
 CGGGGCAAGCUGAAGCUCUACACCGGGGAGGUGUGCCGCCGGGGCGACCGUGACCACUA
 GUUAUAAGACUGACUAG**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCUCCUUGCACCG**
 agauuaauAAA
 AAAAAAAAAAAuauuCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCucuag

ФИГ.18

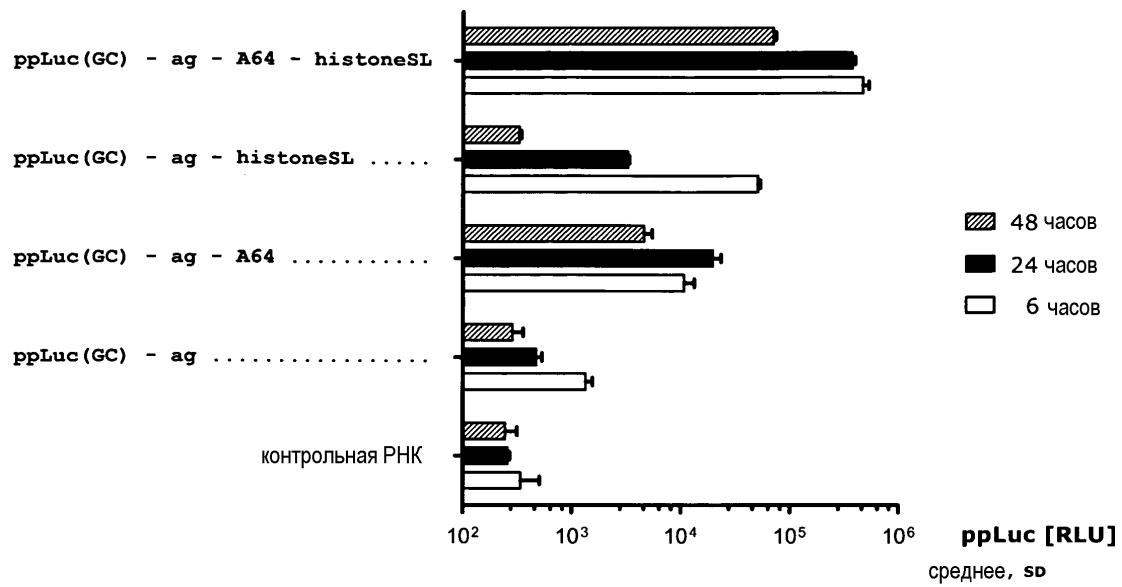
19/25

MmEPO(GC) – ag – A64 – C30 - histoneSL

gggagaaagcuuaccAUGGGCGUGCCCGAGCGGCCGACCCUGCUCCUGCUGCUCAGCCUG
 CUGCUCAUCCCCUGGGGCGUGCCCGUCCUCUGCGCCCCCGCGCCUGAUCUGCGACUCC
 CGGGUGCUGGAGCGCUACAUCCUCGAGGCCAAGGAGGCGGAGAACGUGACCAUGGGCUGC
 GCCGAGGGGGCCCCGGCUGAGCGAGAACAUACGGUCCCCGACACCAAGGUGAACUUCUAC
 GCCUGGAAGCGCAUGGAGGUGGAGGAGCAGGCCAUCGAGGUCUGGCAGGGCCUGUCCUC
 CUGAGCGAGGCCAUCCUGCAGGCGCAGGCCCUCCUGGCCAACUCCAGCCAGCCCCCGGAG
 ACACUGCAGCUCCACAUCGACAAGGCCAUUCCGGGCGUGCGGAGCCUGACCUCCUCCUG
 CGCGUGCUGGGCGCGCAGAAGGAGCUCAUGAGCCCGCCGACACGACCCCCCGGCCCG
 CUGCGGACCCUGACCGUGGACACGUUCUGCAAGCUCUCCGCGUCUACGCCAACUCCUG
 CGGGGCAAGCUGAAGCUCUACACCGGGGAGGUGUGCCGCCGGGGCGACCGCUGAccacua
 guuauaagacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCUCCUUGCACCG**
 AGAUUAAUAAA
 AAAAAAAAAAAAugcauCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUU
CAGAGCCACCAgaauu

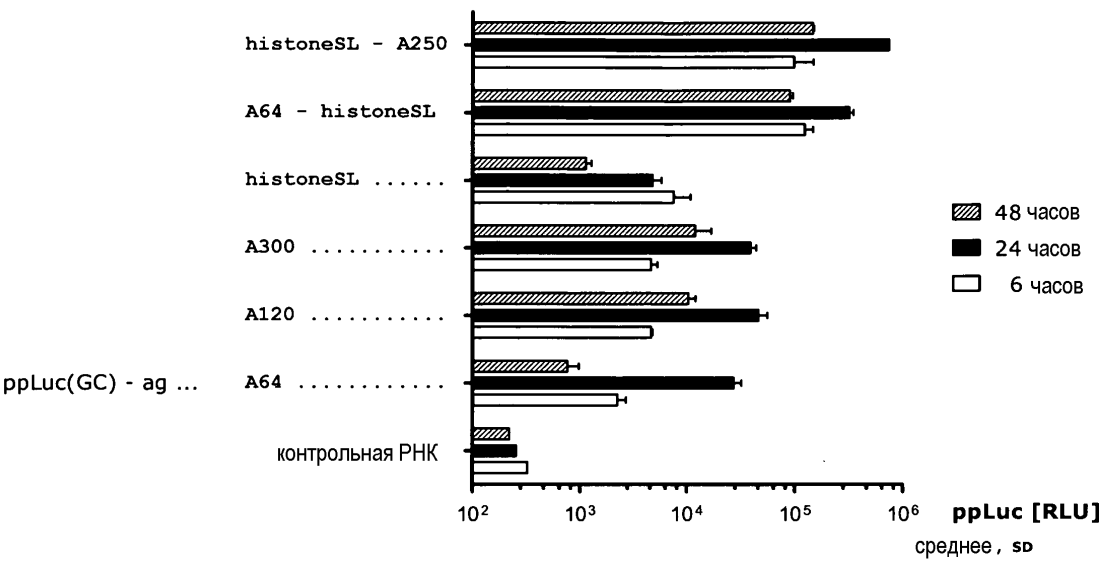
ФИГ.19

20/25



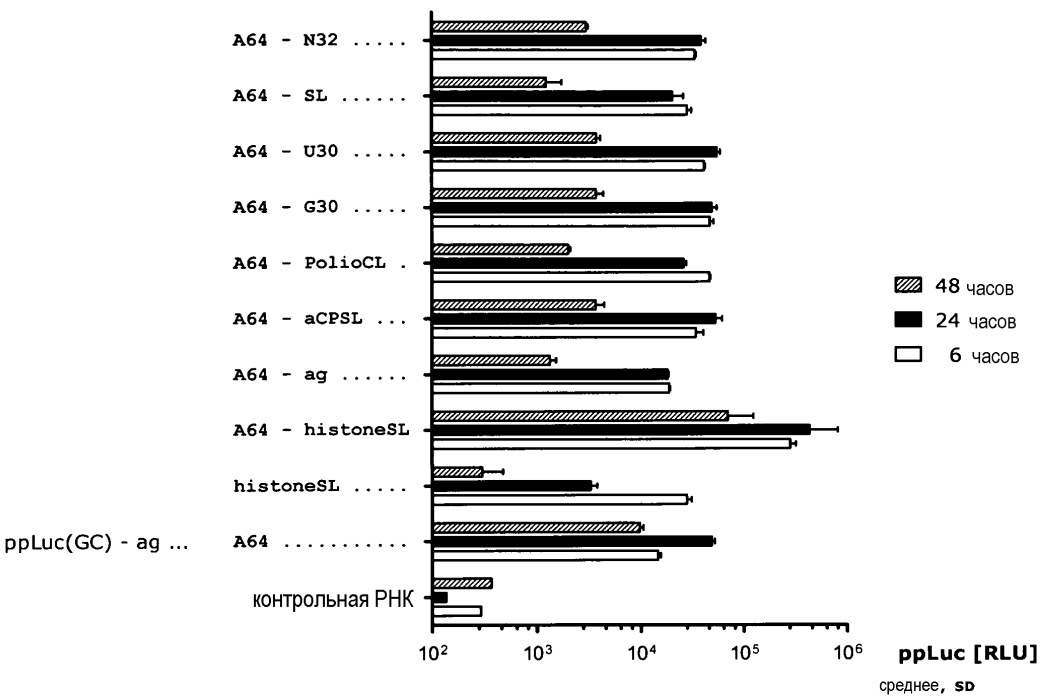
ФИГ.20

21/25



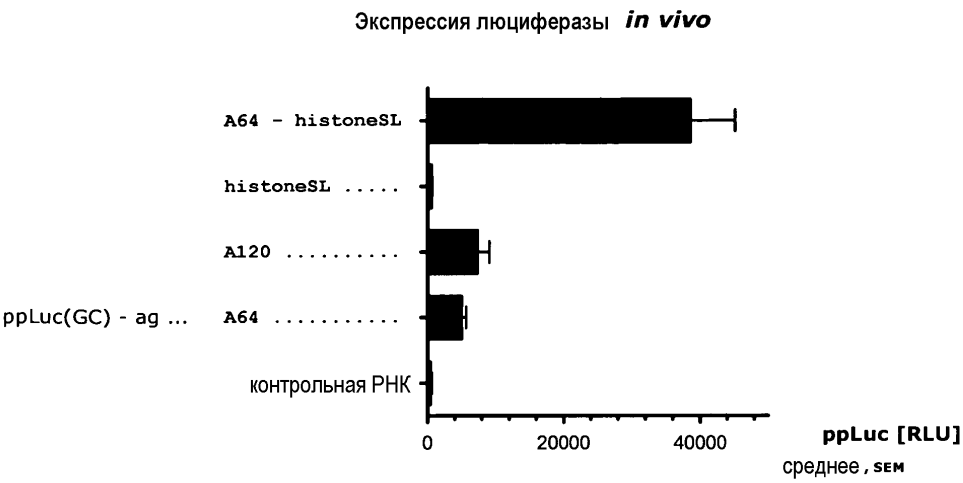
ФИГ.21

22/25



ФИГ.22

23/25



ФИГ.23

24/25

Трастузумаб(GC) – ag – A64 –C30

gggagaaagcuuaccAUGGCCGUGAUGGCCGCCGGACCCUGGUCCUCCUGCUGAGCGGGCG
 CCUCGCCCUGACGCAGACCUGGGCCGGGAGGUGCAGCUGGUCGAGAGCGGGCGGGGCCUCG
 UGCAGCCGGGGCGGUGCGUGCGGCGUGAGCUGCGCCGCGAGCGGGUUAACAUCAAGGACACC
 UACAUCCACUGGGUGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGCCUCGAGUGGGUCGCCCAGAUUACCC
 CACGAACGGGUACACCCGCUACGCCGACAGCGUGAAGGGCCGGUUCACCAUCAGCGCGGACA
 CCUCGAAGAACACGGCCUACCUGCAGAUGAACAGCCUGCGCGCCGAGGACACCGCCGUGUAC
 UACUGCAGCCGGUGGGGCGGCGACGGGUUUCACGCCAUGGACUACUGGGGGCAGGGCACCCU
 CGUCACCGUGAGCAGCGCGUCGACGAAGGGGCCAGCGUGUUCGCGUGGGCCCCAGCAGCA
 AGAGCACCGAGCGGGCGGACCGCGCCUGGGCUGCCUCGUAAGGACUACUUCGCGAGCCC
 GUGACCGUGUCGUGGAACAGCGGCGCGUGACGAGCGGGGUCCACACCUUCGCGCCGUGCU
 GCAGAGCAGCGGCCUCUACUCGUGAGCAGCGUGGUCACCGUGCCCAGCAGCAGCCUGGGGA
 CCCAGACGUACAUCUGCAACGUGAACACAAAGCCUCGAACACCAAGGUCGACAAGAAGGUG
 GAGCCCCCGAAGAGCUGCGACAAGACCCACACCUGCCCGCCUGCCCCGCCCGGAGCUCCU
 GGGCGGGCCAGCGUGUCCUGUUCGCGCCAAAGCCAAAGGACACGCUCAUGAUCAGCCGCA
 CCCCCGAGGUCACCGUGGUGGUGCAGCUGAGCCACGAGGACCCGAGGUGAAGUUAAC
 UGGUACGUCGACGGCGUGGAGGUGCACAACGCCAAGACCAAGCCGCGGGAGGACGUAACA
 CUCGACGUACCGCGUGCGUGAGCGUGCUGACCGUCCUGCACCAGGACUGGCUAACGGCAAGG
 AGUACAAGUGCAAGGUGAGCAACAAGGCCUGGCCGCGCCCAUCGAGAAGACCAUCAGCAAG
 GCCAAGGGGCGAGCCCCGGGAGCCGCGAGGUGUACACCCUGCCCCCAGCCGCGACGAGCUCAC
 GAAGAACCAGGUCAGCCUGACCUGCCUGGUGAAGGGCUUCUACCCUCGAGACUACGCCGUGG
 AGUGGGAGAGCAACGGGCGAGCCGGAGAACAACUACAAGACACCCCGCCGUGCCUGACAGC
 GACGGCAGCUUCUUCUGUACAGCAAGCUGACGGUGGACAAGUCGCGGUGGCAGCAGGGCAA
 CGUGUUCAGCUGCAGCGUCAUGCAGGAGGCCUCCACAACCACUACACCCAGAAGAGCCUGA
 GCCUGAGCCCCGGGAAGCAUCAUCAUCAUCAUUGACCAUGCAUUGAAAGCCGGGGGUG
 GGAGAUCCGGAUUGCCAGUCUGCUGCAUAUCGACGCGUGGGUCCGUGACUACCCACUCCCC
 UUUAAUUCGCCCCUCUCCUCCCCCCCCCUAACGUUACUGGCCGAAGCCGUUGGAUA
 GGCCGGUGUGCGUUGUCUAUAUGUUAUUUCCACCAUAUUGCCGUCUUUUGGCAUUGUGAG
 GGCCCGGAAACCUGGCCUGUCUUCUUGACGAGCAUUCUAGGGGUCUUUCCCCUCUGCCA
 AAGGAUUGCAAGGUCUGUUGAUGUCGUGAAGGAAGCAGUUCUCUGGAAGCUUCUUGAAGA
 CAAACAACGUCUGUAGCGACCCUUGCAGGCAGCGGAACCCCCCACCUGGCGACAGGUGCCU
 CUGCGGCCAAAAGCCACGUGUAUAAGAUACACCGUGCAAAGGGCGCACAAACCCAGUGCCACG
 UUGUGAGUUGGAUAGUUGUGGAAAGAGUCAAAUGGCUCUCCUCAAGCGUAUUAACAAGGGG
 CUGAAGGAUGCCCAGAAGGUACCCCAUUGUAUGGGAUCUGAUCUGGGGCCUCGGUGCACAUG
 CUUUAACGUGUGUUUAGUCGAGGUUAAAAACGUCUAGGCCCCCCGAACACGGGGACGUGGU
 UUUCCUUUGAAAAACACGAUGAUAAUAGAUUACCAUGGCCGUGAUGGCGCCGCGGACCCUG
 GUCCUCCUGCUGAGCGGCGCCUCGCCCUGACGCAGACCUGGGCCGGGGACAUCAGAUAC
 CCAGAGCCCGUCGAGCCUGAGCGCCAGCGUGGGCGACCGGGUACGAUACCUGCCGCGCGA
 GCCAGGACGUGAACACCGCCGUGGCCUGGUACACGAGAGAAGCCCGGAAGGCCCCCAAGCUC
 CUGAUCUACUCGGCGAGCUUCCUGUACAGCGGCGUCCCCAGCCGGUUCAGCGGGUCGCGCAG
 CGGCACCGACUUCACGCUCACCAUCAGCAGCCUGCAGCCGGAGGACUUCGCCACCUACUACU
 GCCAGCAGCACUACACACGCCCCCCACCUUCGGGCAGGGCACCAAGGUGGAGAUCAAGCGG
 ACCGUGGCCCGCCCCAGCGUCUUCUUCUCCCCGCGAGCGAGCAGCUGAAGUCGGGCAC
 GGCCAGCGUGGUGUGCCUCCUGAACAAUUCUACCCCCGCGAGGCGAAGGUCCAGUGGAAGG
 UGGACAACGCCUGCAGAGCGGGAACAGCCAGGAGAGCGUGACCGAGCAGGACUCGAAGGAC
 AGCACCUACAGCCUCAGCAGCACCUGACGCUGAGCAAGGCCGACUACGAGAAGCACAAAGGU
 CUACGCCUGCGAGGUGACCCACCAGGGGCUUCGAGCCCCGUGACCAAGAGCUUCAACGGG
 GCGAGUGCUGAccacuaguuauaagacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCAAACGGGCCUCCU**
CCCCUCCUUGCACCGagauuaauAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAuauCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCuc
 ag

ФИГ.24

25/25

Траптызмаб(GC) – ag – A64 –C30 – histoneSL

gggagaaagcuuaccAUGGCCGUGAUGGCCCGCGGACCCUGGUCCUCCUGCUGAGCGGGCGC
 CCUCGCCCUGACGCAGACCUGGGCCGGGGAGGUGCAGCUGGUCGAGAGCGGGCGGGGCCUCG
 UGCAGCCGGGCGGGUCGUGCGGCUGAGCUGCGCCGCGAGCGGGUUAACAUCAAGGACACC
 UACAUCCACUGGGUGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGCCUCGAGUGGGUGCGCCGGAUCUACCC
 CACGAACGGGUACACCCGCUACGCCGACAGCGUGAAGGGCCGGUUCACCAUCAGCGCGGACA
 CCUCGAAGAACACGGCCUACCUGCAGAUGAACAGCCUGCGCGCCGAGGACACCGCCGUGUAC
 UACUGCAGCCGGUGGGGCGGCGACGGGUUCACGCCAUGGACUACUGGGGGCAGGGCACCCU
 CGUACCCGUGAGCAGCGCGUCGACGAAGGGGCCAGCGUGUCCCCGUGGCCCCAGCAGCA
 AGAGCACCGAGCGGGCGGACCGCCGCCUGGGCUGCCUCGUCAAGGACUACUCCCCGAGCCC
 GUGACCGUGUCGUGGAACAGCGGCGCGUGACGAGCGGGGUCCACACCUCCCCGGCCGUGCU
 GCAGAGCAGCGGCCUCUACUCGUGAGCAGCGUGGUCACCGUGCCCAGCAGCAGCCUGGGGA
 CCCAGACGUACAUCUGCAACGUGAACCACAAGCCUCGAACACCAAGGUCGACAAGAAGGUG
 GAGCCCCCGAAGAGCUGCGACAAGACCCACACCUGCCCCGCCUGCCCCGCCCCGAGCUCCU
 GGGCGGGCCAGCGUGUCCUGUCCCCGCCAAGCCCAAGGACACGCUCAUGAUCAGCCGCA
 CCCCCGAGGUCACCGUGCGUGGUGGUCGACGUGAGCCACGAGGACCCGAGGUGAAGUUAAC
 UGGUACGUCGACGGCGUGGAGGUGCACAACGCCAAGACCAAGCCGCGGGAGGAGCAGUACAA
 CUCGACGUACCGCGUGCGUGAGCGUGGACCGUCCUGCACCAGGACUGGCUCAACGGCAAGG
 AGUACAAGUGCAAGGUGAGCAACAAGGCCUGCCCCGCGCCCAUCGAGAAGACCAUCAGCAAG
 GCCAAGGGGCGAGCCCCGGGAGCCGCGAGGUGUACACCCUGCCCCCAGCCGCGACGAGCUCAC
 GAAGAACCAGGUCAGCCUGACCUGCCUGGUGAAGGGCUUCUACCCUCGAGACUACGCCGUGG
 AGUGGGAGAGCAACGGGCGAGCCGGAGAACAACUACAAGACCACCCCGCCCGUCCUCGACAGC
 GACGGCAGCUUCUCCUGUACAGCAAGCUGACGGUGGACAAGUCGCGGUGGCAGCAGGGCAA
 CGUGUUCAGCUGCAGCGUCAUGCAGGAGGCCUCCACAACCACUACACCCAGAAGAGCCUGA
 GCCUGAGCCCCGGGAAGCAUCAUCAUCAUCAUUGACCAUGCAUUGAAAGCCGGGGGUG
 GGAGAUCCGGAUUGCCAGUCUGCUGCAUAUCGAGGCGUGGGUCCGUGACUACCCACUCCCC
 UUAUAUCCGCCCCUCUCCUCCCCCCCCCUAACGUUACUGGCCGAAGCCGCUUGGAUAUA
 GGCCGGUGUGCGUUGUCUAUAUGUUAUUUCCACCAUAUUGCCGUCUUUUGGCAUUGUGAG
 GGCCCGGAAACCUGGCCUGUCUUCUUGACGAGCAUUCUAGGGGUCUUUCCCCUCUGCCA
 AAGGAAUGCAAGGUCUGUUGAUGUCGUGAAGGAAGCAGUUCUCUGGAAGCUUCUUGAAGA
 CAAACAACGUCUGUAGCGACCCUUGCAGGCAGCGGAACCCCCCACCUGGCGACAGGUGCCU
 CUGCGGCCAAAAGCCACGUGUAUAAGAUACACCGUGCAAAGGCGGCACAACCCAGUGCCACG
 UUGUGAGUUGGAUAGUUGUGGAAAGAGUCAAAUGGCUUCUCUACAGCGUAUUAACAAGGGG
 CUGAAGGAUGCCCAGAAGGUACCCCAUUGUAUGGGAUCUGAUCUGGGGCCUCGGUGCACAUG
 CUUACGUGUGUUUAGUCGAGGUUAAAAACGUCUAGGCCCCCGAACCAGGGGACGUGGU
 UUUCCUUUGAAAAACACGAUGAUAAUAGAUUCUACCAUGGCCGUGAUGGCGCCGCGGACCCUG
 GUCCUCCUGCUGAGCGGCGCCUCGCCCUGACGCAGACCUGGGCCGGGGACAUCAGAUAGAC
 CCAGAGCCCUGCAGCCUGAGCGCCAGCGUGGGCGACCGGGUACGAUACCCUGCCGCGCGA
 GCCAGGACGUGAACACCGCCGUGGCCUGGUACAGCAGAAGCCCGGAAGGCCCCCAAGCUC
 CUGAUCUACUCGGCGAGCUCCUGUACAGCGGCGUCCCCAGCCGGUUCAGCGGGUCGCGCAG
 CGGCACCGACUUCACGCUACCAUACGAGCCUGCAGCCGGAGGACUUCGCCACCUACUACU
 GCCAGCAGCACUACACCACGCCCCCCACCUUCGGGCAGGGCACCAAGGUGGAGAUCAAGCGG
 ACCGUGGCCGCCCCCCAGCGUCUUCUACUCCCCGCCAGCGACGAGCAGCUGAAGUCGGGCAC
 GGCCAGCGUGGUGUGCCUCCUGAACAACUUCUACCCCGCGAGGCGAAGGUCCAGUGGAAGG
 UGGACAACGCCCCUGCAGAGCGGGAACAGCCAGGAGCGUGACCGAGCAGGACUCGAAGGAC
 AGCACCUACAGCCUCAGCAGCACCUGACGCUAGCAAGGCCGACUACGAGAAGCACAAGGU
 CUACGCCUGCGAGGUGACCCACCAGGGGCUUCGAGCCCCGUGACCAAGAGCUUCAACCGGG
 GCGAGUGCUGAaccacuaguuauaagacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCU**
CCCCUCCUUGCACCGAGAUUAUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAaugcauCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCA
 AAGGCUCUUUCAGAGCCACCAgaauu

ФИГ.25