



(51) МПК
A61K 39/155 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
C07K 14/005 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 39/12 (2020.02); *A61K 39/155* (2020.02); *C07K 14/005* (2020.02); *C07K 16/1027* (2020.02); *C12N 7/00* (2020.02); *A61K 2039/505* (2020.02); *A61K 2039/53* (2020.02); *A61K 48/00* (2020.02); *C07K 2317/24* (2020.02); *C12N 2760/18534* (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2016109937, 21.08.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.08.2014

Дата регистрации:
09.06.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.08.2013 EP PCT/EP2013/002518

(43) Дата публикации заявки: 26.09.2017 Бюл. № 27

(45) Опубликовано: 09.06.2020 Бюл. № 16

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на
национальной фазе: 21.03.2016

(86) Заявка PCT:
EP 2014/002301 (21.08.2014)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2015/024668 (26.02.2015)

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

(72) Автор(ы):

**КРАМПС Томас (DE),
 ШНЕР Маргит (DE),
 ФОСС Даниель (DE),
 ПЕЧ Беньямин (DE)**

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

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2012116714 A1, 07.09.2012. WO
2012116715 A1, 07.09.2012. PETSCH B. et al.,
Protective efficacy of in vitro synthesized, specific
mRNA vaccines against influenza A virus
infection, NAT.BIOTECH., 2012, v. 30, n. 12, p.
1-7. WO 2006050280 A2, 11.05.2006. WO
2012019630 A1, 16.02.2012. RU 2407749 C2,
27.12.2010. RU 2010135630 A1, 10.03.2012.

(54) ВАКЦИНА ПРОТИВ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА (РСВ)

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии, конкретно к последовательности мРНК, содержащей кодирующую область, которая кодирует мутантный белок респираторно-синцициального вируса (РСВ), и может быть использовано в медицине. Описанное

изобретение может применяться для получения фармацевтической композиции, прежде всего вакцины, для профилактики или лечения РСВ-инфекций, вызываемых респираторно-синцициальным вирусом. 7 н. и 19 з.п. ф-лы, 17 ил., 7 табл., 7 пр.

RU 2 7 2 3 3 2 8 C 2

RU 2 7 2 3 3 2 8 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 39/155 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
C07K 14/005 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 39/12 (2020.02); *A61K 39/155* (2020.02); *C07K 14/005* (2020.02); *C07K 16/1027* (2020.02); *C12N 7/00* (2020.02); *A61K 2039/505* (2020.02); *A61K 2039/53* (2020.02); *A61K 48/00* (2020.02); *C07K 2317/24* (2020.02); *C12N 2760/18534* (2020.02)

(21)(22) Application: **2016109937, 21.08.2014**(24) Effective date for property rights:
21.08.2014Registration date:
09.06.2020

Priority:

(30) Convention priority:
21.08.2013 EP PCT/EP2013/002518(43) Application published: **26.09.2017 Bull. № 27**(45) Date of publication: **09.06.2020 Bull. № 16**(85) Commencement of national phase: **21.03.2016**(86) PCT application:
EP 2014/002301 (21.08.2014)(87) PCT publication:
WO 2015/024668 (26.02.2015)Mail address:
**105082, Moskva, Spartakovskij per., 2, str. 1,
sektiya 1, etazh 3, EVROMARKPAT**

(72) Inventor(s):

**KRAMPS Tomas (DE),
SHNEE Margit (DE),
FOSS Daniel (DE),
PECH Benyamin (DE)**

(73) Proprietor(s):

CureVac AG (DE)(54) **VACCINE AGAINST RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (RSV)**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to an mRNA sequence containing a coding region which codes a respiratory syncytial virus (RSV) mutant protein, and can be used in medicine.

EFFECT: described invention can be used to produce a pharmaceutical composition, primarily a vaccine, for preventing or treating RSV infections caused by a respiratory syncytial virus.

26 cl, 17 dwg, 7 tbl, 7 ex

C 2
8 2 3 2 8
R UR U
2 7 2 3 3 2 8
C 2

Настоящее изобретение относится к последовательности мРНК, содержащей кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное. Кроме того, настоящее изобретение относится к композиции, содержащей несколько последовательностей мРНК, содержащих кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное.

Кроме того, описано также применение последовательности мРНК или композиции, содержащей несколько последовательностей мРНК, для приготовления фармацевтической композиции, прежде всего вакцины, например, для применения для профилактики или лечения вызываемых РСВ инфекций. В настоящем изобретении описан также способ лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекцией с использованием последовательности мРНК.

Общее медицинское значение и экономическая роль РСВ являются очень большими. Этот вирус является наиболее важным причинным фактором острых инфекций нижней части дыхательных путей (ALRI), приводящих к необходимости посещения медицинских учреждений в период младенчества и раннего детского возраста. Например, в Соединенных Штатах более 60% младенцев заражаются РСВ в течение их первого РСВ-сезона, и практически все заражаются к возрасту 2-3 года. В США примерно 2,1 миллиона детей возрастом менее 5 лет каждый год проходят лечение от вызываемого РСВ заболевания: 3% в стационаре, 25% в отделении неотложной помощи и 73% у практикующих педиатров. В целом, среди детей возрастом менее 5 лет случаи ALRI, вызываемые РСВ, составляют 33,8 миллиона каждый год (более 22% всех случаев ALRI), приводя к 66000-199000 смертям, из которых 99% приходится на развивающиеся страны. RSV является также обычной причиной респираторного заболевания у пожилых людей, приводя к такому же количеству госпитализаций, что и грипп в популяции, интенсивно иммунизированной против гриппа. РСВ распространяется воздушно-капельным путем и путем непосредственного контакта с инфицированными людьми или загрязненными предметами. В умеренном климате существуют ежегодные зимние эпидемии. Младенцы имеют наиболее высокий риск серьезного связанного с РСВ заболевания в течение первых 6 месяцев их жизни, и пики госпитализации приходятся на 2-3-месячный возраст. Преждевременные роды и наличие сердечно-легочного заболевания являются факторами риска серьезного связанного с РСВ заболевания. Заражение РСВ младенцев вызывает частичный защитный иммунитет, который, вероятно, снижается быстрее, чем иммунитет против большинства других респираторных вирусов. Большинство младенцев, зараженных РСВ в течение первого года их жизни, повторно инфицируются на следующий год, что, как правило, приводит к менее серьезному заболеванию. Повторяющиеся заражения продолжаются в течение всей жизни, часто с проявлением симптомов в верхней части дыхательных путей, а иногда с вовлечением более низкой части дыхательных путей и синуса. Рекомендованные для лечения РСВ бронхолитические средства обеспечивают в основном поддержание дыхания и гидратацию. Отсутствуют рекомендации по осуществлению какой-либо специфической противовирусной терапии. Для профилактики младенцев с наиболее высоким риском серьезной инфекции применяют нейтрализующее моноклональное антитело паливизумаб, но оно является слишком дорогим и непригодным для универсального практического применения. В настоящее время отсутствует лицензированная вакцина против РСВ, и создание безопасной и эффективной вакцины против РСВ является общей приоритетной задачей здравоохранения.

При испытании вакцины в 1960-ых годах младенцев и детей младшего возраста иммунизировали препаратом инактивированного формалином (FI) полного вириона РСВ (FI-PCSV) или эквивалентным препаратом на основе парамиксовируса (FI-PIV). Пять процентов индивидуумов, которых иммунизировали FI-PIV и которые затем в течение следующего сезона РСВ заражались встречающимся в естественных условиях РСВ, были госпитализированы; 80% индивидуумов, которых иммунизировали FI-PCSV, и которые затем заражались РСВ, были госпитализированы, а два ребенка умерли. Указанное усиление вызываемой РСВ инфекции в результате вакцинации представляет собой конкретную проблему при разработке вакцин против вызываемых РСВ инфекций (см. обзор Shaw и др., *Curr Opin Virol.* 3(3), июнь 2013 г., сс. 332-342. doi: 10.1016/j.coviro.2013.05.003. Epub 30 мая 2013 г.).

Таким образом, самой большой нерешенной проблемой, связанной с вызываемыми респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ) инфекциями у детей в развитых странах, остается разработка вакцины для младенцев, важным является также отсутствие вакцины для младенцев во всех мире. Более чем 40-летние усилия пока не дали результатов и не привели к разработке лицензированной вакцины против РСВ для людей.

В целом, следует отметить, что РСВ, который принадлежит к вирусам семейства *Paramyxoviridae*, является одним из наиболее контагиозных патогенов и вносит значительный вклад в серьезные инфекции дыхательных путей у младенцев, пожилых людей и пациентов с ослабленным иммунитетом.

Как указано выше, в настоящее время на рынке имеется гуманизированное моноклональное антитело к белку F вирусной поверхности, которое представляет собой единственный профилактический продукт, рекомендованный для младенцев, которые относятся к группе высокого риска, включая преждевременно родившихся младенцев и младенцев с хроническим легочным заболеванием (The IMPact-RSV Study Group. *Palivizumab, a Humanized Respiratory Syncytial Virus Monoclonal Antibody, Reduces Hospitalization From Respiratory Syncytial Virus Infection in High-risk Infants. Pediatrics*, 102 (3), 1998, сс. 531-537, Tablan и др., *Guidelines for preventing health-care--associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. MMWR. Recommendations and Reports: Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports / Centers for Disease Control*, 53(RR-3), 2003, сс. 1-36).

Современные исследования, проведенные на животных моделях, продемонстрировали, что при применении в достаточных количествах нейтрализующие антитела, мишенью которых является F-белок РСВ, ограничивают вирусную репликацию, что приводит к менее серьезному течению болезни (Singh S.R. и др., *Immunogenicity and efficacy of recombinant RSV-F vaccine in a mouse model. Vaccine*, 25(33), 2007, сс. 6211-6223, Zhan X. и др., *Respiratory syncytial virus (RSV) F protein expressed by recombinant Sendai virus elicits B-cell and T-cell responses in cotton rats and confers protection against RSV subtypes A and B. Vaccine*, 25(52), 2007, сс. 8782-8793., Vaughan K. и др., *DNA immunization against respiratory syncytial virus (RSV) in infant rhesus monkeys. Vaccine*, 23 (22), 2005, сс. 2928-2942).

Кроме того, удалось установить, что для клиренса вируса и снижения серьезности заболевания требуется сбалансированная функция регуляторных и эффекторных Т-клеток (Liu J. и др., *Epitope-specific regulatory CD4 T cells reduce virus-induced illness while preserving CD8 T-cell effector function at the site of infection. Journal of Virology*, 84(20), 2010, сс. 10501-10509).

Помимо указанного выше гуманизированного моноклонального антитела разработана вакцина на основе живого ослабленного вируса, которая вызывает сильный

иммунный ответ, но которая не рекомендована для применения на определенных целевых группах (младенцы, дети, пожилые люди и пациенты с ослабленным иммунитетом). Кроме того, ДНК-векторы, экспрессирующие F-белок РСВ, которые несут В-клеточные эпитопы, применяли для индукции производства нейтрализующих антител. В этом контексте в WO 2008/077527 и WO 96/040945 описаны векторы, которые содержат последовательности ДНК, кодирующие F-белок РСВ, предназначенные для применения в качестве вакцин. Однако применение ДНК в качестве вакцины может быть опасным из-за нежелательного встраивания в геном, что может приводить к нарушению функциональных генов и раку или образованию антител к ДНК.

Таким образом, в основу настоящего изобретения положена задача создать последовательность мРНК, кодирующую антигенные пептиды или белки респираторно-синцитиального вируса (РСВ), для применения в качестве вакцины для профилактики или лечения вызываемых РСВ инфекцией, прежде всего у младенцев, пожилых людей и пациентов с ослабленным иммунитетом.

Указанные задачи решаются с помощью объектов изобретения, представленных в прилагаемой формуле изобретения. Задачи, положенные в основу настоящего изобретения решаются, прежде всего, согласно первому объекту изобретения с помощью предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, содержащей кодирующую последовательность, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное.

Для целей ясности и удобочитаемости представлены указанные ниже определения. Все технические особенности, упомянутые в этих определениях, могут относиться ко всем до единого вариантам осуществления изобретения. В контексте указанных вариантов осуществления изобретения могут быть специально даны дополнительные определения и пояснения.

Иммунная система: Иммунная система может защищать организмы от инфекции. Если патогену удалось преодолеть физический барьер организма и попасть в указанный организм, то врожденная иммунная система обеспечивает немедленный, но неспецифический ответ. Если патоген ускользает от этого врожденного ответа, у позвоночных имеется второй уровень защиты, представляющий собой адаптивную иммунную систему. В этом случае иммунная система адаптирует свой ответ в процессе инфекции для улучшения распознавания патогена. Затем этот улучшенный ответ сохраняется после элиминации патогена в форме иммунологической памяти и позволяет адаптивной иммунной системе организовывать более быстрые и сильные атаки каждый раз при проникновении указанного патогена. Таким образом, иммунная система включает врожденную и адаптивную иммунную систему. Каждая из этих двух частей, как правило, включает так называемые гуморальный и клеточный компоненты.

Иммунный ответ: Иммунный ответ может, как правило, представлять собой либо специфическую реакцию адаптивной иммунной системы на конкретный антиген (так называемый специфический или адаптивный иммунный ответ), либо неспецифическую реакцию врожденной иммунной системы (так называемый неспецифический или врожденный иммунный ответ). Изобретение относится, прежде всего, к специфическим реакциям (адаптивные иммунные ответы) адаптивной иммунной системы. В частности, оно относится к адаптивным иммунным ответам на инфекции, вызываемые вирусами, например, такие, как вызываемые РСВ инфекции. Однако указанная специфическая реакция может поддерживаться дополнительной неспецифической реакцией (врожденный иммунный ответ). Таким образом, изобретение относится также к соединению,

предназначенному для одновременной стимуляции врожденной и адаптивной иммунной системы для инициации эффективного адаптивного иммунного ответа.

Адаптивная иммунная система: Адаптивная иммунная система состоит из высокоспециализированных системных клеток и процессов, которые элиминируют или предупреждают рост патогенов. Адаптивная иммунная система придает иммунной системе позвоночных способность распознавать и запоминать специфические патогены (для создания иммунитета) и организовывать более сильную атаку в каждом случае при обнаружении патогена. Система обладает высокой способностью к адаптации вследствие соматической гипермутации (процесс ускоренных соматических мутаций) и V(D)J-рекомбинации (необратимая генетическая рекомбинация сегментов гена рецептора антигена). Этот механизм позволяет небольшому количеству генов создавать огромное количество различных рецепторов антигенов, которые затем уникальным образом экспрессируются на каждом индивидуальном лимфоците. Поскольку перестройка гена приводит к необратимому изменению ДНК каждой клетки, то все потомство такой клетки должно затем наследовать гены, кодирующие ту же самую рецепторную специфичность, включая В-клетки памяти и Т-клетки памяти, которые имеют решающее значение для долговременного специфического иммунитета. Теория иммунной сети представляет собой теорию, описывающую работу адаптивной иммунной системы, которая базируется на взаимодействиях между переменными областями рецепторов Т-клеток, В-клеток и молекул, образованных Т-клетками и В-клетками, которые имеют переменные области.

Адаптивный иммунный ответ: Как правило, под адаптивным иммунным ответом понимают антигенспецифический ответ иммунной системы. Специфичность в отношении антигена позволяет вырабатывать ответы, приспособленные к специфическим антигенам, патогенам или инфицированным патогеном клеткам. Способность создавать такие приспособленные ответы, как правило, поддерживается в организме «клетками памяти». Если патоген инфицирует организм более одного раза, то указанные специфические клетки памяти используются для его быстрой элиминации. В этом контексте первая стадия адаптивного иммунного ответа представляет собой активацию наивных антигенспецифических Т-клеток или различных иммунных клеток, способных индуцировать антигенспецифический иммунный ответ, антигенпрезентирующими клетками. Это происходит в лимфоидных тканях и органах, через которые постоянно проходят наивные Т-клетки. К типам клеток, которые могут служить в качестве антигенпрезентирующих клеток, относятся, среди прочего, дендритные клетки, макрофаги и В-клетки. Каждая из указанных клеток выполняет отдельную функцию при вызывании иммунных ответов. Дендритные клетки могут поглощать антигены посредством фагоцитоза и макропиноцитоза, и они могут стимулироваться при контакте, например, с чужим антигеном, к миграции в местную лимфоидную ткань, где может происходить их дифференцировка в зрелые дендритные клетки. Макрофаги поглощают находящиеся в форме частиц антигены, такие как бактерии, и могут индуцироваться инфекционными агентами или другими соответствующими стимулами и экспрессировать в результате этого молекулы ГКГС. Уникальная способность В-клеток к связыванию и интернализации растворимых белковых антигенов посредством своих рецепторов также может иметь важное значение для индукции Т-клеток. ГКГС-молекулы, как правило, ответственны за презентацию антигена Т-клеткам. При этом презентация антигена на молекулах ГКГС приводит к активации Т-клеток, что индуцирует их пролиферацию и дифференцировку в «вооруженные» эффекторные Т-клетки. Наиболее важной функцией эффекторных Т-клеток является уничтожение инфицированных клеток

цитотоксическими CD8⁺-Т-клетками и активация макрофагов Th1-клетками, что в совокупности создает опосредованный клетками (клеточный) иммунитет, и активация В-клеток и Th2-, и Th1-клетками, приводящая к образованию различных классов антител, в результате чего создается гуморальный иммунный ответ. Т-клетки распознают антиген посредством своих Т-клеточных рецепторов, которые не распознают антиген и не связываются с ним непосредственно, но вместо этого распознают короткие пептидные фрагменты, например, происходящих из патогена белковых антигенов, которые связываются с молекулами ГКГС на поверхностях других клеток.

Клеточный иммунитет/клеточный иммунный ответ: Клеточный иммунитет относится, как правило, к активации макрофагов, естественных клеток-киллеров (NK), антигенспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов и высвобождению различных цитокинов в ответ на антиген. В более общем смысле клеточный иммунитет основан не на антителах, а на активации клеток иммунной системы. Как правило, клеточный иммунный ответ может характеризоваться, например, активацией антигенспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов, которые способны индуцировать апоптоз клеток организма, экспонирующих эпитопы антигенов на своей поверхности, таких как инфицированные вирусом клетки, клетки с внутриклеточными бактериями или раковые клетки, экспонирующие опухолевые антигены; активацией макрофагов и естественных клеток-киллеров, позволяющей им разрушать патогены; и стимуляцией клеток к секреции различных цитокинов, которые влияют на функцию других клеток, участвующих в адаптивных иммунных ответах и врожденных иммунных ответах.

Гуморальный иммунитет/гуморальный иммунный ответ: Гуморальный иммунитет, как правило, относится к производству антител и необязательно к второстепенным процессам, которые могут сопровождать его. Гуморальный иммунный ответ, как правило, может характеризоваться, например, активацией Th2 и производством цитокинов, образованием зародышевого центра и переключением изотипа, созреванием аффинности и образованием клеток памяти. Гуморальный иммунитет, как правило, может относиться также к эффекторным функциям антител, включая нейтрализацию патогенов и токсинов, классическую активацию комплемента и стимулирование опсонинами фагоцитоза и элиминации патогенов.

Врожденная иммунная система: Врожденная иммунная система, которую называют также неспецифической иммунной системой, как правило, включает клетки и механизмы, которые неспецифически защищают хозяина от заражения другими организмами. Это означает, что клетки врожденной системы могут распознавать патогены и реагировать на них обычным путем, но, в отличие от адаптивной иммунной системы, она не обеспечивает долговременный или защитный иммунитет хозяину. Врожденная иммунная система может, например, активироваться лигандами патоген-ассоциированных распознающих молекулярные паттерны (PAMP) рецепторов, например, Толл-подобных рецепторов (TLR), или другими вспомогательными субстанциями, такими как липополисахариды, TNF-альфа, лиганд CD40 или цитокины, монокины, лимфокины, интерлейкины или хемокины, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IFN-альфа, IFN-бета, IFN-гамма, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-бета, TNF-альфа, факторы роста и hGH, лиганд человеческого Толл-подобного рецептора TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, лиганд мышиноного Толл-подобного рецептора TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 или TLR13, лиганд NOD-подобного рецептора, лиганд RIG-I-подобного рецептора, иммуностимулирующая

нуклеиновая кислота, иммуностимулирующая РНК (isРНК), CpG-ДНК, антибактериальный агент или противовирусный агент. Как правило, ответ врожденной иммунной системы включает рекрутинг иммунных клеток к областям заражения посредством производства химических факторов, включая специализированные химические медиаторы, которые называют цитокинами; активацию каскада комплемента; идентификацию и удаление чужих субстанций, присутствующих в органах, тканях, крови и лимфе, специализированными лейкоцитами; активацию адаптивной иммунной системы посредством процесса, известного как презентация антигена; и/или функционирование в качестве физического и химического барьера для инфекционных агентов.

Адьювант/адьювантный компонент: Адьювант или адьювантный компонент в наиболее широком смысле, как правило, представляет собой (например, фармакологический или иммунологический) агент или композицию, который/которая может модифицировать, например, усиливать, действие других агентов, таких как лекарственное средство или вакцина. Как правило, понятие в контексте изобретения относится к соединению или композиции, которое/которая служит в качестве носителя или вспомогательной субстанции для иммуногенов и/или других фармацевтических действующих веществ. Это понятие следует рассматривать в широком смысле, и оно относится к широкому спектру субстанций, которые могут повышать иммуногенность антигенов, включенных или вводимых совместно с рассматриваемым адьювантом. В контексте настоящего изобретения адьювант предпочтительно должен повышать специфический иммуногенный ответ действующих веществ, предлагаемых в настоящем изобретении. Как правило, «адьювант» или «адьювантный компонент» имеют одинаковое значение и их можно применять одновременно. Адьюванты можно подразделять, например, на вещества, усиливающие иммунный ответ, системы для введения антигенов или даже их комбинации.

Как правило, считается, что понятие «адьювант» не относится к агентам, которые сами обуславливают иммунитет. Адьюванты помогают иммунной системе неспецифически усиливать антигенспецифический иммунный ответ, например, путем повышения презентации антигена иммунной системе или индукции неспецифического врожденного иммунного ответа. Кроме того, адьювант может предпочтительно, например, модулировать антигенспецифический иммунный ответ путем сдвига, например, доминирующего антигенспецифического ответа на основе Th2 в сторону более антигенспецифического ответа на основе Th1 или наоборот. Таким образом, адьювант может успешно модулировать экспрессию/секрецию цитокинов, презентацию антигена, тип иммунного ответа и т.д.

Имуностимулирующая РНК: Имуностимулирующая РНК (isРНК) в контексте изобретения, как правило, может представлять собой РНК, которая обладает способностью индуцировать врожденный иммунный ответ. Обычно она не имеет открытой рамки считывания и, таким образом, не кодирует пептид-антиген или иммуноген, но вызывает врожденный иммунный ответ, например, посредством связывания со специфическим типом Толл-подобного рецептора (TLR) или другими приемлемыми рецепторами. Однако, очевидно, что и мРНК, имеющие открытую рамку считывания и кодирующие пептид/белок (например, антигенную функцию), также могут индуцировать врожденный иммунный ответ.

Антиген: В контексте настоящего изобретения понятие «антиген» относится, как правило, к субстанции, которая может распознаваться иммунной системой и которая обладает способностью запускать антигенспецифический иммунный ответ, например,

посредством образования антител и/или антигенспецифических Т-клеток, в качестве компонента адаптивного иммунного ответа. Антиген может представлять собой белок или пептид. В этом контексте первая стадия адаптивного иммунного ответа представляет собой активацию наивных антигенспецифических Т-клеток антигенпрезентирующими клетками. Это происходит в лимфоидных тканях и органах, через которые постоянно проходят наивные Т-клетки. Три типа клеток, которые могут служить в качестве антигенпрезентирующих клеток, представляют собой дендритные клетки, макрофаги и В-клетки. Каждая из указанных клеток выполняет отдельную функцию при вызывании иммунных ответов. Присутствующие в ткани дендритные клетки поглощают антигены посредством фагоцитоза и макропиноцитоза, и они могут стимулироваться инфекцией к миграции в местную лимфоидную ткань, где может происходить их дифференцировка в зрелые дендритные клетки. Макрофаги поглощают находящиеся в форме частиц антигены, такие как бактерии, и индуцируются инфекционными агентами к экспрессии молекул ГКГС класса II. Уникальная способность В-клеток к связыванию и интернализации растворимых белковых антигенов посредством своих рецепторов также может иметь важное значение для индукции Т-клеток. Презентация антигена на молекулах ГКГС приводит к активации Т-клеток, что индуцирует их пролиферацию и дифференцировку в «вооруженные» эффекторные Т-клетки. Наиболее важной функцией эффекторных Т-клеток является уничтожение инфицированных клеток цитотоксическими CD8⁺-Т-клетками и активация макрофагов ТН1-клетками, что в совокупности создает опосредованный клетками (клеточный) иммунитет, и активация В-клеток и ТН-2, и ТН1-клетками приводит к образованию различных классов антител, в результате чего создается гуморальный иммунный ответ. Т-клетки распознают антиген посредством своих Т-клеточных рецепторов, которые не распознают антиген и не связываются с ним непосредственно, но вместо этого распознают короткие пептидные фрагменты, например, происходящих из патогена белковых антигенов, которые связываются с молекулами ГКГС на поверхностях других клеток.

Т-клетки подразделяют на два основных класса, которые обладают различными эффекторными функциями. Два класса различаются по экспрессии расположенных на клеточной поверхности белков CD4 и CD8. Эти два типа Т-клеток отличаются по распознаваемому ими классу молекул ГКГС. Известно два класса молекул ГКГС, а именно, молекулы ГКГС класса I и ГКГС класса II, которые отличаются по их структуре и схеме экспрессии в тканях организма. CD4⁺-Т-клетки связываются с молекулой ГКГС класса II, а CD8⁺-Т-клетки с молекулой ГКГС класса I. Молекулы ГКГС класса I и ГКГС класса II имеют разное распределение среди клеток, что отражает различные эффекторные функции Т-клеток, которые их распознают. Молекулы ГКГС класса I презентуют пептиды цитозольного и ядерного происхождения, например, из патогенов, прежде всего вирусов, CD8⁺-Т-клеткам, которые дифференцируются в цитотоксичные Т-клетки, специализирующиеся в уничтожении любой клетки, которую они специфически распознают. Почти все клетки экспрессируют молекулы ГКГС класса I, хотя уровень конститутивной экспрессии варьируется от одного типа клеток к другому. Но молекулами ГКГС класса I презентуются не только патогенные пептиды из вирусов, ими презентуются также аутоантигены типа опухолевых антигенов. Молекулы ГКГС класса I связывают пептиды из белков, расщепляемых в цитозоле, и транспортируют в эндоплазматический ретикулум. CD8⁺-Т-клетки, которые распознают комплексы: ГКГС класса I : пептид на поверхности инфицированных клеток, специализируются в уничтожении любых клеток, презентующих чужеродные пептиды и тем самым

избавляют организм от клеток, зараженных вирусами и другими цитозольными патогенами. Основной функцией CD4⁺-Т-клеток (CD4⁺-Т-клеток-хелперов), которые распознают молекулы ГКГС класса II, является активация других эффекторных клеток иммунной системы. При этом молекулы ГКГС класса II в норме присутствуют на В-лимфоцитах, дендритных клетках и макрофагах, т.е. клетках, которые принимают участие в иммунных ответах, но отсутствуют на других типах клеток тканей. Макрофаги, например, обладают активностью в отношении уничтожения интравезикулярных патогенов, которых они несут, а В-клетки секретируют иммуноглобулины против чужеродных молекул. Молекулы ГКГС класса II не могут связываться с пептидами в эндоплазматическом ретикулуме, и при этом молекулы ГКГС класса II связывают пептиды из белков, расщепляемых в эндосомах. Они могут захватывать пептиды из патогенов, которые проникли в везикулярную систему макрофагов, или из антигенов, интернализированных незрелыми дендритными клетками, или иммуноглобулиновыми рецепторами В-клеток. Патогены, которые накапливаются в больших количествах внутри пузырьков макрофагов и дендритных клеток, имеют тенденцию стимулировать дифференцировку ТН1-клеток, в то время как внеклеточные антигены имеют тенденцию стимулировать производство ТН2-клеток. ТН1-клетки активируют бактерицидные свойства макрофагов и индуцируют производство В-клетками антител типа IgG, которые являются очень эффективными в отношении опсонизации внеклеточных патогенов, что приводит к их поглощению фагоцитами, в то время как ТН2-клетки инициируют гуморальный ответ, активируя секрецию IgM наивными В-клетками, и индуцируют производство обладающих слабой опсонизирующей способностью антител, таких как IgG1 и IgG3 (мышинные) и IgG2 и IgG4 (человеческие), а также IgA и IgE (мышинные и человеческие).

Эпитоп (который называют также «антигенной детерминантой»): В контексте настоящего изобретения Т-клеточные эпитопы или части белков могут содержать фрагменты, предпочтительно имеющие длину от примерно 6 до примерно 20 аминокислот или даже более, например, фрагменты, процессируемые и презентуемые молекулами ГКГС класса I, предпочтительно имеют длину от примерно 8 до примерно 10 аминокислот, например, 8, 9 или 10, (или даже 11 или 12 аминокислот), или фрагменты, процессируемые и презентуемые молекулами ГКГС класса II, предпочтительно имеют длину примерно 13 аминокислот или более, например, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или даже большее количество аминокислот, при этом указанные фрагменты можно выбирать из любой части аминокислотной последовательности. Указанные фрагменты, как правило, распознаются Т-клетками в форме комплекса, состоящего из пептидного фрагмента и молекулы ГКГС.

В-клеточные эпитопы, как правило, представляют собой фрагменты, локализованные на внешней поверхности (нативных) белковых или пептидных антигенов, указанных в настоящем описании, предпочтительно состоящих из 5-15 аминокислот, более предпочтительно состоящих из 5-12 аминокислот, еще более предпочтительно состоящих из 6-9 аминокислот, которые могут распознаваться антителами, т.е. в их нативной форме.

Такие эпитопы белков или пептидов можно, кроме того, выбирать из любых указанных вариантов таких белков или пептидов. В этом контексте антигенные детерминанты могут представлять собой конформационные или прерывистые эпитопы, состоящие из сегментов указанных в настоящем описании белков или пептидов, которые расположены с перерывами в аминокислотной последовательности белков или пептидов, указанных в настоящем описании, но которые находятся вблизи друг от друга в

трехмерной структуре, или непрерывные или линейные эпитопы, состоящие из одной полипептидной цепи.

Вакцина: Под вакциной, как правило, понимают предназначенный для профилактики или терапии продукт, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенную функцию. Антиген или антигенная функция может стимулировать адаптивную иммунную систему организма вырабатывать адаптивный иммунный ответ.

Образующая антиген мРНК: Образующая антиген мРНК в контексте изобретения может, как правило, представлять собой мРНК, имеющую по меньшей мере одну открытую рамку считывания, которая может транслироваться клеткой или организмом, образованной/образованным указанной мРНК. Продуктом указанной трансляции является пептид или белок, который может действовать в качестве антигена, предпочтительно иммуногена. Продукт может представлять собой также слитый белок, состоящий более чем из одного иммуногена, например, слитый белок, который состоит из двух или большего количества эпитопов, пептидов или белков, происходящих из одинаковых или различных вирусных белков, при этом эпитопы, пептиды или белки могут быть связаны линкерными последовательностями.

Би-/полицистронная мРНК: мРНК, как правило, может иметь две (бицистронная) или большее количество (полицистронная) открытых рамок считывания (ОРС). В этом контексте открытая рамка считывания представляет собой последовательность, состоящую из нескольких нуклеотидных триплетов (кодонов), которые могут транслироваться в пептид или белок. Трансляция указанной мРНК приводит к образованию двух (бицистронная мРНК) или большего количества (полицистронная мРНК) различных продуктов трансляции (при условии, что ОРС не являются идентичными). Для экспрессии в эукариотических организмах указанные мРНК могут, например, содержать последовательность участка внутренней посадки (связывания) рибосомы (IRES).

Структура 5'-кэпа: 5'-кэп, как правило, представляет собой модифицированный нуклеотид, прежде всего гуаниновый нуклеотид, добавленный к 5'-концу молекулы мРНК. Предпочтительно 5'-кэп добавляют, используя 5'-5'-трифосфатную связь (его обозначают также как m7GpppN).

Другими примерами структур 5'-кэпа являются глицерил, инвертированная дезоксигруппа (фрагмент), лишенная азотистого основания, 4',5'-метиленовой нуклеотид, 1-(бета-D-эритрофуранозильный)нуклеотид, 4'-тионуклеотид, карбоциклический нуклеотид, 1,5-ангидрогекситольный нуклеотид, L-нуклеотиды, альфа-нуклеотид, нуклеотид с модифицированным основанием, треопентофуранозильный нуклеотид, ациклический 3',4'-секонуклеотид, ациклический 3,4-дигидроксипентильный нуклеотид, ациклический 3,5-дигидроксипентильный нуклеотид, 3'-3'-инвертированный нуклеотидный фрагмент, 3'-3'-инвертированный лишенный азотистого основания фрагмент, 3'-2'-инвертированный нуклеотидный фрагмент, 3'-2'-инвертированный лишенный азотистого основания фрагмент, 1,4-бутандиолфосфатный, 3'-фосфороамидатный, гексилфосфатный, аминоксифосфатный, 3'-фосфатный, 3'-фосфоротиоатный, фосфородитиоатный или связанный мостиком или несвязанный мостиком метилфосфонатный фрагмент. Указанные модифицированные структуры 5'-кэпа в контексте настоящего изобретения можно применять для модификации последовательности мРНК, предлагаемой в настоящем изобретении. Другие модифицированные структуры 5' кэпа, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, представляют собой CAP1 (метилирование рибозы соседнего с m7GpppN нуклеотида), CAP2 (метилирование рибозы 2-ого нуклеотида,

расположенного по ходу транскрипции относительно m7GpppN), CAP3 (метилирование рибозы 3-его нуклеотида, расположенного по ходу транскрипции относительно m7GpppN), CAP4 (метилирование рибозы 4-ого нуклеотида, расположенного по ходу транскрипции относительно m7GpppN), ARCA (аналог кэп-структуры с правильной ориентацией, модифицированный ARCA (например, модифицированный фосфотиоатом ARCA), инозин, N1-метилгуанозин, 2'-фторгуанозин, 7-дезагуанозин, 8-оксогуанозин, 2-аминогуанозин, ЗНК-гуанозин и 2-азидогуанозин.

Фрагменты белков: «Фрагменты» белков или пептидов в контексте настоящего изобретения могут, как правило, содержать последовательность белка или пептида, указанного в настоящем описании, которая касательно ее аминокислотной последовательности (или кодирующей ее молекулы нуклеиновой кислоты) укорочена на N-конце и/или C-конце по сравнению с аминокислотной последовательностью исходного (нативного) белка (или кодирующей ее молекулой нуклеиновой кислоты). Таким образом, указанное укорочение может иметь место либо на аминокислотном уровне или соответственно на уровне нуклеиновой кислоты. Таким образом, понятие «идентичность последовательности» касательно такого указанного в настоящем описании фрагмента может предпочтительно относиться к полному белку или пептиду, указанному в настоящем описании, или к полной (кодирующей) молекуле нуклеиновой кислоты указанного белка или пептида.

Кроме того, фрагменты белков или пептидов в контексте настоящего изобретения могут содержать последовательность белка или пептида, указанного в настоящем описании, которая состоит, например, по меньшей мере из 5 аминокислот, предпочтительно по меньшей мере из 6 аминокислот, предпочтительно по меньшей мере из 7 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере из 8 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 9 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 10 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 11 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 12 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 13 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 14 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 15 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 16 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 17 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 18 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 19 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 20 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 25 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 30 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 35 аминокислот, еще более предпочтительно по меньшей мере из 50 или наиболее предпочтительно по меньшей мере из 100 аминокислот. Например, указанный фрагмент может состоять из от примерно 6 до примерно 20 или даже более аминокислот, например, фрагменты, которые процессируются и презентуются молекулами ГКГС класса I, предпочтительно имеют от примерно 8 до примерно 10 аминокислот, например, 8, 9 или 10, (или даже 6, 7, 11 или 12 аминокислот), или фрагменты, которые процессируются и презентуются молекулами ГКГС класса II, предпочтительно имеют примерно 13 аминокислот или более, например, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или даже большее количество аминокислот, при этом указанные фрагменты можно выбирать из любой части аминокислотной последовательности. Указанные фрагменты, как правило, распознаются Т-клетками в форме комплекса, состоящего из пептидного фрагмента и молекулы ГКГС, т.е. фрагменты, как правило, не распознаются в их нативной форме. Фрагменты белков или пептидов могут содержать по меньшей мере один эпитоп

указанных белков или пептидов. Кроме того, под фрагментами белка можно понимать также домены белка, типа внеклеточного домена, внутриклеточного домена или трансмембранного домена, и укороченные или усеченные версии белка.

Варианты белков: Как следует из контекста настоящего изобретения, можно
5 создавать «варианты» белков или пептидов, имеющие аминокислотную последовательность, которая отличается от исходной последовательности наличием одной или большего количества мутации(й), например, замен, инсерций и/или делеций одной или большего количества аминокислот. Предпочтительно указанные фрагменты и/или варианты обладают той же самой биологической функцией или специфической
10 активностью, что и полноразмерный нативный белок, например, присущей ему специфической антигенной характеристикой. Как следует из контекста настоящего изобретения, «варианты» белков или пептидов, могут содержать консервативную(ые) аминокислотную(ые) замену(ы) по сравнению с их нативной, т.е. не подвергнутой мутации физиологической последовательностью. Такие аминокислотные
15 последовательности, а также, в частности, кодирующие их нуклеотидные последовательности, подпадают под указанное в настоящем описании понятие «варианты». Замены, при которых заменяют друг на друга аминокислоты, относящиеся к одному и тому же классу, называют консервативными заменами. В частности, такими классами являются аминокислоты, имеющие алифатические боковые цепи, положительно
20 или отрицательно заряженные боковые цепи, ароматические группы в боковых цепях, или аминокислоты, боковые цепи которых могут входить в водородные мостики, например, боковые цепи которых несут гидроксильную функцию. Это означает, например, что аминокислоту, имеющую полярную боковую цепь, заменяют на другую аминокислоту, также имеющую полярную боковую цепь, или, например, аминокислоту,
25 характеризующуюся гидрофобной боковой цепью, заменяют на другую аминокислоту, также имеющую гидрофобную боковую цепь (например, серин (треонин) на треонин (серин) или лейцин (изолейцин) на изолейцин (лейцин)). Можно осуществлять инсерции и замены, прежде всего, в тех положениях в последовательности, которые не приводят к модификации трехмерной структуры или не влияют на связывающую область.
30 Модификации в трехмерной структуре, обусловленные инсерцией(ями) или делецией (ями) можно легко определять, например, с использованием CD-спектров (спектры кругового дихроизма) (Urry, Absorption, Circular Dichroism и ORD of Polypeptides, в: Modern Physical Methods in Biochemistry, под ред. Neuberger и др., изд-во Elsevier, Amsterdam, 1985).

35 «Вариант» белка или пептида может иметь по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентичных аминокислот на сегменте, состоящем из 10, 20, 30, 50, 75 или 100 аминокислот такого белка или пептида.

Кроме того, варианты белков или пептидов, как указано в настоящем описании, которые могут кодироваться молекулой нуклеиновой кислоты, могут содержать также
40 такие последовательности, в которых нуклеотиды кодирующей нуклеотидной последовательности обменены в соответствии с вырожденностью генетического кода, что не приводит к изменению соответствующей аминокислотной последовательности белка или пептида, т.е. аминокислотная последовательность или по меньшей мере ее часть могут не отличаться от исходной последовательности одной мутацией или
45 большим количеством мутаций в указанном выше смысле.

Идентичность последовательностей: Для определения процента идентичности двух последовательностей, например, нуклеотидных последовательностей или аминокислотных последовательностей, указанных в настоящем описании,

предпочтительно аминокислотных последовательностей, кодируемых молекулой нуклеиновой кислоты, которая входит в полимерный носитель как указано в настоящем описании, или самих аминокислотных последовательностей, последовательности можно выравнивать для последующего сравнения друг с другом. Так, например, положение в первой последовательности можно сравнивать с соответствующим положением во второй последовательности. Если положение в первой последовательности занято тем же компонентом (остатком), который находится в этом положении во второй последовательности, то две последовательности являются идентичными в этом положении. Если это не имеет места, то последовательности различаются в этом положении. Если во второй последовательности присутствуют инсерции по сравнению с первой последовательностью, то можно встраивать бреши в первую последовательность, что позволяет продолжать осуществление сравнительного анализа. Если во второй последовательности имеются делеции по сравнению с первой последовательностью, то можно встраивать бреши во вторую последовательность, что позволяет продолжать осуществление сравнительного анализа. Таким образом, процент идентичности двух последовательностей является функцией количества идентичных положений, деленной на общее количество положений, включая те положения, которые заняты только в одной последовательности. Процент идентичности двух последовательностей можно определять с помощью математического алгоритма. Предпочтительным примером математического алгоритма, который можно применять, является (но, не ограничиваясь только им) алгоритм, предложенный Karlin и др., PNAS USA, 90, 1993, сс. 5873-5877 или Altschul и др., Nucleic Acids Res., 25, 1997, сс. 3389-3402. Указанный алгоритм входит в программу BLAST. С помощью этой программы можно идентифицировать последовательности, обладающие конкретной степенью идентичности с последовательностями, предлагаемыми в настоящем изобретении.

Производное белка или пептида: Под производным пептида или белка, как правило, понимают молекулу, которую получают из другой молекулы, такой как указанный пептид или белок. Под понятие «производное» пептида или белка подпадают также слияния, содержащие пептид или белок, применяемые согласно настоящему изобретению. Например, слияние содержит метку, такую, например, как эпитоп, например, эпитоп FLAG или эпитоп V5. Например, эпитоп представляет собой эпитоп FLAG. Такую метку используют, например, для очистки слитого белка.

Моноцистронная мРНК: Моноцистронная мРНК, как правило, может представлять собой мРНК, предпочтительно мРНК, которая содержит только одну открытую рамку считывания. В этом контексте открытая рамка считывания представляет собой последовательность, состоящую из нескольких нуклеотидных триплетов (кодонов), которые могут транслироваться в пептид или белок.

Нуклеиновая кислота: Понятие «нуклеиновая кислота» обозначает либо ДНК-, либо РНК-молекулу и является синонимом понятия «полинуклеотид». В контексте настоящего описания, если понятие относится к нуклеиновой кислоте или нуклеотидной последовательности, кодирующей конкретный белок и/или пептид, то указанная нуклеиновая кислота или нуклеотидная последовательность соответственно предпочтительно содержит также регуляторные последовательности, обеспечивающие в соответствующем хозяине, например, человеку, ее экспрессию, т.е. транскрипцию и/или трансляцию нуклеотидной последовательности, кодирующей конкретный белок или пептид.

Пептид: Пептид представляет собой полимер, состоящий из аминокислотных мономеров. Как правило, мономеры сцеплены пептидными связями. Понятие «пептид»

не ограничено длиной полимерной цепи аминокислот. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пептид может, например, содержать менее 50 мономерных звеньев. Более длинные пептиды, которые называют также полипептидами, как правило, имеют от 50 до 600 мономерных звеньев, более конкретно от 50 до 300 мономерных звеньев.

Фармацевтически эффективное количество: Под фармацевтически эффективным количеством в контексте изобретения, как правило, понимают количество, достаточное для того, чтобы индуцировать иммунный ответ.

Белок: Белок, как правило, состоит из одного или нескольких пептидов и/или полипептидов, уложенных в 3-мерную структуру, облегчающую биологическую функцию.

Поли(С)-последовательность: Поли (С)-последовательность, как правило, представляет собой длинную последовательность, состоящую из цитозиновых нуклеотидов, как правило, содержащую от примерно 10 до примерно 200 цитозиновых нуклеотидов, предпочтительно от примерно 10 до примерно 100 цитозиновых нуклеотидов, более предпочтительно от примерно 10 до примерно 70 цитозиновых нуклеотидов или еще более предпочтительно от примерно 20 до примерно 50 или даже от примерно 20 до примерно 30 цитозиновых нуклеотидов. Поли(С)-последовательность предпочтительно может располагаться в 3'-направлении относительно кодирующей области, содержащейся в нуклеиновой кислоте.

Поли(А)-хвост: Поли(А)-хвост, который называют также «3'-поли(А)-хвостом», как правило, представляет собой длинную последовательность аденозиновых нуклеотидов, содержащую вплоть до примерно 400 аденозиновых нуклеотидов, например, от примерно 25 до примерно 400, предпочтительно от примерно 50 до примерно 400, более предпочтительно от примерно 50 до примерно 300, еще более предпочтительно от примерно 50 до примерно 250, наиболее предпочтительно от примерно 60 до примерно 250 аденозиновых нуклеотидов, добавленную к 3'-концу РНК.

Стабилизированная нуклеиновая кислота: Стабилизированная нуклеиновая кислота, как правило, содержит модификацию, повышающую устойчивость к расщеплению *in vivo* (например, расщеплению экзо- или эндонуклеазой) и/или расщеплению *ex vivo* (например, в процессе производства до введения вакцины, например, в процессе приготовления раствора вакцины, предназначенного для введения). Стабилизацию РНК можно обеспечивать, например, с использованием 5'-кэп-структуры, поли(А)-хвоста или любой другой модификации UTR. Ее можно обеспечивать также путем модификации каркаса или модификации содержания G/C в нуклеиновой кислоте. В контексте настоящего изобретения можно рассматривать и различные другие методы, известные в данной области.

Носитель/полимерный носитель: В контексте изобретения носитель, как правило, может представлять собой соединение, которое облегчает транспорт и/или включение в комплекс другого соединения. Указанный носитель может образовывать комплекс с указанным другим соединением. Полимерный носитель, как правило, представляет собой носитель, образующий полимер.

Катионный компонент: Понятие «катионный компонент», как правило, относится к заряженной молекуле, которая является положительно заряженной (катион) при значении pH, составляющем, как правило, от 1 до 9, предпочтительно при значении pH, равном или ниже 9 (например, от 5 до 9), равном или ниже 8 (например, от 5 до 8), равном или ниже 7 (например, от 5 до 7), наиболее предпочтительно при физиологических значениях pH, например, от 7,3 до 7,4. Таким образом, катионный

пептид, белок или полимер, который является положительно заряженным в физиологических солевых условиях в клетке, прежде всего в физиологических условиях *in vivo*. Катионный пептид или белок предпочтительно содержит большее количество катионных аминокислот, например, большее количество Arg, His, Lys или Orn, чем других аминокислотных остатков (в частности больше катионных аминокислот, чем анионных аминокислотных остатков типа Asp или Glu), или содержит блоки, образованные главным образом катионными аминокислотными остатками. Понятие «катионный» может обозначать также «поликатионные» компоненты.

Наполнитель: Агент, например, носитель, который можно, как правило, применять в фармацевтической композиции или вакцине для облегчения введения индивидууму компонентов фармацевтической композиции или вакцины.

3'-нетранслируемая область (3'UTR): 3'UTR, как правило, является частью мРНК, локализованной между кодирующей белок областью (т.е. открытой рамкой считывания) и поли(А)-последовательностью мРНК. 3'UTR мРНК не транслируется в аминокислотную последовательность. Последовательность 3'UTR, как правило, кодируется геном, который транскрибируется в соответствующую мРНК в процессе экспрессии гена. Геномная последовательность сначала транскрибируется в незрелую мРНК, которая содержит необязательные интроны. Незрелая мРНК затем дополнительно процессируется с образованием зрелой мРНК в процессе созревания.

Указанный процесс созревания включает стадии 5'-кэпирования, сплайсинга незрелой мРНК с вырезанием необязательных интронов и модификаций 3'-конца, таких как подиаденилирование 3'-конца незрелой мРНК, и необязательные расщепления эндо-/или экзонуклеазами и т.д. В контексте настоящего изобретения 3'UTR соответствует последовательности зрелой мРНК, которая расположена с 3'-стороны стоп-кодона кодирующей белок области, предпочтительно непосредственно примыкает с 3'-стороны к стоп-кодону кодирующей белок области, и которая простирается до 5'-стороны поли(А)-последовательности, предпочтительно до нуклеотида, непосредственно примыкающего к 5'-концу поли(А)-последовательности. Понятие «соответствует» означает, что последовательность 3'UTR может представлять собой последовательность РНК, такую как последовательность мРНК, указанную при определении последовательности 3'UTR, или последовательность ДНК, которая соответствует указанной последовательности РНК. В контексте настоящего изобретения понятие «3'UTR гена», например, «3'UTR гена альбумина», означает последовательность, которая соответствует 3'UTR зрелой мРНК, полученной из указанного гена, т.е. мРНК, полученной путем транскрипции гена и созревания незрелой мРНК. Понятие «3'UTR гена» включает последовательность ДНК и последовательность РНК 3'UTR.

5'-нетранслируемая область (5'UTR): Под 5'UTR, как правило, понимают конкретный сегмент матричной РНК (мРНК). Она локализована на 5'-конце открытой рамки считывания мРНК. Как правило, 5'UTR начинается с сайта инициации транскрипции и закачивается одним нуклеотидом, расположенным непосредственно перед стартовым кодоном открытой рамки считывания. 5'UTR может содержать элементы, предназначенные для контроля генной экспрессии, так называемые регуляторные элементы. Указанные регуляторные элементы могут представлять собой, например, сайты связывания рибосом или 5'-концевой олигопиримидиновый тракт. 5'UTR может подвергаться посттранскрипционным модификациям, например, путем добавления 5'-кэпа. В контексте настоящего изобретения 5'UTR соответствует последовательности зрелой мРНК, локализованной между 5'-кэпом и стартовым кодоном. Предпочтительно 5'UTR соответствует последовательности, которая простирается от нуклеотида,

расположенного с 3'-стороны 5'-кэпа, предпочтительно от нуклеотида, непосредственно примыкающего с 3'-стороны к 5'-кэпу, до нуклеотида, расположенного с 5'-стороны стартового кодона кодирующей белок области, предпочтительно до нуклеотида, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к стартовому кодону кодирующей белок области. Нуклеотид, непосредственно примыкающий с 3'-стороны к 5'-кэпу зрелой мРНК, как правило, соответствует сайту инициации транскрипции. Понятие «соответствует» означает, что последовательность 5'UTR может представлять собой последовательность РНК, такую как последовательность мРНК, указанная при определении последовательности 5'UTR, или последовательность ДНК, которая соответствует указанной последовательности РНК. В контексте настоящего изобретения понятие «5'UTR гена», например, «5'UTR TOP-гена», обозначает последовательность, которая соответствует 5'UTR зрелой мРНК, полученной из этого гена, т.е. мРНК, полученной путем транскрипции гена и созревания незрелой мРНК. Понятие «5'UTR гена» включает последовательность ДНК и последовательность РНК 5'UTR.

5'-концевой олигопиримидиновый тракт (ТОР): 5'-концевой олигопиримидиновый тракт (ТОР), как правило, обозначает сегмент пиримидиновых нуклеотидов, локализованный в 5'-концевой области молекулы нуклеиновой кислоты, например, в 5'-концевой области некоторых молекул мРНК или в 5'-концевой области функционального элемента, например, транскрибируемой области некоторых генов. Последовательность начинается с цитидина, который, как правило, соответствует сайту инициации транскрипции, и за которым следует сегмент, как правило, состоящий примерно из 3-30 пиримидиновых нуклеотидов. Например, ТОР может содержать 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или даже большее количество нуклеотидов. Пиримидиновый сегмент и, следовательно, 5'-ТОР, заканчивается одним нуклеотидом, примыкающим с 5'-стороны к первому пуриновому нуклеотиду, расположенному в прямом направлении относительно ТОР. Матричную РНК, которая содержит 5'-концевой олигопиримидиновый тракт, часто обозначают как ТОР-мРНК. Таким образом, гены, из которых получают указанные матричные РНК, обозначают как ТОР-гены. Последовательности ТОР, например, обнаружены в генах и мРНК, кодирующих пептидные факторы элонгации и рибосомные белки.

ТОР-мотив: В контексте настоящего изобретения ТОР-мотив обозначает нуклеотидную последовательность, которая соответствует 5'-ТОР, описанному выше. Таким образом, ТОР-мотив в контексте настоящего изобретения предпочтительно обозначает состоящий из пиримидиновых нуклеотидов сегмент длиной 3-30 нуклеотидов. Предпочтительно ТОР-мотив состоит по меньшей мере из 3 пиримидиновых нуклеотидов, предпочтительно по меньшей мере 4 пиримидиновых нуклеотидов, предпочтительно по меньшей мере 5 пиримидиновых нуклеотидов, более предпочтительно по меньшей мере 6 нуклеотидов, более предпочтительно по меньшей мере 7 нуклеотидов, наиболее предпочтительно по меньшей мере 8 пиримидиновых нуклеотидов, при этом сегмент пиримидиновых нуклеотидов предпочтительно начинается на его 5'-конце с цитозинового нуклеотида. В ТОР-генах и ТОР-мРНК ТОР-мотив предпочтительно начинается на его 5'-конце с сайта инициации транскрипции и заканчивается одним нуклеотидом, примыкающим с 5'-стороны к первому пуриновому остатку в указанном гене или мРНК. В контексте настоящего изобретения ТОР-мотив предпочтительно локализован на 5'-конце последовательности, которая представляет собой 5'UTR, или на 5'-конце последовательности, которая кодирует 5'UTR. Таким образом, в контексте настоящего изобретения сегмент из 3 или большего количества

пиримидиновых нуклеотидов предпочтительно называют «ТОР-мотивом», если сегмент локализован на 5'-конце соответствующей последовательности, такой как мРНК, предлагаемая в изобретении, 5'UTR-элемент мРНК, предлагаемой в изобретении, или нуклеотидная последовательность, которая происходит из 5'UTR ТОР-гена, указанного в настоящем описании. Другими словами, сегмент, состоящий из 3 или большего количества пиримидиновых нуклеотидов, который не локализован на 5'-конце 5'UTR или 5'UTR-элемента, но локализован где-либо внутри 5'UTR или 5'UTR-элемента, предпочтительно не обозначают как «ТОР-мотив».

ТОР-ген: ТОР-гены, как правило, характеризуются присутствием 5'-концевого олигопиримидинового тракта. Кроме того, большинство ТОР-генов характеризуются связанной с ростом регуляцией трансляции. Однако известны также ТОР-гены с тканеспецифической регуляцией трансляции. Как указано выше, 5'UTR ТОР-гена соответствует последовательности 5'UTR зрелой мРНК, происходящей из ТОР-гена, которая предпочтительно простирается от нуклеотида, примыкающего с 3'-стороны к 5'-кэпу, до нуклеотида, примыкающего с 5'-стороны к стартовому коdonу. 5'UTR ТОР-гена, как правило, не содержит никаких стартовых кодонов, предпочтительно не содержит расположенных в обратном направлении AUG (uAUG) или расположенных в обратном направлении открытых рамок считывания (uORC). В данном контексте под расположенными в обратном направлении AUG и расположенными в обратном направлении открытыми рамками считывания, как правило, понимают AUG и открытые рамки считывания, которые находятся в 5'-направлении относительно стартового кодона (AUG) открытой рамки считывания, которая должна транслироваться. 5'UTR ТОР-генов, как правило, являются относительно короткими. Длины 5'UTR ТОР-генов могут варьироваться от 20 нуклеотидов вплоть до 500 нуклеотидов и, как правило, они содержат менее чем примерно 200 нуклеотидов, предпочтительно менее чем примерно 150 нуклеотидов, более предпочтительно менее чем примерно 100 нуклеотидов. Примерами 5'UTR ТОР-генов в контексте настоящего изобретения являются нуклеотидные последовательности, простирающиеся от нуклеотида в положении 5 до нуклеотида, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к стартовому коdonу (например, ATG), указанные последовательности представлены в SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 14221-1363 заявки на патент PCT/EP 2012/002448 WO 2013/143700 или представляют собой их гомологи или варианты, описание указанных документов включено в настоящее описание в качестве ссылки. В этом контексте наиболее предпочтительным фрагментом 5'UTR ТОР-гена является 5'UTR ТОР-гена без 5'TOP-мотива. Понятие «5'UTR ТОР-гена» предпочтительно относится к 5'UTR встречающегося в естественных условиях ТОР-гена.

Фрагмент нуклеотидной последовательности, прежде всего мРНК: Фрагмент нуклеотидной последовательности состоит из непрерывного сегмента нуклеотидов, который соответствует непрерывному сегменту нуклеотидов в полноразмерной нуклеотидной последовательности, которая является основой для нуклеотидной последовательности фрагмента, который соответствует по меньшей мере 20%, предпочтительно по меньшей мере 30%, более предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, еще более предпочтительно по меньшей мере 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90% полноразмерной нуклеотидной последовательности. В контексте настоящего изобретения указанный фрагмент предпочтительно представляет собой функциональный фрагмент полноразмерной нуклеотидной последовательности.

Вариант нуклеотидной последовательности, прежде всего мРНК: Вариант нуклеотидной последовательности относится к варианту нуклеотидной последовательности, которая образует основу нуклеотидной последовательности. Например, вариант нуклеотидной последовательности может характеризоваться одной или несколькими нуклеотидными делециями, инсерциями, добавлениями и/или заменами по сравнению с нуклеотидной последовательностью, из которой вариант происходит. Предпочтительно вариант нуклеотидной последовательности идентичен по меньшей мере на 40%, предпочтительно по меньшей мере 50%, более предпочтительно по меньшей мере 60%, более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере 90%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% нуклеотидной последовательности, из которой вариант происходит. Предпочтительно вариант представляет собой функциональный вариант. «Вариант» нуклеотидной последовательности может иметь по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентичных нуклеотидов в сегменте, состоящем из 10, 20, 30, 50, 75 или 100 нуклеотидов указанной нуклеотидной последовательности.

Гомолог нуклеотидной последовательности: Понятие «гомолог» нуклеотидной последовательности относится к последовательностям других видов относительно конкретной последовательности. Наиболее предпочтительно нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность человеческого происхождения и поэтому предпочтительно, чтобы гомолог представлял собой гомолог человеческой нуклеотидной последовательности.

Струйная инъекция: Понятие «струйная инъекция» в контексте настоящего описания относится к методу безыгольной инъекции, при котором жидкость, содержащая по меньшей мере одну предлагаемую в изобретения последовательность мРНК и необязательно дополнительные приемлемые эксципиенты, принудительно пропускают через отверстие, создавая тем самым ультратонкую жидкую струю под высоким давлением, которая обладает способностью проникать через кожу млекопитающего и, в зависимости от условий инъекции, в подкожную ткань или мышечную ткань. В принципе жидкая струя образует отверстие в коже, через которую жидкая струя проходит в ткань-мишень. Предпочтительно струйную инъекцию применяют для внутрикожной, подкожной или внутримышечной инъекции мРНК, предлагаемой в изобретении. В предпочтительном варианте осуществления изобретения струйную инъекцию применяют для внутримышечной инъекции последовательности мРНК, предлагаемой в изобретении. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения струйную инъекцию применяют для внутрикожной инъекции последовательности мРНК, предлагаемой в изобретении.

В основу настоящего изобретения положены неожиданно установленные данные о том, что последовательность мРНК, содержащая кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), индуцирует антигенспецифические иммунные ответы и тем самым предупреждает или по меньшей мере минимизирует инфекции, вызываемые респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ). При создании изобретения совершенно неожиданно было установлено, что последовательность мРНК индуцирует по меньшей мере такие же иммунные ответы, что и вакцины на основе инактивированного РСВ, которые состоят из цельного вируса. Еще более неожиданно при создании изобретения было установлено, что предлагаемая в изобретении последовательность мРНК, кодирующая антигенный белок РСВ, индуцирует антигенспецифические CD8⁺-Т-клетки

в отличие от вакцины на основе инактивированного РСВ. Кроме того, на модели контрольного заражения РСВ хлопковых крыс установлено, что вирусные титры в носу и легких вакцинированных мРНК животных оказались существенно более низкими по сравнению с животными, которых вакцинировали вакцинами на основе инактивированного РСВ-вируса. Касательно безопасности при создании изобретения было продемонстрировано, что при применении вакцины на основе мРНК РСВ не обнаружено никакого опосредуемого вакциной усиления заболевания в плане легочной патологии по сравнению с вакциной на основе инактивированного формалином вируса. Кроме того, при создании изобретения неожиданно было установлено, что уже только одной единичной вакцинации предлагаемой в изобретении последовательности мРНК оказалось достаточно для вызывания иммунного ответа против вводимого(ых) антигена(ов). В частности, было установлено, что одно единственное введение, предпочтительно путем внутрикожной или внутримышечной инъекции предлагаемой в изобретении мРНК, обладало высокой эффективностью в отношении снижения вирусных титров в легких после контрольного заражения РСВ-вирусом.

В целом, предлагаемая в изобретении последовательность мРНК, содержащая кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), может представлять собой эффективную и безопасную вакцину, прежде всего для младенцев, пожилых людей и пациентов с ослабленным иммунитетом.

В этом контексте наиболее предпочтительно, чтобы предлагаемая в изобретении последовательность мРНК содержала кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матричного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное.

Согласно первому объекту настоящего изобретения кодирующая область предлагаемой в изобретении мРНК может присутствовать в виде моно-, би- или даже полицистронной мРНК, т.е. мРНК, которая несет кодирующую(ие) последовательность(и) одного, двух или большего количества белков или пептидов. Указанные кодирующие последовательности би- или даже полицистронных мРНК могут разделяться по меньшей мере одной последовательностью участка внутренней посадки (связывания) рибосомы (IRES), например, указанной в настоящем описании, или сигнальными пептидами, которые индуцируют расщепление образовавшегося полипептида, который содержит несколько белков или пептидов.

Согласно первому объекту настоящего изобретения кодирующая область предлагаемой в изобретении мРНК содержит кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матричного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ), или его фрагмент, вариант или производное. В наиболее предпочтительном варианте осуществления первого объекта изобретения предлагаемая в изобретении последовательность мРНК содержит кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F, нуклеопротеина N или белка M2-1 респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмента, варианта или

производного.

В этом контексте аминокислотную последовательность по меньшей мере одного антигенного пептида или белка можно выбирать из любого пептида или белка, происходящего из слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матричного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 любого изолята РСВ или из любого созданного с помощью синтеза пептида или белка РСВ, или из любого его фрагмента, варианта или производного.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения полноразмерный белок слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матричного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ) кодируется кодирующей областью, содержащейся в предлагаемой в изобретении мРНК.

В этом контексте наиболее предпочтительными являются полноразмерный белок из слитого белка F и нуклеопротеина N. Кроме того, наиболее предпочтительным является мутант белка F с делецией цитоплазматического хвоста. Примером такого делеционного мутанта является белок «длинного» штамма RSV-Fdel 554-574, описанный у Oomens и др., J. Virol. 80(21), 2006, сс. 10465-10477).

В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления фрагмент, содержащий по меньшей мере один эпитоп слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матричного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ) кодируется кодирующей областью, содержащейся в предлагаемой в изобретении мРНК.

Наиболее предпочтительными являются аминокислотные последовательности «длинного» штамма РСВ (ATCC VR-26), имеющие регистрационный номер NCBI № AY911262:

Слитый белок F «длинного» штамма РСВ ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 1:

```

MELPILKANA ITTILAAVTF CFASSQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE
LSNIKENKCN GTDAKVKLIN QELDKYKNAV TELQLLMQST TAANNRARRRE LPRFMNYTLN
NTKKTNVTLS KKRKRRFLGF LLGVGSAIAS GIAVSKVLHL EGEVNKIKSA LLSTNKAVVS
LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPVKNQ SCRISNIETV IEFQQKNRNL LEITREFSVN
AGVTTVPSTY MLTNSSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV
VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV
QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT
KCTASNKNRG IIKTFSNQCD YVSNKGVDTV SVGNTRYLVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP
LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELLHHVNAGK STTNIMITTI IIVIIVILLS
LIAVGLLLYC KARSTPVTLS KDQLSGINNI AFSN

```

Гликопротеин G «длинного» штамма РСВ ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 2:

MSKNKDQRTA KTLEKTWDTL NHLLFISSGL YKLNLSIAQ ITLSILAMII STSLIITAI
 FIASANHKVT LTTAIQDAT SQIKNTTPTY LTQDPQLGIS FSNLSEITSQ TTTILASTTP
 GVKSNLQPTT VKTKNTTTTQ TQPSKPTTKQ RQNKPPNKPN NDFHFEVFNF VPCSICSNNP
 TCWAICKRIP NKKPGKTTT KPTKPTFKT TKKDLKPQTT KPKEVPTTKP TEEPINTTK
 5 TNITTTLLTN NTTGNPKLTS QMETFHSTSS EGNLSPSQVS TTSEHPSQPS SPPNTRQ

Короткий гидрофобный белок SH «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 3:

MENTSITIEF SSKFWPYFTL IHMITTIISL LIIISIMTAI LNKLC EYNVF HNKTFELPRA RVNT

10 Матриксный белок M «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 4:

METYVNKLHE GSTYTA AVQY NVLEKDDDDPA SLTIWVPMFQ SSMPADLLIK ELANVNILVK
 QISTPKGPSL RVMINSRSAL LAQMP SKFTI CANVSLDERS KLAYDVTTTPC EIKACSLTCL
 KSKNMLTTVK DLTMKTLNPT HDIIALCEFE NIVTSKKVII PTYLR SISVR NKDLNTLENI
 15 TTTEFKNAIT NAKIIPYSGL LLVITVTDNK GAFKYIKPQS QFIVDLGAYL EKESIYYVTT
 NWKHTATRFA IKPMED

Нуклепротеин N «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 5:

MALSKVKLND TLNKDQLLSS SKYTIQRSTG DSIDTPNYDV QKHINKLCGM LLITEDANHK
 20 FTGLIGMLYA MSRLGREDTI KILRDAGYHV KANGVDVTH RQDINGKEMK FEVLTLASLT
 TEIQINIEIE SRKSYKKMLK EMGEVAPEYR HDSPDCGMII LCIAALVITK LAAGDRSGLT
 AVIRRANNVL KNEMKRYKGL LPKDIANSFY EVFEKHPHFI DVFVHFGIAQ SSTRGGSRVE
 GIFAGLFMNA YGAGQVMLRW GVLAKSVKNI MLGHASVQAE MEQVVEVY EY AQKLGGEAGF
 YHILNPNKAS LLSLTQFPHF SSVVLGNAAG LGIMGEYRGT PRNQDLYDAA KAYAEQLKEN
 25 GVINYSVLDL TAELEAIAKH QLNPKDNDVE L

Большая субъединица полимеразы L «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 6:

MDPIINGNSA NVYLTD SYLK GVISFSECNA LGSYIFNGPY LKN DYTNLIS RQNPLIEHNM
 30 LKKLNITQSL ISKYHKGEIK LEEPTYFQSL LMTYKSMTSL EQIATTNLLK KIIRRAIEIS
 DVKVYAILNK LGLKEKD KIK SNNGQDEDNS VITTIKDDI LSAVKDNQSH LKADKNHSTK
 QKDTIKTTLL KKL MCSMQHP PSWLIHWFNL YTKLNNILTQ YRSNEVKNHG FILIDNQTLS
 GFQFILNQYG CIVYHKELKR ITVTTYNQFL TWKDISLSRL NVCLITWISN CLNTLNKSLG
 LRCGFNNVIL TQLFLYGDCI LKLFHNEG FY IIKEVEGFIM SLILNITEED QFRKRFYNSM
 35 LNNITDAANK AQKNLLSRVC HTLLDKTVSD NIINGRWIIL LSKFLKLIK AGDNNLNNLS
 ELYFLFRIFG HPMVDERQAM DAVKVCNET KFYLLSSLSM LRGAFIYRII KGFVNNYNRW
 PTLRNAIVLP LRWLTYKLN TYP SLELTE RDLIVLSGLR FYREFRLPKK VDLEMIINDK
 AISPPKNLIW TSFPRNYMPS HIQNYIEHEK LKFSESDKSR RVLEYLRDN KFNECDLYNC
 VVNQSYLNNP NHVVS LTGKE RELSVGRMFA MQPGMFRQVQ ILAEKMIAEN ILQFFPESLT
 40 RYGDLELQKI LELKAGISNK SNRYNDN YNN YISKCSIITD LSKFNQAFRY ETSCICSDVL
 DELHGVQSLF SWLHLTIPHV TIICTYRHAP PYIRDHIVDL NNVDEQSGLY RYHMGGIEGW
 CQKLWTIEAI SLLDLISLKG KFSITALING DNQSIDISKP VRLMEGQTHA QADYLLALNS
 LKLLYKEYAG IGHKLKGTET YISRDMQFMS KTIQHNGVYY PASIKKVL RV GPWINTILDD

45

FKVSLESIGS LTQELEYRGE SLLCSLIFRN VWLYNQIALQ LKNHALCNNK LYLDILKVLK
 HLKTFNLDN IDTALTLYMN LPMLFGGGDP NLLYRSFYRR TPDFLTEAIV HSVFILSYTT
 NHDLDKDKLQD LSDDRLNKFL TCIITFDKNP NAEFVTLMRD PQALGSERQA KITSEINRLA
 5 VTEVLSTAPN KIFSKSAQHY TTTEIDLNDI MQNIEPTYPH GLRVVYESLP FYKAEKIVNL
 ISGTKSITNI LEKTSALDIT DIDRATEMMR KNITLLIRIL PLDCNRDKRE ILSMENLSIT
 ELSKYVRERS WLSNIVGVT SPSIMYTM DI KYTTSTIASG IIEKYNVNS LTRGERGPTK
 PWVGSSTQEK KTMPVYNRQV LTKKQRDQID LLAKLDWVYA SIDNKDEFME ELSIGTLGLT
 YEKAKKLPQ YLSVNYLHRL TVSSRPCEFP ASIPAYRTTN YHFDTSPINR ILTEKYGDED
 10 IDIVFQNCIS FGLSLMSVVE QFTNVCPNRI ILIPKLEIH LMKPPIFTGD VDIHKLKQVI
 QKQHMFLPK ISLTQYVELF LSNKTLKSGS HVNSNLILAH KISDYFHNTY ILSTNLAGHW
 ILIIQLMKDS KGIFEKDWGE GYITDHMFIN LKVFFNAYKT YLLCFHKGYG KAKLECDMNT
 SDLLCVLELI DSSYWKSMK VFLEQKVIKY ILSQDASLHR VKGCHSFKLW FLKRLNVAEF
 TVCPWVVDNID YHPTHMKAIL TYIDLVRMGL INIDRIHIKN KHKFNDEFYT SNLFYINYNF
 15 SDNTHLLTKH IRIANSELEN NYNKLYHPTP ETLLENILANP IKSNDKKT LN DYCIGKNVDS
 IMLPLLSNKK LVKSSAMIRT NYSKQDLYNL FPTVVIDRII DHSGNTAKSN QLYTTTSHQI
 SLVHNSTSLY CMLPWHHINR FNFVFSSTGC KISIEYILKD LKIKDPNCIA FIGEGAGNLL
 LRTVVELHPD IRYIYRSLKD CNDHSLPIEF LRLYNGHINI DYGENLTIPA TDATNNIHS
 20 YLHIKFAEPI SLFVCDALP VTVNWSKII EWSKHVRKCK YCSSVNKCTL IVKYHAQDDI
 DFKLDNITIL KTYVCLGSKL KGSEVYLVLT IGPANIFPVF NVVQNAKLIL SRTKNFIMPK
 KADKESIDAN IKSLIPFLCY PITKKGINTA LSKLKS VSG DILSYSIAGR NEVFSNKLIN
 HKHMNILKWF NHVLNFRSTE LNYNHLYMVE STYPYLSSELL NSLTTNELKK LIKITGSLLY
 NFHNE

25 Белок M2-1 «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 7:

MSRRNPCKFE IRGHCLNGKR CHFSHNYFEW PPHALLVRQN FMLNRILKSM DKSIDTLSEI
 SGAELDRTE EYALGVVGV L ESYIGSINNI TKQSACVAMS KLLTELNSDD IKKLRDNEEL
 30 NSPKIRVYNT VISYIESNRK NNKQTIHLLK RLPADV LKKT IKNTLDIHK S ITINPKELT
 VSDTNDHAKN NDTT

Белок M2-2 «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 8:

MTMPKIMILP DKYPCSITSI LITSRCRVTM YNRKNTLYFN QNNPNNHMYS PNQTFNEIHW
 35 TSQDLIDTIQ NFLQHLGVIE DIYTIYILVS

Фосфопротеин P «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 9:

MEKFAPEFHG EDANNRATKF LESIKGKFTS PKDKKKKDSI ISVNSIDIEV TKESPITSNS
 TIINPTNETD DNAGNKP NYQ RKPLVSFKED PIPSDNPFSK LYKETIETFD NNEEESSYSY
 40 EEINDQTNDN ITARLDRIE KLSEILGMLH TLVVASAGPT SARDGIRDAM VGLREEMIEK
 IRTEALMTND RLEAMARLN EESEKMAKDT SDEVSLNPTS EKLNNLLEGN DSDNDLSLED
 F

Неструктурный белок NS1 «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 10:

MGSNSLSMIK VRLQNLFDND EVALLKITCY TDKLIHLTNA LAKAVIHTIK LNGIVFVHVI
 45 TSSDICPNNN IVVKSFTTM PVLQNGGYIW EMMELTHCSQ PNGLIDDNCE IKFSKKLSDS
 TMTNYMNQLS ELLGFDLNP

Неструктурный белок NS2 «длинного» штамма PCB ATCC VR-26:

Аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 11:

MDTTNNDTTP QRLMITDMRP LSLETTITSL TRDIITHRFI YLINHECIVR KLDERQATFT
FLVNYEMKLL HKVVGSTKYKK YTEYNTKYGT FPMPIFINHD GFLECIGIKP TKHTPIIYKY
DLNP

5 В контексте изобретения помимо представленных в настоящем описании последовательностей SEQ ID NO: 1-11 согласно изобретению можно применять аминокислотные последовательности различных изолятов респираторно-синцитиального вируса (PCV), и они подпадают под объем изобретения. Эти изоляты респираторно-синцитиального вируса (PCV) характеризуются предпочтительно по меньшей мере
10 70%-ной, более предпочтительно по меньшей мере 80%-ной и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90%-ной идентичностью с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 1-11.

Кроме того, в этом контексте кодирующую последовательность, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка
15 F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матриксного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (PCV) или любого его фрагмента, варианта или производного, можно выбирать из любой нуклеотидной последовательности, которая
20 содержит кодирующую область, происходящую из любого изолята респираторно-синцитиального вируса (PCV) или его фрагмента или варианта.

Наиболее предпочтительными являются последовательности мРНК кодирующих областей «длинного» штамма PCV дикого типа (ATCC VR-26), имеющие регистрационный номер NCBI № AY911262:

25 мРНК, кодирующая слитый белок F «длинного» штамма PCV ATCC VR-26:
Последовательность мРНК SEQ ID NO: 12:

30

35

40

45

auggaaaaaacaussaaasaauagaauucisaagcaaaucuggccuuacuuuacacuaauacacaugaucacaasaaua
 aucusuuugcuaaaucaaauciscaucaugacugcaauacuaaasaacuuugugaauuaaacguaauccauaacaasaacc
 uuugaguuaassaagagcucgagusaacacauag

5 мРНК, кодирующая матриксный белок М «длинного» штамма РСВ АТСС VR-26:
 Последовательность мРНК SEQ ID NO: 15:

auggaaasaucgugaasaagcuucacgaaggcuccasaucacacagcugcuguaaauacaauuguccuagaaaaagacgau
 gaccucugcaucacuuaaauaugggugcccauguuuccaaucaucuaugccagcagauuuacuuuaaaagaacuagcuua
 10 ugusaacaucuaugugaaasaauaauccacaccaaggaccuucacuaagagucaugauaaacucaagaagugcauugcu
 agcacaauugcccagcaaaauuaccuuugugcuaauuguguccuuggaugaaagaagcaaacuggcauugauguaacca
 caccucugugaaaucaaggcauguagucuaacugccuaaaaauuaaaaaauuguuaacuacaguuaaagaucucacuauga
 agcacucuaacccacacauaugauuuuuugcuuuuugugaauuugaaaacauaguaacaucuaaaaaaagucuaauuacca
 15 cauaccuaagaucsaucagugucagaaauaaagaucugaacacacuugaaaaauaacaaccacugaaucuaaaaaugcca
 ucasaauugcaaaaaucuaucuuacucaggauuacuauuagucaucacagugacugacaacaaggagcauucuaauaca
 uaaagccgcaagucsaauucauaguagucuuaggacuuaccuagaaaaagaaguauuuuuuguuaccacaauuugg
 aagcacacagcuaacagauuugcauuaaccsauggaagaauaa

20 мРНК, кодирующая нуклеопротеин N «длинного» штамма РСВ АТСС VR-26:
 Последовательность мРНК SEQ ID NO: 16:

auggcucuuagcaagucsauguugaauagauacacucaasaagaucsaucuuucugucacuaagcaauacaccauccaacgg
 agcacaggagauaguauuagauacuccuaauuagauugcagaaacacaucaauaaguuauguggcauguuuuuuacac
 25 agaagaugcuaaucauuuacucuggguuaauagguauguuaauugcuaugucuaagguuaggaagagaagacaccuaaa
 aaauacucagagaugcgggaaucuauguaaaagcaaauggaguagauuaacaacacaucgucaagacaucuaugggaaag
 aaaugaaauuugaaguuuaacauuggcaagcuuaacaacugaaaucaaaucacaauugagauagaauucuaaaaauccu
 acaaaaaaauugcuaaaagaauugggagagguagcuccagaauacaggcaugauucuccugauuuggggaugauuuuuuu
 30 uguauagcagcauuaguaauaaccuuuuggcagcaggggaaugaucuggucuuacagccgugauuaggagagcuaauaa
 uguccuaaaaaauggaaugaaacguuacaagggcuuacuaaccaaggauuaagccaacagcuucuaugaaguguuugaaaa
 acauuccccacuuaauagauguuuuugucuuuuugguauagcacaauucuccaccagagguggcaguagaguugaaggg
 auuuuuugcaggauuguuuaugaaugccuauggugcagggcaaguaaugcuacgguggggagucuuagcaaaaucaguua
 35 aaaaauuuauguuaggacaugcuagugugcaagcagaauggaacaaguuuguugagguuuugaauuagcccaaaaauug
 gguggagaagcaggaauucuaaccuaauuugaacaaccsaagaucuauuuuuacuuugacucauuuuccacuuuuuc
 caguguauguuuaggcaaugcugcuggccuaggcauuauugggagaguacagagguacaccgaggaaucaagaucuaauug
 augcagcaaaaggcauugcugaacaacucaaaagaaauggugugauuaacuaacaguguaauagacuuagacagcagaagaa
 40 cuagaggcuuaacaucacagcuuaauccsaagaauaauagauguagagcuuuga

40 мРНК, кодирующая большую субъединицу полимеразы L «длинного» штамма РСВ
 АТСС VR-26:

Последовательность мРНК SEQ ID NO: 17:

45

мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует GFP или его вариант.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения последовательность мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует белок (или фрагмент белка), происходящий из вируса, который принадлежит к семейству Orthomyxoviridae. Предпочтительно последовательность мРНК не кодирует белок, происходящий из вируса гриппа, более предпочтительно вируса гриппа А. Предпочтительно последовательность мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует белок вируса гриппа А, выбранный из группы, состоящей из гемагглютинина (HA), нейраминидазы (NA), нуклеопротеина (NP), М1, М2, NS1, NS2 (NEP: белок ядерного экспорта), PA, PB1 (основная полимеразы 1), PB1-F2 и PB2. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует овальбумин (OVA) или его фрагмент. Предпочтительно последовательность мРНК, предлагаемая в изобретении, не кодирует белок вируса гриппа А или овальбумин.

В другом варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении мРНК предпочтительно содержит по меньшей мере один из следующих структурных элементов: элемент 5'- и/или 3'-нетранслируемой области (UTR-элемент), прежде всего 5'UTR-элемент, который содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, происходящей из 5'UTR TOP-гена или из его фрагмента, гомолога или варианта, или элемент, представляющий собой 5'-или 3'UTR, который может иметь происхождение из гена, из которого получают стабильную мРНК, или из его гомолога, фрагмента или варианта; гистоновую структуру типа «стебель-петля», предпочтительно гистоновую структуру типа «стебель-петля» в ее 3'-нетранслируемой области; 5'-кэп-структуру; поли-А-хвост или поли(С)-последовательность.

В предпочтительном варианте осуществления первого объекта настоящего изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, содержит по меньшей мере один 5'-или 3'UTR-элемент. В этом контексте UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которую получают из 5'- или 3'UTR любого встречающегося в естественных условиях гена, или которую получают из фрагмента, гомолога или варианта 5'- или 3'UTR гена. Предпочтительно 5'- или 3'UTR-элемент, применяемый согласно настоящему изобретению, является гетерологичным относительно кодирующей области мРНК, предлагаемой в изобретении. Хотя предпочтительными являются 5'- или 3'UTR-элементы, полученные из встречающихся в естественных условиях генов, в контексте настоящего изобретения можно применять также созданные путем синтеза UTR-элементы.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления первого объекта настоящего изобретения последовательность мРНК, предлагаемая в изобретении, содержит по меньшей мере один элемент, представляющий собой 5'-нетранслируемую область (5'UTR-элемент), который содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которую получают из 5'UTR TOP-гена, или которую получают из фрагмента, гомолога или варианта 5'UTR TOP-гена.

Наиболее предпочтительно, чтобы 5'UTR-элемент не содержал TOP-мотив или 5'TOP, указанный выше.

В некоторых вариантах осуществления изобретения нуклеотидная последовательность 5'UTR-элемента, которую получают из 5'UTR TOP-гена, оканчивается на ее 3'-конце нуклеотидом, локализованным в положении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 в обратном направлении относительно стартового кодона (например, A(U/T)G) гена или полученной из него мРНК. Таким образом, 5'UTR-элемент не содержит никакой части кодирующей белок области. Таким образом, предпочтительно только кодирующий белок участок

мРНК, предлагаемой в изобретении, представляет собой кодирующую область.

Нуклеотидную последовательность, имеющую происхождение из 5'UTR TOP-гена, получают из эукариотического TOP-гена, предпочтительно TOP-гена растений или животных, более предпочтительно TOP-гена хордовых животных, еще более предпочтительно TOP-гена позвоночных животных, наиболее предпочтительно TOP-гена млекопитающих, например, TOP-гена человека.

Например, 5'UTR-элемент предпочтительно выбирают из 5'UTR-элементов, содержащих или состоящих из нуклеотидной последовательности, которая происходит из нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, которая состоит из SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки, из гомологов SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, из ее вариантов, или предпочтительно из соответствующей РНК-последовательности. Понятие «гомологи SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700» относится к последовательностям из видов, отличных от человека (*Homo sapiens*), которые являются гомологами последовательностей SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая происходит из нуклеотидной последовательности, простирающейся от нуклеотидного положения 5 (т.е. нуклеотида, локализованного в положении 5 в последовательности) до нуклеотидного положения, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к стартовому кодону (локализованному на 3'-конце последовательностей), например, до нуклеотидного положения, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к ATG-последовательности, нуклеотидной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, из гомологов SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, из ее вариантов или соответствующей РНК-последовательности. Наиболее предпочтительным является, если 5' UTR-элемент получают из нуклеотидной последовательности, простирающейся от нуклеотидного положения, непосредственно примыкающего с 3'-стороны к 5'TOP, до нуклеотидного положения, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к стартовому кодону (локализованному на 3'-конце последовательностей), например, до нуклеотидного положения, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к ATG-последовательности нуклеотидной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, из гомологов SEQ ID NO: 1-1363, SEQ ID NO: 1395, SEQ ID NO: 1421 и SEQ ID NO: 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, из ее вариантов или соответствующей РНК-последовательности.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая имеет происхождение из 5'UTR TOP-гена, кодирующего рибосомный белок, или из варианта 5'UTR TOP-гена, кодирующего рибосомный белок. Например, 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая имеет происхождение из 5'UTR нуклеотидной последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: 67, 170, 193, 244, 259, 554, 650, 675, 700, 721, 913, 1016, 1063, 1120, 1138 и 1284-1360, указанных

в заявке на патент WO 2013/143700, соответствующей РНК-последовательности, ее гомолога или варианта, указанного в настоящем описании, предпочтительно лишенного 5'ТОР-мотива. Как описано выше, последовательность, простирающаяся от положения 5 до нуклеотида, непосредственно примыкающего с 5'-стороны к АТГ (локализованному на 3'-конце последовательностей), соответствует 5'UTR указанных последовательностей.

Предпочтительно 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, имеющей происхождение из 5'UTR ТОР-гена, кодирующего белок большой субъединицы рибосомы (RPL), или из гомолога или варианта 5'UTR ТОР-гена, кодирующего белок большой субъединицы рибосомы (RPL). Например, 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая имеет происхождение из 5'UTR нуклеотидной последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: 67, 259, 1284-1318, 1344, 1346, 1348-1354, 1357, 1358, 1421 и 1422, указанных в заявке на патент WO 2013/143700, соответствующей РНК-последовательности, ее гомолога или варианта, указанного в настоящем описании, предпочтительно лишенного 5'ТОР-мотива.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая имеет происхождение из 5'UTR, имеющей происхождение из 5'UTR гена белка большой субъединицы рибосомы 32, предпочтительно из гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (L32) позвоночных животных, более предпочтительно из гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (L32) млекопитающих, наиболее предпочтительно из гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (L32) человека, или из варианта 5'UTR гена белка большой субъединицы рибосомы 32, предпочтительно гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (L32) позвоночных животных, более предпочтительно гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (L32) млекопитающих, наиболее предпочтительно гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (L32) человека, при этом предпочтительно 5'UTR-элемент не содержит 5'ТОР указанного гена.

Таким образом, согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая идентична по меньшей мере примерно на 40%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 50%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 70%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 80%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 99% нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 23 (5'UTR человеческого белка большой субъединицы рибосомы 32, лишенного 5'-концевого олигопримидинового тракта: GGCGCTGCCTACGGAGGTGG CAGCCATCTCCTTCTCGGCATC; которая соответствует SEQ ID NO: 1368 в заявке на патент WO 2013/143700) или предпочтительно соответствующей РНК-последовательности, или в которой по меньшей мере один 5'UTR-элемент содержит или состоит из фрагмента нуклеотидной последовательности, которая идентична по меньшей мере примерно на 40%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 50%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 70%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 80%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 99% нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 23, или более предпочтительно соответствующей РНК-последовательности, при этом предпочтительно

описанный выше фрагмент представляет собой непрерывный сегмент нуклеотидов, на долю которого приходится по меньшей мере 20%, предпочтительно по меньшей мере 30%, более предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, еще более предпочтительно по меньшей мере 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90% полноразмерной 5'UTR. Предпочтительно фрагмент состоит по меньшей мере примерно из 20 нуклеотидов или более, предпочтительно по меньшей мере примерно из 30 нуклеотидов или более, более предпочтительно по меньшей мере примерно из 40 нуклеотидов или более.

10 Предпочтительно фрагмент представляет собой функциональный фрагмент, указанный в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, содержит 5'UTR-элемент, который содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая имеет происхождение из 5'UTR TOP-гена позвоночных животных, таких как млекопитающие, например, человеческого TOP-гена, выбранного из RPSA, RPS2, RPS3, RPS3A, RPS4, RPS5, RPS6, RPS7, RPS8, RPS9, RPS10, RPS11, RPS12, RPS13, RPS14, RPS15, RPS15A, RPS16, RPS17, RPS18, RPS19, RPS20, RPS21, RPS23, RPS24, RPS25, RPS26, RPS27, RPS27A, RPS28, RPS29, RPS30, RPL3, RPL4, RPL5, RPL6, RPL7, RPL7A, RPL8, RPL9, RPL10, RPL10A, RPL11, RPL12, RPL13, RPL13A, RPL14, RPL15, RPL17, RPL18, RPL18A, RPL19, RPL21, RPL22, RPL23, RPL23A, RPL24, RPL26, RPL27, RPL27A, RPL28, RPL29, RPL30, RPL31, RPL32, RPL34, RPL35, RPL35A, RPL36, RPL36A, RPL37, RPL37A, RPL38, RPL39, RPL40, RPL41, RPLP0, RPLP1, RPLP2, RPLP3, RPLP0, RPLP1, RPLP2, EEF1A1, EEF1B2, EEF1D, EEF1G, EEF2, EIF3E, EIF3F, EIF3H, EIF2S3, EIF3C, EIF3K, EIF3EIP, EIF4A2, PABPC1, HNRNPA1, TPT1, TUBB1, UBA52, NPM1, ATP5G2, GNB2L1, NME2, UQCRB, или из их гомолога или варианта, в которых предпочтительно 5'UTR-элемент не содержит TOP-мотива, или 5'TOP указанных генов и в которых необязательно 5'-конец 5'UTR-элемента начинается с нуклеотида, локализованного в положении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 в прямом направлении относительно 5'-концевого олигопримидинового тракта (TOP), и в которых также необязательно 5'UTR-элемент, происходящий из 5'UTR TOP-гена, оканчивается на его 3'-конце нуклеотидом, локализованным в положении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 в обратном направлении относительно стартового кодона (A(U/T)G) гена, из которого он получен.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая имеет происхождение из 5'UTR гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (RPL32), гена белка большой субъединицы рибосомы 35 (RPL35), белка большой субъединицы рибосомы 21 (RPL21), гена АТФ-синтазы, H⁺-транспортирующей, митохондриального комплекса F1, альфа-субъединицы 1, сердечной мышцы (ATP5A1), гена гидроксистероид (17-бета)дегидрогеназы 4 (HSD17B4), индуцируемого андрогеном гена 1 (AIG1), гена субъединицы Vlc оксидазы цитохрома с (COX6C) или гена N-ацилсфингозин-амидогидролазы (кислая церамидаза) 1 (ASAH1), или из их варианта, предпочтительно из гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (RPL32) позвоночных животных, гена белка большой субъединицы рибосомы 35 (RPL35) позвоночных животных, гена белка большой субъединицы рибосомы 21 (RPL21) позвоночных животных, гена АТФ-синтазы, H⁺-транспортирующей, митохондриального комплекса F1, альфа-субъединицы 1, сердечной мышцы (ATP5A1) позвоночных животных, гена гидроксистероид(17-бета) дегидрогеназы 4 (HSD17B4) позвоночных животных, индуцируемого андрогеном гена

1 (AIG1) позвоночных животных, гена субъединицы VIc оксидазы цитохрома с (COX6C) позвоночных животных или гена N-ацилсфингозин-амидогидролазы (кислая церамидаза) 1 (ASAH1) позвоночных животных, или из их варианта, более предпочтительно из гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (RPL32) млекопитающих, гена белка большой субъединицы рибосомы 35 (RPL35) млекопитающих, гена белка большой субъединицы рибосомы 21 (RPL21) млекопитающих, гена АТФ-синтазы, H⁺-транспортирующей, митохондриального комплекса F1, альфа-субъединицы 1, сердечной мышцы (АТP5A1) млекопитающих, гена гидроксистероид(17-бета)дегидрогеназы 4 (HSD17B4) млекопитающих, индуцируемого андрогеном гена 1 (AIG1) млекопитающих, гена субъединицы VIc оксидазы цитохрома с (COX6C) млекопитающих или гена N-ацилсфингозин-амидогидролазы (кислая церамидаза) 1 (ASAH1) млекопитающих, наиболее предпочтительно из гена белка большой субъединицы рибосомы 32 (RPL32) человека, гена белка большой субъединицы рибосомы 35 (RPL35) млекопитающих, гена белка большой субъединицы рибосомы 21 (RPL21) человека, гена АТФ-синтазы, H⁺-транспортирующей, митохондриального комплекса F1, альфа-субъединицы 1, сердечной мышцы (АТP5A1) человека, гена гидроксистероид(17-бета)дегидрогеназы 4 (HSD17B4) человека, индуцируемого андрогеном гена 1 (AIG1) человека, гена субъединицы VIc оксидазы цитохрома с (COX6C) человека или гена N-ацилсфингозин-амидогидролазы (кислая церамидаза) 1 (ASAH1) человека, или из их варианта, в которых предпочтительно 5'UTR-элемент не содержит 5'TOP указанного гена.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая идентична по меньшей мере примерно на 40%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 50%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 70%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 80%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 99% нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1368 или SEQ ID NO: 1412-1420, которые указаны в заявке на патент WO 2013/143700, или соответствующей РНК-последовательности, или в которых по меньшей мере один 5'UTR-элемент содержит или состоит из фрагмента нуклеотидной последовательности, которая идентична по меньшей мере примерно на 40%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 50%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 70%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 80%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 99% нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1368 или SEQ ID NO: 1412-1420, которые указаны в заявке на патент WO 2013/143700, при этом предпочтительно фрагмент представляет собой описанный выше фрагмент, т.е. является непрерывным состоящим из нуклеотидов сегментом, на долю которого приходится по меньшей мере 20% и т.д. от полноразмерной 5'UTR. Предпочтительно фрагмент состоит по меньшей мере примерно из 20 нуклеотидов или более, предпочтительно по меньшей мере примерно из 30 нуклеотидов или более, более предпочтительно по меньшей мере примерно из 40 нуклеотидов или более. Предпочтительно фрагмент представляет собой функциональный фрагмент, указанный в настоящем описании.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения 5'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая идентична по меньшей мере примерно на 40%, предпочтительно по меньшей мере примерно на

50%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 70%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 80%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95%, еще более предпочтительно по меньшей мере

5 примерно на 99% нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 36 (5'UTR ATP5A1, лишенная 5'-концевого олигопиримидинового тракта:
 GCGGCTCGGCCAATTTTGTCCCAGTCAGTCCGGAGGCTGCGGCTGCAGAAGTACCGCCTGCG-
 GAGTAACTGCAAAG; соответствует SEQ ID NO: 1414 в заявке на патент WO 2013/
 143700), или предпочтительно соответствующей РНК-последовательности, или в которой
 10 по меньшей мере один 5'UTR-элемент содержит или состоит из фрагмента нуклеотидной последовательности, которая идентична по меньшей мере примерно на 40%,
 предпочтительно по меньшей мере примерно на 50%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 70%, более
 предпочтительно по меньшей мере примерно на 80%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 95%,
 15 еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на 99% нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 26, или более предпочтительно соответствующей РНК-последовательности, в которой предпочтительно фрагмент представляет собой описанный выше фрагмент, т.е. является непрерывным состоящим из нуклеотидов
 20 сегментом, на долю которого приходится по меньшей мере 20% и т.д. от полноразмерной 5'UTR. Предпочтительно фрагмент состоит по меньшей мере примерно из 20 нуклеотидов или более, предпочтительно по меньшей мере примерно из 30 нуклеотидов или более, более предпочтительно по меньшей мере примерно из 40 нуклеотидов или более. Предпочтительно фрагмент представляет собой функциональный фрагмент,
 25 указанный в настоящем описании.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, содержит также по меньшей мере один 3'UTR-элемент, который содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, происходящей из 3'UTR гена хордовых животных, предпочтительно гена позвоночных животных,
 30 более предпочтительно гена млекопитающих, наиболее предпочтительно человеческого гена, или из варианта 3'UTR гена хордовых животных, предпочтительно гена позвоночных животных, более предпочтительно гена млекопитающих, наиболее предпочтительно человеческого гена.

Понятие «3'UTR-элемент» относится к нуклеотидной последовательности, которая
 35 содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, происходящей из 3'UTR или из варианта 3'UTR. 3'UTR-элемент в контексте настоящего изобретения может представлять собой 3'UTR мРНК. Таким образом, в контексте настоящего изобретения предпочтительно 3'UTR-элемент может представлять собой 3'UTR мРНК,
 предпочтительно искусственной мРНК, или может представлять собой матрицу для
 40 транскрипции 3'UTR мРНК. Таким образом, 3'UTR-элемент предпочтительно представляет собой нуклеотидную последовательность, которая соответствует 3'UTR мРНК, предпочтительно 3'UTR искусственной мРНК, такой как мРНК, полученная путем транскрипции созданной с помощью генной инженерии векторной конструкции. Предпочтительно 3'UTR-элемент выполняет функцию 3'UTR или кодирует
 45 последовательность, которая выполняет функцию 3'UTR.

Предпочтительно предлагаемая в изобретении мРНК содержит 3'UTR-элемент, который может происходить из гена, который соответствует мРНК с удлинненным временем полужизни (представляющей собой стабильную мРНК), например, 3'UTR-

элемент указанный и описанный ниже.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения 3'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которую получают из 3'UTR гена, выбранного из группы, состоящей из гена альбумина, гена α -глобина, гена β -глобина, гена тирозингидроксилазы, гена липоксигеназы и гена альфа-цепи коллагена, такого как ген альфа-1-цепи коллагена типа (I), или из варианта 3'UTR гена, выбранного из группы, состоящей из гена альбумина, гена α -глобина, гена β -глобина, гена тирозингидроксилазы, гена липоксигеназы и гена альфа-цепи коллагена альфа, такого как ген альфа-1-цепи коллагена типа (I), последовательности которых представлены в SEQ ID NO: 1369-1390 в заявке на патент WO 2013/143700, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки. В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения 3'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которую получают из 3'UTR гена альбумина, предпочтительно гена альбумина позвоночных животных, более предпочтительно гена альбумина млекопитающих, наиболее предпочтительно человеческого гена альбумина, которая имеет SEQ ID NO: 24.

3'UTR человеческого альбумина, имеющая SEQ ID NO: 24:

САТСАСАТТТ ААААГСАТСТ САГССТАССА ТГАГААТААГ АГАААГАААА
 ТГААГАТСАА ААГСТТАТТС АТСТГТТТТТ СТТТТТСГТТ ГГТГТАААГС
 СААСАСССТГ ТСТААААААС АТАААТТТСТ ТТААТСАТТТ ТГССТСТТТТ
 СТСТГТГСТТ СААТТААТАА ААААТГГААА ГААТСТ (соответствует SEQ
 ID NO: 1369 в заявке на патент WO 2013/143700).

В этом контексте наиболее предпочтительно, когда предлагаемая в изобретении мРНК содержит 3'UTR-элемент, который содержит соответствующую РНК-последовательность, происходящую из SEQ ID NO: 1369-1390, которые указаны в заявке на патент WO 2013/143700, или ее фрагмент, гомолог или вариант.

Наиболее предпочтительно 3'UTR-элемент содержит нуклеотидную последовательность, происходящую из фрагмента гена человеческого альбумина, которая представлена в SEQ ID NO: 25:

3'UTR альбумина⁷

САТСАСАТТТААААГСАТСТСАГССТАССАТГАГААТААГАГАААГААААТ
 ГААГАТСААТАГСТТАТТСАТСТСТТТТТСТТТТТСГТТГГТГТАААГССААС
 АСССТГТСТААААААСАТАААТТТСТТТААТСАТТТТГССТСТТТТСТСТГТГ
 СТТСААТТААТААААААТГГАААГААССТ (SEQ ID NO: 25 соответствует SEQ
 ID NO: 1376 в заявке на патент WO 2013/143700).

В этом контексте наиболее предпочтительно, когда 3'UTR-элемент предлагаемой в изобретении мРНК содержит или состоит из РНК-последовательности, соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 25.

В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения 3'UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, происходящей из 3'UTR гена α -глобина, предпочтительно гена α - или β -глобина, более предпочтительно гена α - или β -глобина млекопитающих, наиболее предпочтительно человеческого гена α - или β -глобина, которая имеет SEQ ID NO: 26-28:

3'UTR альфа-цепи гемоглобина 1 Homo sapiens (HBA1)

GCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTCTTGCCCCTTGGGCCTCCCCCAGCCCCCT
 CCTCCCCTTCCTGCACCCCGTACCCCGTGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGTGGG
 CGGC (SEQ ID NO: 26 соответствует SEQ ID NO: 1370 заявки на патент WO 2013/

5 143700),

3'UTR альфа-цепи гемоглобина 2 Homo sapiens (HBA2)

GCTGGAGCCTCGGTAGCCGTTCCTCCTGCCCGCTGGGCCTCCCAACGGGCC
 TCCTCCCCTCCTTGCACCCGGCCCTTCCTGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGTGGG
 CAG (SEQ ID NO: 27 соответствует SEQ ID NO: 1371 заявки на патент WO 2013/

10 143700),

3'UTR бета-цепи гемоглобина Homo sapien (HBB)

GCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGTTTCSTTTGTTCCСТАAGTCC
 ААСТААААСТGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTGCC
 ТААТААААААСАТТТАТТТТСАТТGC (SEQ ID NO: 28 соответствует SEQ ID NO:
 1372 заявки на патент WO 2013/143700).

15

Например, 3'UTR-элемент может содержать или состоять из центральной,
 связывающей α -комплекс области 3'UTR гена α -глобина, такого как ген человеческого
 20 α -глобина, которая предпочтительно имеет SEQ ID NO: 29:

центральная связывающая α -комплекс область 3'UTR гена α -глобина (которую в
 контексте настоящего описания обозначают также как «*muag*») GCCCGATGGGCCTC
 CCAACGGGCCCTCCTCCCCTCCTTGCACCG (SEQ ID NO: 29 соответствует SEQ ID NO:
 1393 заявки на патент WO 2013/143700).

25

В этом контексте наиболее предпочтительно, когда 3'UTR-элемент мРНК,
 предлагаемой в изобретении, содержит или состоит из РНК-последовательности,
 соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 29, или ее гомолога,
 фрагмента или варианта.

30

Понятие «нуклеотидная последовательность, происходящая из 3'UTR [...] -гена»
 предпочтительно относится к нуклеотидной последовательности, основой которой
 является 3'UTR-последовательность [...] -гена или ее часть, например, 3'UTR гена
 альбумина, гена α -глобина, гена β -глобина, гена тирозингидроксилазы, гена
 липоксигеназы и гена альфа-цепи коллагена, такого как ген альфа-1-цепи коллагена
 типа (I), предпочтительно гена альбумина или его части. Указанное понятие включает
 35 последовательности, соответствующие полной 3'UTR-последовательности, т.е.
 полноразмерной 3'UTR-последовательности гена, и последовательности,
 соответствующие фрагменту 3'UTR-последовательности гена, например, гена альбумина,
 гена α -глобина, гена β -глобина, гена тирозингидроксилазы, гена липоксигеназы и гена
 альфа-цепи коллагена, такого как ген альфа-1-цепи коллагена типа (I), предпочтительно
 40 гена альбумина.

45

Понятие ««нуклеотидная последовательность, происходящая из варианта 3'UTR [...] -гена»
 предпочтительно относится к нуклеотидной последовательности, основой
 которой является вариант 3'UTR-последовательности гена, например, вариант 3'UTR
 гена альбумина, гена α -глобина, гена β -глобина, гена тирозингидроксилазы, гена
 липоксигеназы и гена альфа-цепи коллагена, такого как ген альфа-1-цепи коллагена
 типа (I), или его части, как указано выше. Указанное понятия включают
 последовательности, соответствующие полной последовательности варианта 3'UTR
 гена, т.е. полноразмерной 3'UTR-последовательности варианта гена, и

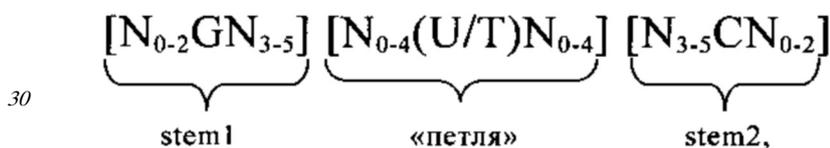
последовательности, соответствующие фрагменту варианта 3'UTR-последовательности гена. Фрагмент в этом контексте предпочтительно состоит из непрерывного нуклеотидного сегмента, соответствующего непрерывному нуклеотидному сегменту полноразмерного варианта 3'UTR, на долю которого приходится по меньшей мере 20%, предпочтительно по меньшей мере 30%, более предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, еще более предпочтительно по меньшей мере 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90% полноразмерного варианта 3'UTR. Указанный фрагмент варианта в контексте настоящего изобретения предпочтительно представляет собой функциональный фрагмент варианта, указанного в настоящем описании.

Предпочтительно по меньшей мере один 5'UTR-элемент и по меньшей мере один 3'UTR-элемент действуют синергетически в отношении повышения производства белка указанной выше мРНК, предлагаемой в изобретении.

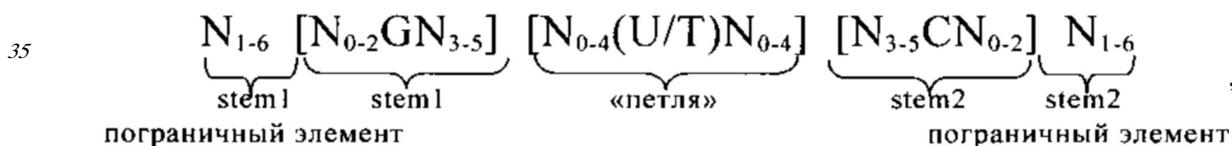
В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении мРНК, содержащая кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, содержит гистоновую последовательность/структуру типа «стебель-петля». Указанные последовательности гистоновой структуры типа «стебель-петля» предпочтительно выбирают из последовательностей гистоновой структуры типа «стебель-петля», которые представлены в WO 2012/019780, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки.

Последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», которую можно применять в настоящем изобретении, предпочтительно выбирают по меньшей мере из одной из следующих формул (I) или (II):

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



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



в которых:

40	пограничные элементы stem1 или stem2 N ₁₋₆	обозначают непрерывную последовательность, состоящую из 1-6, предпочтительно 2-6, более предпочтительно 2-5, еще более предпочтительно 3-5, наиболее предпочтительно 4-5 или 5 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или их нуклеотидного аналога;
45	stem1 [N ₀₋₂ GN ₃₋₅]	обозначает последовательность, обратную комплементарную или частично обратную комплементарную элементу stem2, и представляет собой непрерывную последовательность, состоящую из 5-7 нуклеотидов;
		в которой N ₀₋₂ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-2, предпочтительно 0-1, более предпочтительно 1 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или его нуклеотидного аналога;
		в которой N ₃₋₅ обозначает непрерывную последовательность, со-

		стоящую из 3-5, предпочтительно 4-5, более предпочтительно 4 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из
		нуклеотида, выбранного из А, U, T, G и С или его нуклеотидного аналога, и
5		в которой G обозначает гуанозин или его аналог и необязательно может быть заменен на цитидин или его аналог при условии, что комплементарный ему нуклеотид цитидин в stem2 заменен на гуанозин;
	последовательность «петли» $[N_{0.4}(U/T)N_{0.4}]$	локализована между элементами stem1 и stem2 и обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5 нуклеотидов, более предпочтительно 4 нуклеотидов;
10		в которой $N_{0.4}$ каждый независимо друг от друга обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-4, предпочтительно 1-3, более предпочтительно 1-2 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, T, G и С или его нуклеотидного аналога; и в которой U/T обозначает уридин или необязательно тимидин;
	stem2 $[N_{3.5}CN_{0.2}]$	обозначает последовательность, обратную комплементарную или частично обратную комплементарную элементу stem1, и представляет собой непрерывную последовательность, состоящую из 5-7 нуклеотидов;
15		в которой $N_{3.5}$ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 3-5, предпочтительно 4-5, более предпочтительно 4 N, где N каждый
		независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, T, G и С или его нуклеотидного аналога;
20		в которой $N_{0.2}$ обозначает непрерывную последовательность, состоящую из 0-2, предпочтительно 0-1, более предпочтительно 1 N, где N каждый независимо друг от друга выбран из нуклеотида, выбранного из А, U, T, G или С или его нуклеотидного аналога; и в которой С обозначает цитидин или его аналог и необязательно может быть заменен на гуанозин или его аналог при условии, что комплементарный ему нуклеотид гуанозин в stem1 заменен на цитидин;

25

где

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

30

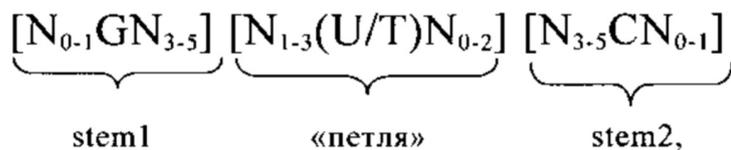
35

40

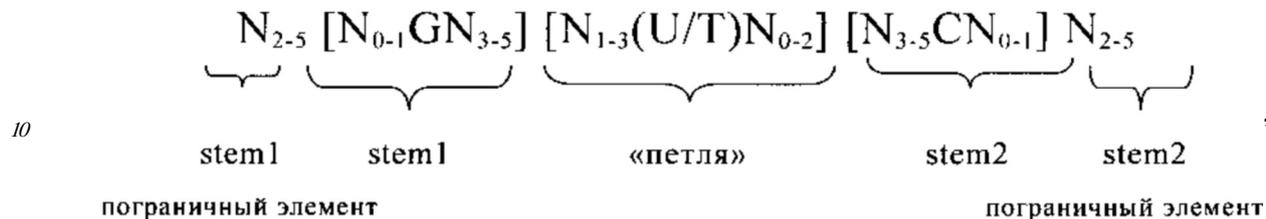
Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в настоящем изобретении, может содержать или кодировать по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», соответствующую по меньшей мере одной из следующих конкретных формул (Ia) или (IIa):

45

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



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

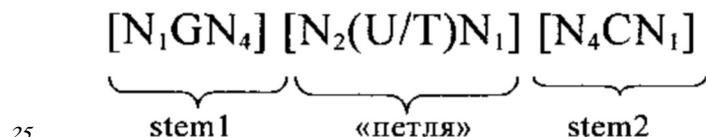


в которой:

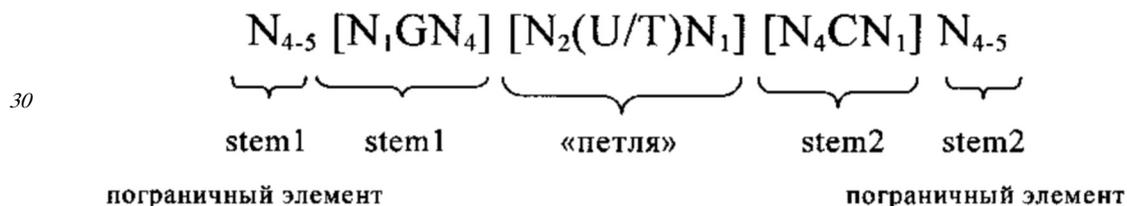
N, C, G, T и U имеют указанные выше значения.

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

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



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



в которой:

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

35 Наиболее предпочтительной последовательностью гистоновой структуры типа «стебель-петля» является последовательность, представленная в SEQ ID NO: 30 CAAAGGCTCTTTTCAGAGCCACCA, или более предпочтительно последовательность РНК, соответствующая нуклеотидной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 30 (CAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCA SEQ ID NO: 37).

40 В конкретном предпочтительном варианте осуществления первого объекта настоящего изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, содержит помимо кодирующей области, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, поли(А)-последовательность, которую называют также поли-А-хвостом, предпочтительно на 3'-конце предлагаемой в изобретении мРНК. Когда она присутствует, то указанная поли(А)-последовательность содержит последовательность, содержащую от примерно 25 до примерно 400 аденозиновых нуклеотидов, предпочтительно последовательность, содержащую от примерно 50 до примерно 400

аденозиновых нуклеотидов, более предпочтительно последовательность, содержащую от примерно 50 до примерно 300 аденозиновых нуклеотидов, еще более предпочтительно последовательность, содержащую от примерно 50 до примерно 250 аденозиновых нуклеотидов, наиболее предпочтительно последовательность, содержащую от примерно 60 до примерно 250 аденозиновых нуклеотидов. В этом контексте понятие «примерно» относится к отклонению, составляющему $\pm 10\%$ от величины(н), к которой(ым) оно относится. Указанная поли(А)-последовательность предпочтительно локализована на 3'-конце кодирующей области, которая входит в предлагаемую в изобретении мРНК, указанную в первом объекте настоящего изобретения. Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении мРНК можно модифицировать с помощью последовательности, состоящей по меньшей мере из 10 цитозинов, предпочтительно по меньшей мере из 20 цитозинов, более предпочтительно по меньшей мере из 30 цитозинов (так называемая «поли(С)-последовательность»). В частности, мРНК может содержать поли(С)-последовательность, которая, как правило, содержит примерно от 10 до 200 цитозиновых нуклеотидов, предпочтительно примерно от 10 до 100 цитозиновых нуклеотидов, более предпочтительно примерно от 10 до 70 цитозиновых нуклеотидов или еще более предпочтительно примерно от 20 до 50 или даже от 20 до 30 цитозиновых нуклеотидов. Указанная поли(С)-последовательность предпочтительно локализована на 3'-конце кодирующей области, более предпочтительно на 3'-конце необязательной поли(А)-последовательности, которая входит в предлагаемую в изобретении мРНК, указанную в первом объекте настоящего изобретения.

В этом контексте в конкретном варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении последовательность мРНК может содержать:

- а.) структуру 5'-кэпа, предпочтительно m7GpppN;
- б.) кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), предпочтительно происходящий из слитого белка F респираторно-синцитиального вируса (РСВ);
- в.) поли(А)-последовательность, предпочтительно содержащую 64 аденозина; и
- г.) необязательно поли(С)-последовательность, предпочтительно содержащую 30 цитозинов.

В наиболее предпочтительном варианте первого объекта настоящего изобретения предлагаемая в настоящем изобретении мРНК, содержащая кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, содержит предпочтительно в 5'→3'-направлении:

- а.) структуру 5'-кэпа, предпочтительно m7GpppN;
- б.) кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), предпочтительно происходящий из слитого белка F респираторно-синцитиального вируса (РСВ);
- в.) поли(А)-последовательность, предпочтительно содержащую 64 аденозина;
- г.) необязательно поли(С)-последовательность, предпочтительно содержащую 30 цитозинов; и
- д.) гистоновую структуру типа «стебель-петля», предпочтительно содержащую последовательность РНК, соответствующую нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30.

В другом наиболее предпочтительном варианте первого объекта настоящего изобретения предлагаемая в настоящем изобретении мРНК, содержащая кодирующую

область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, содержит предпочтительно в 5'→3'-направлении:

- а.) структуру 5'-кэпа, предпочтительно m7GpppN;
- 5 б.) кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), предпочтительно происходящий из слитого белка F респираторно-синцитиального вируса (РСВ);
- в.) необязательно 3'UTR-элемент, происходящий из гена альфа-глобина, предпочтительно содержащий последовательность РНК, соответствующую
- 10 нуклеотидной последовательности SEQ ID NO. 29, ее гомолог, фрагмент или вариант;
- г.) поли(А)-последовательность, предпочтительно содержащую 64 аденозина;
- д.) необязательно поли(С)-последовательность, предпочтительно содержащую 30 цитозинов; и
- е.) гистоновую структуру типа «стебель-петля», предпочтительно содержащую
- 15 последовательность РНК, соответствующую нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30.

В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемая в настоящем изобретении мРНК, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или

- 20 его фрагмент, вариант или производное, содержит предпочтительно в 5'→3'-направлении:
- а.) структуру 5'-кэпа, предпочтительно m7GpppN;
- б.) необязательно 5'UTR-элемент, происходящий из гена TOP, предпочтительно происходящий из последовательности РНК, соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 23, ее гомолога, фрагмента или варианта;
- 25 в.) кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), предпочтительно происходящий из слитого белка F респираторно-синцитиального вируса (РСВ);
- г.) необязательно 3'UTR-элемент, происходящий из гена, из которого получают стабильную мРНК, предпочтительно происходящий из последовательности РНК,
- 30 соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 25, ее гомолога, фрагмента или варианта;
- д.) поли(А)-последовательность, предпочтительно содержащую 64 аденозина;
- е.) необязательно поли(С)-последовательность, предпочтительно содержащую 30 цитозинов; и
- 35 ж.) гистоновую структуру типа «стебель-петля», предпочтительно содержащую соответствующую последовательность РНК нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30.

Кодирующая область может кодировать по меньшей мере частично одну из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-11 или ее фрагменты, варианты

- 40 или производные. Кроме того, кодирующая область предлагаемой в изобретении мРНК может кодировать комбинацию по меньшей мере двух указанных аминокислотных последовательностей или комбинацию их фрагментов, вариантов или производных. В этом контексте наиболее предпочтительной является комбинация слитого белка F с нуклеопротеином N и комбинация слитого белка F с белком M2-1.
- 45 Кроме того, кодирующая область может представлять собой или может содержать по меньшей мере частично одну из последовательностей SEQ ID NO: 12 - SEQ ID NO: 22 или ее фрагменты, гомологи или варианты. Кроме того, мРНК может содержать комбинацию по меньшей мере двух указанных аминокислотных последовательностей

или комбинацию их фрагментов, гомологов или вариантов.

Для дополнительного повышения устойчивости, например, к расщеплению *in vivo* (например, экзо- или эндонуклеазой), предлагаемую в изобретении мРНК можно получать в виде стабилизированной нуклеиновой кислоты, например, в форме модифицированной нуклеиновой кислоты. Таким образом, согласно дополнительному варианту осуществления изобретения предпочтительно стабилизируют предлагаемую в изобретении мРНК, предпочтительно с помощью модификаций каркаса, модификаций сахара и/или модификаций оснований, более предпочтительно путем модификации содержания G/C. Все указанные модификации можно интродуцировать в предлагаемую в изобретении мРНК без нарушения функции мРНК, которая должна транслироваться в антигенную функцию происходящего из респираторно-синцитиального вируса (РСВ) пептида или белка.

В контексте настоящего изобретения модификация каркаса предпочтительно представляет собой модификацию, при которой фосфаты каркаса нуклеотидов, входящих в предлагаемую в изобретении мРНК, химически модифицируют, например, с помощью анионной межнуклеозидной связи, N3'→P5'-модификаций, замены несвязанных мостиками атомов кислорода на бораны, нейтральной межнуклеозидной связи, амидной связи нуклеозидов, метиленовых (метиленимино) связей, формацетальных или тиоформацетальных связей, интродукции сульфонильных групп или т.п.

В контексте настоящего изобретения модификация сахара предпочтительно представляет собой химическую модификацию сахара нуклеотидов предлагаемой в изобретении мРНК, например, метилирование рибозного остатка или т.п.

Согласно другому варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении мРНК можно модифицировать и тем самым стабилизировать путем модификации содержания G (гуанозин)/C (цитозина) в мРНК, предпочтительно в ее кодирующей области.

При этом содержание G/C в предлагаемой в изобретении мРНК, предпочтительно в кодирующей области, значительно повышают по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области ее конкретной кодирующей последовательности дикого типа, т.е. в немодифицированной мРНК. Однако кодируемую аминокислотную последовательность предлагаемой в изобретении мРНК предпочтительно не модифицируют по сравнению кодируемой аминокислотной последовательностью конкретной мРНК дикого типа/немодифицированной мРНК.

Модификация содержания G/C в предлагаемой в изобретении мРНК основана на том факте, что последовательности РНК, имеющие повышенное содержание G (гуанозин)/C (цитозин), являются более стабильными, чем последовательности мРНК, имеющие повышенное содержание A (аденозин)/U (урацил). Таким образом, кодоны кодирующей области полной РНК можно изменять по сравнению с кодирующей областью дикого типа или мРНК так, чтобы они содержали большее количество G/C-нуклеотидов, с сохранением транслируемой аминокислотной последовательности. Учитывая тот факт, что несколько кодонов кодируют одну и ту же аминокислоту (так называемая вырожденность генетического кода), можно определять наиболее предпочтительные с точки зрения стабильности кодоны (так называемые альтернативные наиболее часто встречающиеся кодоны). Предпочтительно содержание G/C в кодирующей области предлагаемой в изобретении мРНК повышают по меньшей мере на 7%, более предпочтительно по меньшей мере на 15%, наиболее предпочтительно по меньшей мере на 20%, по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа. В конкретном варианте осуществления изобретения заменяют по

меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, более предпочтительно по меньшей мере 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90%, 95% или даже 100% пригодных для замены кодонов в области, кодирующей белок или пептид, указанный в настоящем описании, или его фрагмент, вариант и/или производное, или всю последовательность мРНК дикого типа или кодирующую последовательность, повышая тем самым содержание G/C в указанной последовательности. В этом контексте наиболее предпочтительно повышать содержание G/C в предлагаемой в изобретении мРНК до максимума (т.е. до 100% пригодных для замещения кодонов), прежде всего в кодирующей области, по сравнению с последовательностью дикого типа.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении мРНК оптимизируют для трансляции, предпочтительно оптимизируют для трансляции путем замены менее часто встречающихся тРНК данной аминокислоты на кодоны более часто встречающихся тРНК соответствующей аминокислоты. Это основано на открытии того факта, что эффективность трансляции определяется также различной частотой встречаемости тРНК в клетках. Так, если так называемые «менее часто встречающиеся кодоны» присутствуют в предлагаемой в изобретении мРНК в более высоком уровне, то соответствующая модифицированная РНК транслируется в существенно худшей степени, чем в случае, если присутствуют кодоны более часто встречающихся тРНК. Предпочтительно кодирующую область предлагаемой в изобретении мРНК модифицируют по сравнению с соответствующей областью РНК дикого типа или кодирующей последовательностью так, чтобы по меньшей мере один кодон последовательности дикого типа, который кодирует тРНК, которая является редкой или менее часто встречается в клетке, заменять на кодон, который кодирует тРНК, которая более или наиболее часто встречается в клетке и «несет» ту же самую аминокислоту, что и относительно редкая или менее часто встречающаяся тРНК. Путем такой модификации последовательности предлагаемой в изобретении мРНК можно модифицировать таким образом, чтобы встраивать кодоны, для которых доступны более часто встречающиеся тРНК. Другими словами, согласно изобретению с помощью такой модификации все кодоны последовательности дикого типа, которые кодируют тРНК, являющуюся относительно редкой в клетке, можно в каждом случае заменять на кодоны, которые кодируют тРНК, относительно часто встречающуюся в клетке, и которая в каждом случае «несет» такую же аминокислоту, что и относительно редкая тРНК. Кроме того, наиболее предпочтительно объединять повышение G/C-содержания в последовательности, прежде всего до максимума, в предлагаемой в изобретении мРНК с «часто встречающимися» кодонами без модификации аминокислотной последовательности белка, кодируемого кодирующей областью предлагаемой в изобретении мРНК или кодирующей области. Указанный предпочтительный вариант осуществления изобретения позволяет получать наиболее эффективно транслируемую и стабилизированную (модифицированную) предлагаемую в изобретении мРНК.

Замены, добавления или элиминации оснований предпочтительно осуществляют с использованием ДНК-матрицы для получения молекулы нуклеиновой кислоты с помощью хорошо известных методик сайтнаправленного мутагенеза или олигонуклеотидного лигирования. В указанном процессе для получения по меньшей мере одной РНК в предлагаемой в изобретении комбинированной вакцине, указанной в настоящем описании, соответствующую молекулу ДНК можно транскрибировать *in vitro*. Указанная ДНК-матрица предпочтительно содержит пригодный промотор,

например, промотор T7 или SP6, для транскрипции *in vitro*, за которым располагается требуемая нуклеотидная последовательность, кодирующая по меньшей мере одну мРНК, которую нужно получить, и сигнал терминации для транскрипции *in vitro*.

Молекулу ДНК, которая служит матрицей по меньшей мере для одной представляющей интерес РНК, можно получать путем ферментативной пролиферации и последующего выделения в виде части плазмиды, которая может реплицироваться в бактериях.

Плазмиды, которые можно рассматривать в качестве приемлемых для осуществления настоящего изобретения, представляют собой, например, плазмиды pT7T (GenBank, регистрационный номер U26404; Lai и др., Development, 121, 1995, сс. 2349-2360), серии pGEM[®], например, pGEM[®]-1 (GenBank, регистрационный номер X65300; фирма Promega) и pSP64 (GenBank, регистрационный номер X65327); ср. также Mezei и Storts, Purification of PCR Products в: PCR Technology: Current Innovation, под ред. Griffin и Griffin, изд-во CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении последовательность мРНК согласно первому объекту настоящего изобретения содержит, предпочтительно в 5'→3' направлении:

а) структуру 5'-кэпа, указанную в настоящем описании, предпочтительно m7GpppN;

б) кодирующую область, предпочтительно с повышенным или даже максимальным содержанием G/C по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матриксного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ), или его фрагмент, вариант или производное;

в) 3'UTR-элемент, указанный в настоящем описании, предпочтительно происходящий из гена, образующего стабильную мРНК, наиболее предпочтительно РНК-последовательности, соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 29, или ее гомолога, фрагмента или варианта;

г) поли(А)-последовательность, предпочтительно состоящую из 64 аденозинов;

д) необязательно поли(С)-последовательность, состоящую из 30 цитозинов;

е) по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», предпочтительно РНК-последовательность, соответствующую нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30.

Наиболее предпочтительно предлагаемая в изобретении последовательность мРНК, указанная в этом конкретном варианте осуществления изобретения, содержит модификации последовательности, представленные на фиг. 1 (SEQ ID NO: 31), приведенной в качестве примера предлагаемой в изобретении мРНК, кодирующей слитый белок F «длинного» штамма РСВ.

В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении последовательность мРНК согласно первому объекту настоящего изобретения содержит, предпочтительно в 5'→3' направлении:

а) структуру 5'-кэпа, указанную в настоящем описании, предпочтительно m7GpppN;

б) 5'UTR-элемент, указанный в настоящем описании, предпочтительно 5'UTR-элемент, который содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, происходящей из 5'UTR TOP-гена, предпочтительно 5'UTR человеческого белка большой субъединицы рибосомы 32, без 5'-концевого олигопиримидинового тракта, имеющего SEQ ID NO: 23, или соответствующей РНК-последовательности; или ее фрагмента, гомолога или

варианта;

в) кодирующую область, предпочтительно с повышенным или даже максимальным содержанием G/C по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F, гликопротеина G, короткого гидрофобного белка SH, матриксного белка M, нуклеопротеина N, большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное;

г) 3'UTR-элемент, предпочтительно 3'UTR-элемент человеческого альбумина, имеющий SEQ ID NO: 24 или соответствующую РНК, или ее гомолог, фрагмент или вариант;

д) поли(А)-последовательность, предпочтительно состоящую из 64 аденозинов;

е) необязательно поли(С)-последовательность, состоящую из 30 цитозинов;

ж) по меньшей мере одну последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля», предпочтительно РНК-последовательность, соответствующую нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30.

Наиболее предпочтительно предлагаемая в изобретении последовательность мРНК, указанная в этом конкретном варианте осуществления изобретения, содержит модификации последовательности, представленные на фиг. 2 (SEQ ID NO: 32), приведенной в качестве примера предлагаемой в изобретении мРНК, кодирующей слитый белок F «длинного» штамма РСВ.

В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении последовательность мРНК содержит или состоит из последовательностей, представленных на фиг. 1-5, которые соответствуют SEQ ID NO: 31 и 35.

В других конкретных вариантах осуществления изобретения мРНК, предлагаемая в изобретении, может содержать также последовательность участка внутренней посадки (связывания) рибосомы (IRES) или IRES-мотива, которая может разделять несколько открытых рамок считывания, например, если предлагаемая в изобретении мРНК кодирует два или большее количество антигенных пептидов или белков. IRES-последовательность может оказаться особенно ценной, если мРНК представляет собой би- или полицистронную мРНК.

Кроме того, предлагаемую в изобретении мРНК можно получать с помощью любого метода, известного в данной области, включая методы синтеза, такие как твердофазный синтез, а также методы *in vitro*, такие как реакции транскрипции *in vitro*.

Согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения мРНК, содержащую кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, можно вводить в «оголенном» виде без ассоциации с каким-либо дополнительным наполнителем, трансфектирующим или комплексообразующим агентом, предназначенным для повышения эффективности трансфекции и/или иммуностимулирующих свойств предлагаемой в изобретении мРНК, или дополнительно включенной нуклеиновой кислотой.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении мРНК можно объединять вместе с катионным или поликатионным соединением и/или с полимерным носителем. Следовательно, в конкретном варианте осуществления изобретения предпочтительно, чтобы предлагаемая в изобретении мРНК или любая другая нуклеиновая кислота, входящая в предлагаемую в изобретении

фармацевтическую композицию или вакцину, была ассоциирована или включена в комплекс с катионным или поликатионным соединением или полимерным носителем, необязательно в массовом соотношении мРНК или нуклеиновой кислоты к катионному или поликатионному соединению и/или к полимерному носителю, выбранном из

5 диапазона от примерно 6:1 до примерно 0,25:1 (мас./мас.), более предпочтительно от примерно 5:1 до примерно 0,5:1 (мас./мас.), еще более предпочтительно от примерно 4:1 до примерно 1:1 (мас./мас.) или от примерно 3:1 до примерно 1:1 (мас./мас.), и наиболее предпочтительно в соотношении, составляющем от примерно 3:1 до примерно 2:1 (мас./мас.); или необязательно в соотношении азот/фосфат мРНК или нуклеиновой

10 кислоты к катионному или поликатионному соединению и/или к полимерному носителю, в диапазоне, примерно 0,1-10, предпочтительно в диапазоне примерно 0,3-4 или 0,3-1, и наиболее предпочтительно в диапазоне примерно 0,5-1 или 0,7-1, и еще более предпочтительно в диапазоне примерно 0,3-0,9 или 0,5-0,9. Таким образом, предлагаемая в изобретении мРНК или любая другая нуклеиновая кислота, входящая в предлагаемую

15 в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину, может быть ассоциирована с наполнителем, трансфектирующим или комплексообразующим агентом, предназначенным для повышения эффективности трансфекции и/или иммуностимулирующих свойств предлагаемой в изобретении мРНК, или с необязательно дополнительно включенными нуклеиновыми кислотами.

20 В этом контексте наиболее предпочтительными агентами для трансфекции или комплексообразования являются катионные или поликатионные соединения, включая протамин, нуклеолин, спермин или спермидин, или другие катионные пептиды или белки, такие как поли-L-лизин (ПЛЛ), полиаргинин, основные полипептиды, проникающие в клетки пептиды (СРР), включая ВИЧ-связывающие пептиды, Tat, ВИЧ-1 Tat (ВИЧ), полученные из Tat пептиды, пенетратин, полученные из VP22 пептиды

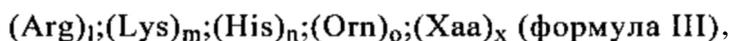
25 или аналогичные пептиды, VP22 HSV (вирус герпеса простого), MAP, KALA или домены белковой трансдукции (PTD), PpT620, богатые пролином пептиды, богатые аргинином пептиды, богатые лизином пептиды, MPG-пептид(ы), Рер-1, L-олигомеры, пептид(ы) кальцитонина, пептиды, полученные из Antennapedia (прежде всего, из Drosophila anten-

30 antennapedia), pAntp, pIsl, FGF, лактоферрин, транспортан, буфорин-2, Vac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, полученные из hCT пептиды, SAP или гистоны.

В этом контексте наиболее предпочтительным является протамин.

Кроме того, предпочтительные катионные или поликатионные белки или пептиды, можно выбирать из следующих белков или пептидов, которые имеют следующую

35 общую формулу (III):



в которой $l+m+n+o+x$ обозначают 8-15 и l, m, n или o каждый независимо друг от друга могут представлять собой любые числа, выбранные 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

40 по меньшей мере 50% от общего содержания аминокислот в олигопептиде; а Xaa может обозначать любую аминокислоту, выбранную из нативных (т.е. встречающихся в естественных условиях) или не встречающихся в естественных условиях аминокислот за исключением Arg, Lys, His или Orn; и x может обозначать любое число, выбранное

45 из 0, 1, 2, 3 или 4, при условии, что общее содержание Xaa не превышает 50% от общего содержания аминокислот в олигопептиде. В этом контексте наиболее предпочтительными катионными пептидами являются, например, Arg₇, Arg₈, Arg₉, H₃R₉, R₉H₃, H₃R₉H₃, YSSR₉SSY, (RKH)₄, Y(RKH)₂R и т.д., которые описаны в WO 2009/030481,

которая включена в настоящее описание в качестве ссылки.

Кроме того, предпочтительные катионные или поликатионные соединения, которые можно применять в качестве агентов для трансфекции или комплексообразования, могут включать катионные полисахариды, например, хитозан, полибрен, катионные полимеры, например, полиэтиленимин (ПЭИ), катионные липиды, например, DOTMA: хлорид [1-(2,3-сиолеилокси)пропил]-N,N,N-триметиламмония, DMRIE, ди-С14-амидин, DOTIM, SAINT, DC-Chol, BGTC, СТАР, 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 -триметиламмонийацетил)диэтанолamina, CLIP1: хлорид рац[(2,3-диоктадецилоксипропил)(2-гидроксиэтил)]диметиламмония, CLIP6: рац[2(2,3-дигексадецилоксипропил)оксиметилокси]этил]триметиламмоний, CLIP9: рац[2(2,3-дигексадецилоксипропил)оксисукцинил)этил]триметиламмоний, олигофектамин, или катионные или поликатионные полимеры, например, модифицированные полиаминокислоты, такие как полимеры 13-аминокислот или обращенные полиамиды и т.п., модифицированные полиэтилены, такие как ПВП (поли-N-этил-4-винилпириднийбромид)) и т.п., модифицированные акрилаты, такие как пДМАЭМА (поли(диметиламиноэтилметилакрилат)) и т.п., модифицированные амидоамины, такие как ПАМАМ (поли(амидоамин)) и т.п., модифицированные сложные поли- β -аминоэфир (ПБАЭ), такие как модифицированные в диаминоконцевом фрагменте сополимеры 1,4-бутандиолдиакрилата и 5-амино-1-пентанола и т.п., дендримеры, такие как дендримеры полипропиламина или дендримеры на основе ПАМАМ и т.п., полиимин(ы), такие как полиэтиленимин (ПЭИ), полипропиленимин и т.п., полиаллиламин, полимеры на основе сахарного каркаса, такие как полимеры на основе циклодекстрина, полимеры на основе декстрана, хитозан и т.п., силановые полимеры, такие как сополимеры PMOXA-PDMS и т.п., блокполимеры, включающие комбинацию одного или более катионных блоков (например, выбранных из катионных полимеров, указанных выше) и одного или нескольких гидрофильных или гидрофобных блоков (таких, например, как полиэтиленгликоль) и т.п.

Полимерный носитель, применяемый согласно изобретению, может представлять собой полимерный носитель, состоящий из сшитых дисульфидами катионных компонентов. Сшитые дисульфидами катионные компоненты могут быть одинаковыми или отличными друг от друга. Полимерный носитель может содержать также другие компоненты. Наиболее предпочтительно также, чтобы полимерный носитель, применяемый согласно настоящему изобретению, содержал смеси катионных пептидов, белков или полимеров и необязательно другие компоненты, указанные в настоящем описании, которые сшиты с помощью дисульфидных связей, как указано в настоящем описании. В этом контексте содержание WO 2012/013326 включено в настоящее описание в качестве ссылки.

В этом контексте катионные компоненты, которые в результате сшивания дисульфидами формируют основу полимерного носителя, как правило, выбирают из любых пригодных катионных или поликатионных пептидов, белков или полимеров, которые можно применять для этой цели, прежде всего из любых катионных или поликатионных пептидов, белков или полимеров, которые обладают способностью образовывать комплекс с мРНК или нуклеиновой кислотой, указанной в настоящем изобретении, и тем самым предпочтительно конденсировать мРНК или нуклеиновую

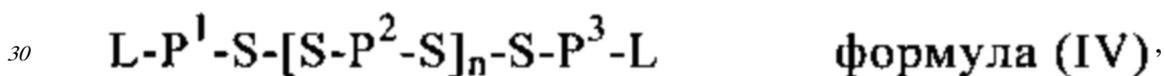
кислоту. Катионный или поликатионный пептид, белок или полимер предпочтительно представляет собой линейную молекулу, однако можно применять также разветвленные катионные или поликатионные пептиды, белки или полимеры.

Каждый сшитый дисульфидами катионный или поликатионный белок, пептид или полимер полимерного носителя, который можно применять для образования комплекса с предлагаемой в изобретении мРНК или любой другой нуклеиновой кислотой, входящей в предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину, содержит по меньшей мере одну -SH-группу, наиболее предпочтительно по меньшей мере один цистеиновый остаток или любую другую химическую группу, несущую -SH-группу, которая способна образовывать дисульфидную связь при конденсации по меньшей мере с одним другим катионным или поликатионным белком, пептидом или полимером в качестве катионного компонента полимерного носителя, указанного в настоящем описании.

Как указано выше, полимерный носитель, который можно применять для образования комплекса с предлагаемой в изобретении мРНК или любой другой нуклеиновой кислотой, входящей в предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину, может быть образован из сшитых дисульфидами катионных (или поликатионных) компонентов.

Предпочтительно указанные катионные или поликатионные пептиды или белки или полимеры полимерного носителя, которые содержат или дополнительно модифицированы так, что они содержат по меньшей мере одну -SH-группу, выбирают из белков, пептидов и полимеров, указанных выше в качестве комплексообразующего агента.

В другом конкретном варианте осуществления изобретения полимерный носитель, который можно применять для образования комплекса с предлагаемой в изобретении мРНК или любой другой нуклеиновой кислотой, входящей в предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину, можно выбирать из молекулы полимерного носителя, имеющей общую форму (IV):



в которой

P^1 и P^3 являются различными или идентичными друг другу и представляют собой линейную или разветвленную гидрофильную полимерную цепь, каждый P^1 и P^3 несет по меньшей мере одну -SH-группу, способную образовывать дисульфидную связь при конденсации с компонентом P^2 , или альтернативно этому с (AA), $(AA)_x$ или $[(AA)_x]_z$, если указанные компоненты используют в качестве линкера между P^1 и P^2 или P^3 и P^2) и/или с другими компонентами (например, (AA), $(AA)_x$, $[(AA)_x]_z$ или L), линейную или разветвленную гидрофильную полимерную цепь, выбранную независимо друг от друга из полиэтиленгликоля (ПЭГ), поли-N-(2-гидроксипропил)метакриламида, поли-2-(метакрилоилокси)этилфосфорилхолинов, поли(гидроксиалкил-L-аспарагина), поли(2-(метакрилоилокси)этилфосфорилхолина), гидроксиэтилкрахмала или поли(гидроксиалкид-L-глутамин), где гидрофильная полимерная цепь имеет молекулярную массу от примерно 1 до примерно 100 кДа, предпочтительно от примерно 2 до примерно 25 кДа или более предпочтительно от примерно 2 до примерно 10 кДа, например, от примерно 5 до примерно 25 кДа или от 5 до примерно 10 кДа;

P^2 обозначает катионный или поликатионный пептид или белок, например, указанный

выше для полимерного носителя, сформированного сшитыми дисульфидами катионными компонентами, и предпочтительно имеющий длину от примерно 3 до примерно 100 аминокислот, более предпочтительно имеющий длину от примерно 3 до примерно 50 аминокислот, еще более предпочтительно имеющий длину от примерно 3 до примерно 25 аминокислот, например, имеющий длину примерно от 3 до 10, от 5 до 15, от 10 до 20 или от 15 до 25 аминокислот, более предпочтительно имеющий длину от примерно 5 до примерно 20 и еще более предпочтительно имеющий длину от примерно 10 до примерно 20 аминокислот; или

обозначает катионный или поликатионный полимер, например, указанный выше для полимерного носителя, сформированного сшитыми дисульфидами катионными компонентами, как правило, имеющий молекулярную массу от примерно 0,5 до примерно 30 кДа, включая молекулярную массу от примерно 1 до примерно 20 кДа, еще более предпочтительно от примерно 1,5 до примерно 10 кДа, или имеющий молекулярную массу от примерно 0,5 до примерно 100 кДа, включая молекулярную массу от примерно 10 до примерно 50 кДа, еще более предпочтительно от примерно 10 до примерно 30 кДа;

каждый P^2 несет по меньшей мере две -SH-группы, способные образовывать дисульфидную связь при конденсации с другими компонентами P^2 или с компонентом (ами) P^1 и/или P^3 , или альтернативно этому с другими компонентами (например, (AA), $(AA)_x$ или $[(AA)_x]_z$);

-S-S- обозначает (обратимую) дисульфидную связь (для удобочитаемости скобки опущены), в которой S предпочтительно представляет собой серу или несущую -SH группу, которая образует (обратимую) дисульфидную связь. (Обратимую) дисульфидную связь предпочтительно получают путем конденсации -SH-групп либо компонентов P^1 и P^2 , либо P^2 и P^2 , либо P^2 и P^3 , либо необязательно других компонентов, указанных в настоящем описании (например, L, (AA), $(AA)_x$, $[(AA)_x]_z$ и т.д.); -SH-группа может представлять собой часть структуры указанных компонентов или может быть добавлена путем указанной модификации;

L обозначает необязательный лиганд, который может присутствовать или отсутствовать, и его можно выбирать независимо друг от друга из RGD, трансферрина, фолата, сигнального пептида или сигнальной последовательности, сигнала или последовательности локализации, сигнала или последовательности ядерной локализации (NLS), антитела, проникающего в клетку пептида (например, TAT или KALA), лиганда рецептора (например, цитокинов, гормонов, факторов роста и т.д.), малых молекул (например, углеводов типа маннозы или галактозы, или синтетических лигандов), агонистов малых молекул, ингибиторов или антагонистов рецепторов (например, аналогов RGD-пептидомиметиков) или любого другого белка, указанного в настоящем описании, и т.д.;

n обозначает целое число, как правило выбранное из диапазона примерно от 1 до 50, предпочтительно из диапазона примерно от 1, 2 или 3 до 30, более предпочтительно из диапазона примерно от 1, 2, 3, 4 или 5 до 25, или диапазона примерно от 1, 2, 3, 4 или 5 до 20, или диапазона примерно от 1, 2, 3, 4 или 5 до 15, или диапазона примерно от 1, 2, 3, 4 или 5 до 10, включая, например, диапазон примерно от 4 до 9, от 4 до 10, от 3 до 20, от 4 до 20, от 5 до 20 или от 10 до 20, или диапазон примерно от 3 до 15, от 4 до 15, от 5 до 15 или от 10 до 15, или диапазон примерно от 6 до 11 или от 7 до 10. Наиболее предпочтительно n находится в диапазоне примерно от 1, 2, 3, 4 или 5 до 10, более

предпочтительно в диапазоне примерно от 1, 2, 3 или 4 до 9, в диапазоне примерно от 1, 2, 3 или 4 до 8, или в диапазоне примерно от 1, 2 или 3 до 7.

В этом контексте содержание WO 2011/026641 включено в настоящее описание в качестве ссылки. Каждый из гидрофильных полимеров P^1 и P^3 , как правило, несет по меньшей мере одну -SH-группу, где по меньшей мере одна -SH-группа может образовывать дисульфидную связь при взаимодействии с компонентом P^2 или с компонентом (AA) или $(AA)_x$, если его используют в качестве линкера между P^1 и P^2 или P^3 и P^2 , как указано ниже, и необязательно с другим компонентом, например, L и/или (AA) или $(AA)_x$, например, если он несет две или большее количество -SH-групп.

Следующие подформулы « $P^1-S-S-P^2$ » и « $P^2-S-S-P^3$ » в представленной выше общей формуле (V) (для большей удобочитаемости скобки опущены), в которой все S, P^1 и P^3 имеют указанные выше значения, как правило, описывают ситуацию, когда одна -SH-группа гидрофильных полимеров P^1 и P^3 сконденсирована с одной -SH-группой компонента P^2 в представленной выше общей формуле (V), где оба атома серы в указанных -SH-группах образуют дисульфидную связь -S-S-, как указано в формуле (V). Указанные -SH-группы, как правило, присутствуют в каждом из гидрофильных

полимеров P^1 и P^3 , например, присутствуют в локализованном внутри него цистеине или любой другой (модифицированной) аминокислоте или соединении, которая/которое несет -SH-группу. Следовательно, подформулы « $P^1-S-S-P^2$ » и « $P^2-S-S-P^3$ » можно записать также в виде « $P^1-Cys-Cys-P^2$ » и « $P^2-Cys-Cys-P^3$ », если -SH-группа присутствует в цистеине, где понятие Cys-Cys обозначает два цистеина, сцепленных дисульфидной связью, но не пептидной связью. В этом случае понятие «-S-S-» в указанных формулах можно записать также в виде «-S-Cys», в виде «-Cys-S» или в виде «-Cys-Cys-». В этом контексте понятие «-Cys-Cys-» описывает не пептидную связь, а сцепление двух цистеинов через их -SH-группы с образованием дисульфидной связи. Таким образом, понятие «-Cys-Cys-» можно записать также в общем виде как «-(Cys-S)-(S-Cys)-», где в рассматриваемом конкретном случае S обозначает атом серы -SH-группы цистеина. Аналогично этому понятия «-S-Cys» и «-Cys-S» обозначают дисульфидную связь между содержащим -SH-группу фрагментом и цистеином, которые можно записать также как «-S-(S-Cys)» и «-

(Cys-S)-S». Альтернативно этому, гидрофильные полимеры P^1 и P^3 можно модифицировать -SH-группой, предпочтительно посредством химического взаимодействия с соединением, несущим -SH-группу, так, чтобы каждый из гидрофильных полимеров P^1 и P^3 нес по меньшей мере одну -SH-группу. Такое соединение, несущее -SH-группу, может представлять собой, например, (дополнительный) цистеин или любую другую (модифицированную) аминокислоту, которая несет -SH-группу. Такое соединение может представлять собой также отличное от аминокислоты соединение или группу, которое/которая содержит или дает возможность интродуцировать -SH-группу в гидрофильные полимеры P^1 и P^3 , представленные в настоящем описании. Такие отличные от аминокислот соединения

можно присоединять к гидрофильным полимерам P^1 и P^3 полимерного носителя формулы (VI), предлагаемого в настоящем изобретении, посредством химических взаимодействий или путем связывания с соединениями, например, путем связывания с 3-тиопропионовой кислотой или тиоимоланом, путем образования амида (например,

дополнительный) цистеин или любую другую (модифицированную) аминокислоту, которая несет -SH-группу. Такое соединение может представлять собой также отличное от аминокислоты соединение или группу, которое/которая содержит или дает возможность интродуцировать -SH-группу в гидрофильные полимеры P^1 и P^3 , представленные в настоящем описании. Такие отличные от аминокислот соединения

можно присоединять к гидрофильным полимерам P^1 и P^3 полимерного носителя формулы (VI), предлагаемого в настоящем изобретении, посредством химических взаимодействий или путем связывания с соединениями, например, путем связывания с 3-тиопропионовой кислотой или тиоимоланом, путем образования амида (например,

дополнительный) цистеин или любую другую (модифицированную) аминокислоту, которая несет -SH-группу. Такое соединение может представлять собой также отличное от аминокислоты соединение или группу, которое/которая содержит или дает возможность интродуцировать -SH-группу в гидрофильные полимеры P^1 и P^3 , представленные в настоящем описании. Такие отличные от аминокислот соединения

карбоновые кислоты, сульфоновые кислоты, амины и т.д.), путем реакции присоединения по Михаэлю (например, малеимидные группы, α,β -ненасыщенные карбонилы и т.д.), с помощью клик-химии (например, азиды или алкины), с помощью метатезиса алкенов/ алкинов (например, алкены или алкины), формирования иминов или гидрозонов (альдегиды или кетоны, гидразины, гидроксилламины, амины), реакций комплекссообразования (авидин, биотин, белок G) или с компонентами, которые допускают реакции замещения S_N -типа (например, галогеналканы, тиолы, спирты, амины, гидразины, гидразиды, эфиры сульфоновых кислот, соли оксифосфония) или другими химическими группами, которые можно использовать для присоединения других компонентов. В этом контексте наиболее предпочтительным производным ПЭГ является альфа-метокси-омега-меркапто-поли(этиленгликоль). В каждом случае SH-группа, например, цистеина или любой другой (модифицированной) аминокислоты или соединения, может присутствовать на концах или в любом положении внутри гидрофильных полимеров P^1 и P^3 . Как указано в настоящем описании, каждый из гидрофильных полимеров P^1 и P^3 , как правило, несет по меньшей мере одну -SH-группу, предпочтительно на одном конце, но может содержать также две или даже большее количество -SH-групп, которые можно использовать для дополнительного присоединения других компонентов, указанных в настоящем описании, предпочтительно других функциональных пептидов или белков, например, лиганда, аминокислотного компонента (AA) или $(AA)_x$, антител, проникающих в клетку пептидов или энхансерных пептидов (например, TAT, KALA) и т.д.

В этом контексте наиболее предпочтительно, если предлагаемая в изобретении мРНК образует комплекс по меньшей мере частично с катионным или поликатионным соединением и/или полимерным носителем, предпочтительно катионными белками или пептидами. В этом контексте содержание WO 2010/037539 и содержание WO 2012/113513 включены в настоящее описание в качестве ссылки. «Частично» означает, что только часть предлагаемой в изобретении мРНК входит в состав комплекса с катионным соединением и что остальная предлагаемая в изобретении мРНК (входящая в предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину) не входит в состав комплекса (т.е. находится в «свободной» форме). Предпочтительно соотношение входящая в комплекс мРНК : свободная мРНК (в предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцине) выбирают из диапазона от примерно 5:1 до примерно 1:10 (мас./мас.), более предпочтительно из диапазона от примерно 4:1 до примерно 1:8 (мас./мас.), еще более предпочтительно из диапазона от примерно 3:1 до примерно 1:5 (мас./мас.) или 1:3 (мас./мас.), и наиболее предпочтительно соотношение входящая в комплекс мРНК : свободная мРНК в предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцине, выбирают из соотношения, составляющего примерно 1:1 (мас./мас.).

Входящую в комплекс мРНК, предлагаемую в изобретении, содержащуюся в предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцине, предпочтительно получают, формируя на первой стадии комплекс предлагаемой в изобретении мРНК с катионным или поликатионным соединением и/или с полимерным носителем, предпочтительно указанным в настоящем описании, в определенном соотношении для создания стабильного комплекса. В этом контексте наиболее предпочтительно, чтобы после включения в комплекс мРНК не оставалось свободного катионного или поликатионного соединения, или полимерного носителя или чтобы оно/он присутствовал лишь в незначительном количестве в компоненте, содержащем

включенную в комплекс мРНК. Следовательно, соотношение между мРНК и катионным или поликатионным соединением и/или полимерным носителем в компоненте, представляющем собой включенную в комплекс мРНК, как правило, выбирают таким образом, чтобы мРНК была полностью включена в комплекс и чтобы в композиции не оставалось свободного катионного или поликатионного соединения, или полимерного носителя, или чтобы оно/он присутствовал лишь в незначительном количестве.

Предпочтительно соотношение между мРНК и катионным или поликатионным соединением и/или полимерным носителем, предпочтительно указанным в настоящем описании, выбирают из диапазона от примерно 6:1 до примерно 0,25:1 (мас./мас.), более предпочтительно от примерно 5:1 до примерно 0,5:1 (мас./мас.), еще более предпочтительно от примерно 4:1 до примерно 1:1 (мас./мас.) или от примерно 3:1 до примерно 1:1 (мас./мас.), и наиболее предпочтительно соотношение составляет от примерно 3:1 до примерно 2:1 (мас./мас.). Альтернативно этому соотношению между мРНК и катионным или поликатионным соединением и/или полимерным носителем, предпочтительно, указанным в настоящем описании, в компоненте, содержащем включенную в комплекс мРНК, можно рассчитывать также на основе соотношения азот/фосфат (N/P-соотношение) для всего комплекса. В контексте настоящего изобретения N/P-соотношение предпочтительно находится в диапазоне примерно 0,1-10, предпочтительно в диапазоне примерно 0,3-4 и наиболее предпочтительно диапазоне примерно 0,5-2 или 0,7-2 касательно соотношения катионное или поликатионное соединение и/или полимерный носитель: мРНК в комплексе, предпочтительно, указанном в настоящем описании, и наиболее предпочтительно в диапазоне примерно 0,7-1,5, 0,5-1 или 0,7-1, и еще наиболее предпочтительно в диапазоне примерно 0,3-0,9 или 0,5-0,9, предпочтительно при условии, что катионное или поликатионное соединение в комплексе представляет собой катионный или поликатионный белок, или пептид и/или полимерный носитель, указанный выше. В этом конкретном варианте осуществления изобретения включенная в комплекс мРНК подпадает также под понятие «адьювантный компонент».

Другим объектом изобретения является композиция, содержащая несколько или больше одной, предпочтительно от 2 до 10, более предпочтительно от 2 до 5, наиболее предпочтительно от 2 до 4 предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании. Такие указанные в изобретении композиции содержат более одной предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, которые предпочтительно кодируют различные пептиды или белки, содержащие предпочтительно различные патогенные антигены или их фрагменты, варианты или производные. Наиболее предпочтительным в этом контексте является то, что по меньшей мере одна последовательность мРНК кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F респираторно-синцитиального вируса (РСВ) и что по меньшей мере одна последовательность мРНК кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из другого антигена респираторно-синцитиального вируса (РСВ), прежде всего нуклеопротеина N или белка M2-1.

В этом контексте наиболее предпочтительными комбинациями антигенов являются:

- F+G (серотип А) + G (серотип В)
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + M2-1
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + M2-1
- F + M2-1 + N
- F + M2-1

- F+N
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + M2-1 + P + M2-2 + M+L
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + M2-1 + P + M2-2 + M
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + M2-1 + P + M2-2 + L
- 5 - F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + M2-1 + P + M+L
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + M2-1 + M2-2 + M+L
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + N + P + M2-2 + M+L
- F+G (серотип А) + G (серотип В) + M2-1 + P + M2-2 + M+L.

Таким образом, следующим наиболее предпочтительным объектом настоящего
 10 изобретения является также фармацевтическая композиция, которая содержит по
 меньшей мере одну предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную
 в настоящем описании, или предлагаемую в изобретении композицию, содержащую
 несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в
 15 настоящем описании, и необязательно фармацевтически приемлемый носитель и/или
 наполнитель.

В качестве первого ингредиента предлагаемая в изобретении фармацевтическая
 композиция содержит по меньшей мере одну предлагаемую в изобретении
 последовательность мРНК, указанную в настоящем описании.

В качестве второго ингредиента предлагаемая в изобретении фармацевтическая
 20 композиция может необязательно содержать по меньшей мере один дополнительный
 фармацевтически активный компонент. В этом контексте фармацевтически активный
 компонент представляет собой соединение, которое обладает терапевтическим действием
 с позиций лечения, облегчения или предупреждения конкретного показания или
 заболевания, указанного в настоящем описании, предпочтительно вызываемых РСВ
 25 инфекций. Указанные соединения включают (но, не ограничиваясь только ими) пептиды
 или белки, предпочтительно указанные в настоящем описании, нуклеиновые кислоты,
 предпочтительно указанные в настоящем описании, (терапевтически активные)
 низкомолекулярные органические или неорганические соединения (с молекулярной
 массой менее 5000, предпочтительно менее 1000), сахара, антигены или антитела,
 30 предпочтительно указанные в настоящем описании, терапевтические средства, уже
 известные из существующего уровня техники, антигенные клетки, антигенные клеточные
 фрагменты, клеточные фракции; компоненты клеточной оболочки (например,
 полисахариды), модифицированные, ослабленные или деактивированные (например,
 химически или путем облучения) патогены (вирус, бактерии и т.д.), адьюванты,
 35 предпочтительно указанные в настоящем описании, и т.д. Наиболее предпочтительными
 в этом контексте являются вакцины на основе РСВ или иммуноглобулинов против
 РСВ, например, паливизумаб (Synagis®).

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно вводить
 40 орально, парентерально, с помощью спрея для ингаляции, местно, ректально, назально,
 трансбуккально, вагинально или с помощью имплантируемого резервуара. Понятие
 «парентеральный» в контексте настоящего описания включает подкожную,
 внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, интрасиновиальную, надчревную,
 внутриболоочечную, внутрипеченочную, в пораженный участок, внутричерепную,
 трансдермальную, внутрикожную, внутрилегочную, внутрибрюшинную,
 45 внутрисердечную, внутриартериальную и подъязычную инъекцию или инфузию.

Наиболее предпочтительной является внутрикожная и внутримышечная инъекция.
 Стерильные инъекционные формы предлагаемых в изобретении фармацевтических
 композиций могут представлять собой водную или масляную суспензию. Такие суспензии

можно приготавливать с помощью методов, известных в данной области, с использованием пригодных диспергирующих или смачивающих агентов или суспендирующих агентов.

5 В предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию вводят с помощью внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно с использованием общепринятой техники на основе игольной инъекции или с использованием безыгольной системы, например, струйной инъекции. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно вводить с помощью
10 струйной инъекции, представленной в настоящем описании. Предпочтительно предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно вводить внутримышечно с помощью струйной инъекции. Согласно другому варианту осуществления изобретения фармацевтическую композицию вводят внутрикожно с помощью струйной инъекции.

15 В предпочтительном варианте осуществления изобретения фармацевтическую композицию можно вводить один, два или три раза, предпочтительно с помощью внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно струйной инъекции. Согласно конкретному варианту осуществления изобретения одного введения предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции, предпочтительно с
20 использованием внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно с помощью струйной инъекции, достаточно для вызывания иммунного ответа против по меньшей мере одного антигена, кодируемого последовательностью мРНК, предлагаемой в изобретении. В предпочтительном варианте осуществления изобретения одно введение фармацевтической композиции вызывает иммунный ответ, который
25 приводит к нейтрализации вируса. В этом контексте наиболее предпочтительной является одна единичная внутрикожная или внутримышечная инъекция фармацевтической композиции. Предпочтительно необязательно можно осуществлять дополнительные введения фармацевтической композиции для повышения и/или пролонгирования иммунного ответа.

30 Согласно конкретному варианту осуществления изобретения предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может содержать адъювант. В этом контексте под адъювантом можно понимать любое соединение, которое может инициировать или повышать иммунный ответ врожденной иммунной системы, т.е. неспецифический иммунный ответ. Другими словами, предлагаемая в изобретении
35 фармацевтическая композиция, когда ее вводят, предпочтительно вызывает врожденный иммунный ответ благодаря адъюванту, который необязательно содержится в ней. Предпочтительно указанный адъювант можно выбирать из адъювантов, известных специалисту в данной области и пригодных для рассматриваемого случая, т.е. для поддержания индукции врожденного иммунного ответа у млекопитающего, например,
40 выбирать из адъювантного белка, описанного выше, или адъюванта, указанного ниже.

Наиболее предпочтительными в качестве адъювантов, пригодных для запасаения и доставки являются катионные или поликатионные соединения, описанные выше в качестве наполнителя, агента для трансфекции или комплексообразования для предлагаемой в изобретении последовательности мРНК.

45 Кроме того, предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может содержать один или несколько дополнительных адъювантов, пригодных для инициации или усиления иммунного ответа врожденной иммунной системы, т.е. неспецифического иммунного ответа, прежде всего посредством связывания с патоген-ассоциированными

молекулярными паттернами (РАМР). Другими словами, при введении фармацевтическая композиция или вакцина предпочтительно вызывает врожденный иммунный ответ благодаря адьюванту, который необязательно содержится в ней. Предпочтительно указанный адьювант можно выбирать из адьювантов, известных специалисту в данной области и пригодных для рассматриваемого случая, т.е. для поддержания индукции врожденного иммунного ответа у млекопитающего, например, из адьювантного белка, описанного выше, или адьюванта, указанного ниже. Согласно одному из вариантов осуществления изобретения указанный адьювант можно выбирать из указанного ниже адьюванта.

Кроме того, указанный адьювант можно выбирать из адьюванта, известного специалисту в данной области и пригодного для рассматриваемого случая, т.е. для поддержания индукции врожденного иммунного ответа у млекопитающего и/или пригодного для запасаения и доставки компонентов предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины. Предпочтительными в качестве пригодных для запасаения и доставки адьювантов, являются катионные или поликатионные соединения, указанные выше. Аналогично этому, адьювант можно выбирать из группы, состоящей, например, из катионных или поликатионных соединений, указанных выше, таких как хитозан, TDM, MDP, мурамилдипептид, плуроники, раствор квасцов, гидроксид алюминия, ADJUMER™ (полифосфазен); гель фосфата алюминия; глюкозаны, выделенные из водорослей; алгаммулин; гель гидроксида алюминия (квасцы); высокоадсорбирующий белки гель гидроксида алюминия; обладающий низкой вязкостью гель гидроксида алюминия; AF или SPT (эмульсия, содержащая сквалан (5%), Твин 80 (0.2%), плуроник L121 (1,25%), забуференный фосфатом физиологический раствор, pH 7,4); AVRIDINE™ (пропандиамин); BAY R1005™ ((N-(2-дезоксидеокси-2-L-леуциламиноб-D-глюкопиранозил)-N-октадециламида гидроацетат); CALCITRIOL™ (1-альфа,25-дигидрокси-витамин D3); гель фосфата кальция; CAP™ (наночастицы фосфата кальция); холерный холотоксин, слитый белок холерный токсин-A1-белок-A-D-фрагмент, субъединица В холерного токсина; CRL 1005 (блок-сополимер P1205); содержащие цитокин липосомы; DDA (диметилдиоктадециламмония бромид); DHEA (дегидроэпиандростерон); DMPC (димиристоилфосфатидилхолин); DMPG (димиристоилфосфатидилглицерин); комплекс DOC/квасцы (натриевая соль дезоксихинолиновой кислоты); полный адьювант Фрейнда; неполный адьювант Фрейнда; инулин-гамма; адьювант Гербу (смесь, содержащая: I) N-ацетилглюкозаминил-(P1-4)-N-ацетилмурамоил-L-аланил-D35 глутамин (GMDP), II) диметилдиоктадециламмония хлорид (DDA), III) комплекс цинк-соль L-пролина (ZnPro-8); GM-CSF); GMDP (N-ацетилглюкозаминил-(b1-4)-N-ацетилмурамил-L47 аланил-D-изоглутамин); имиквимод (1-(2-метилпропил)-1H-имидазо[4,5-c]хинолин-4-амин); ImmTher™ (N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-Ala-D-изоGlu-L-Ala-глицерина дипальмитат); DRV (иммунолипосомы, приготовленные из везикул, полученных методом гидратации-регидратации); интерферон-гамма; интерлейкин-1бета; интерлейкин-2; интерлейкин-7; интерлейкин-12; ISCOMSTM; ISCOMPREP 7.0.3. TM; липосомы; LOXORIBINE™ (7-аллил-8-оксогуанозин); оральные адьюванты LT 5 (лабильный энтеротоксин-протоксин из E. coli); микросферы и микрочастицы любого состава; MF59™; (водная эмульсия сквалена); MONTANIDE ISA 51™ (очищенный неполный адьювант Фрейнда); MONTANIDE ISA 720™ (метаболизированный масляный адьювант); MPL™ (3-Q-дезацетил-4'-монофосфорил-липид А); липосомы MTP-PE и MTP-PE ((N-ацетил-L-аланил-D-изоглутаминил-L-аланин-2-(1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-(гидроксифосфорилокси)) этиламид, одонатриевая соль); MURAMETIDE™ (Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH3);

MURAPALMITINE™ и DMURAPALMITINE™ (Nac-Mur-L-Thr-D-изоGIn-sn-глицериндипальмитоил); NAGO (нейраминидаза-галактозооксидаза); наносферы или наночастицы любого состава; NISV (везикулы из неионогенного поверхностно-активного вещества); PLEURAN™ (β-глюкан); PLGA, PGA и PLA (гомо- и сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты; микросферы/наносферы); ПЛЮРОНИК L121™; PMMA (полиметилметакрилат); PODDS™ (протеноидные микросферы); полиэтиленкарбаматные производные; поли-гА : поли-гU (комплекс полиадениловая кислота-полиуридиновая кислота); полисорбат 80 (Твин 80); белковые кохлеаты (фирма Avanti Polar Lipids, Inc., Алабастер, шт. Алабама); STIMULON™ (QS-21); Quil-A (сапонин Quil-A); S-28463 (4-аминоотекдиметил-2-этоксиметил-1Н-имидазо[4,5-с]хинолин-1-этанол); SAF-1™ («композиция адьювантов фирмы Syntex»); протеолипосомы вируса Сендаи и липидные матрицы, содержащие вирус Сендаи; Спан-85 (сорбитантриолеат); Specol (эмульсия Marcol 52, Спан 85 и Твин 85); сквален или Robane® (2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракозан и 2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракозагексан); стеарилтирозин (октадецилтирозина гидрохлорид); Theramid® (N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-Ala-D-isoGlu-L-Ala-дипальмитоксипропиламид); Theronyl-MDP (Termurtide™ или [thr 1]-MDP; N-ацетилмурамил-L-треонил-D-изоглутамин); Ту-частицы (Ту-ВПЧ или вирусоподобные частицы); липосомы Уолтера-Рида (липосомы, содержащие липид А, адсорбированный на гидроксиде алюминия) и липопептиды, включая Pam3Cys, прежде всего соли алюминия, такие как адью-фос (Adju-phos), алгидрогель, регидрагель и т.д., эмульсии, такие как CFA, SAF, IFA, MF59, провакс, TiterMax, монтанид, ваксфектин и т.д., сополимеры, такие как оптивакс (Optivax, CRL1005), L121, полоксамер 4010) и т.д., липосомы, такие как «липосомы-невидимки (Stealth)» и т.д., кохлеаты, такие как BIORAL, и т.д., адьюванты растительного происхождения, такие как QS21, Quil A, Iscomatrix, ISCOM; адьюванты, пригодные для костимуляции, включая томатин, биополимеры, такие как PLG, PMM, инулин и т.д., адьюванты микробного происхождения, такие как ромуртид, DETOX, MPL, CWS, манноза, нуклеотидные последовательности CpG, CpG7909, лиганды человеческого TLR 1-13, ISS-1018, 35 IC31, имидазохинолины, амплиген, Ribi529, IMOXine, IRIV, ВПЧ, холерный токсин, термолабильный токсин, Pam3Cys, флагеллин, GPI (гликозилфосфатидилинозитол)-якорь, LNFPIII/Lewis X, противомикробные пептиды, UC-1V150, слитый белок RSV, cdiGMP; и адьюванты, пригодные в качестве антагонистов, включая нейропептид CGRP.

Адьювант наиболее предпочтительно выбирают из адьювантов, которые поддерживают индукцию Th1-иммунного ответа или созревание наивных Т-клеток, таких как GM-CSF, IL-12, IFNg, любой иммуностимулирующей нуклеиновой кислоты, указанной выше, предпочтительно иммуностимулирующей РНК, ДНК CpG и т.д.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может содержать помимо образующей антиген мРНК также другие компоненты, которые выбирают из группы, включающей: другие антигены или другие образующие антиген нуклеиновые кислоты; другой иммунотерапевтический агент; одну или несколько вспомогательных субстанций; или любое другое соединение, в отношении которого известно, что оно обладает иммуностимулирующим действием благодаря его аффинности связывания (как лиганда) с человеческими Толл-подобными рецепторами; и/или адьювантную нуклеиновую кислоту, предпочтительно иммуностимулирующую РНК (isРНК).

Предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может дополнительно содержать одну или несколько вспомогательных субстанций, предназначенных для

повышения при необходимости иммуногенности или иммуностимулирующей способности. Тем самым предпочтительно достигается синергетическое действие предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, представленной в настоящем описании, и вспомогательной субстанции, которая необязательно может содержаться в предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции. В зависимости от различных типов вспомогательных субстанций в этом контексте можно рассматривать различные механизмы. Например, соединения, ускоряющие созревание дендритных клеток (ДК), например липополисахариды, TNF-альфа или лиганд CD40, образуют первый класс пригодных вспомогательных веществ. В целом, в качестве вспомогательного вещества можно использовать любой агент, который оказывает влияние на иммунную систему, по механизму «сигнала опасности» (LPS, GP96, и т.п.), или можно использовать цитокины, такие как GM-CSF, которые позволяют целенаправленно усиливать иммунный ответ или целенаправленно влиять на него. Наиболее предпочтительными вспомогательными веществами являются цитокины, такие как монокины, лимфокины, интерлейкины или хемокины, которые дополнительно стимулируют врожденный иммунный ответ, такие как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, INF-альфа, INF-бета, INF-гамма, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-бета или TNF-альфа, факторы роста, такие как hGH.

Другими добавками, которые можно включать в состав фармацевтической композиции, предлагаемой в изобретении, являются эмульгаторы, такие, например, как Tween[®]; смачивающие вещества, такие, например, как лаурилсульфат натрия; красители; улучшающие вкус вещества; фармацевтические носители; наполнители для приготовления таблеток; стабилизаторы; антиоксиданты; консерванты.

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

В этом контексте наиболее предпочтительно, чтобы необязательно входящий в ее состав адъювантный компонент содержал такую же предлагаемую в изобретении мРНК, которая входит в предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию в качестве образующей антиген мРНК, например, мРНК, которая кодирует антигенный пептид или белок, который присутствует при заражении респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ), или его фрагменты, варианты или производные.

Кроме того, предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может дополнительно содержать компоненты, которые ускоряют введение и поглощение компонентов фармацевтической композиции. Указанные дополнительные компоненты могут представлять собой соответствующий носитель или наполнитель, дополнительные адъюванты, поддерживающие любой иммунный ответ, антибактериальные и/или противовирусные агенты.

Таким образом, в другом варианте осуществления изобретения предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция содержит также фармацевтически приемлемый носитель и/или наполнитель.

Указанный фармацевтически приемлемый носитель, как правило, включает жидкую

или нежидкую основу композиции, содержащую компоненты предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции. Если композиция находится в жидкой форме, то носитель, как правило, может представлять собой свободную от пирогенов воду; изотонический соляной раствор или забуференные (водные) растворы, например, растворы, забуференные фосфатом, цитратом и т.д. Предназначенный для инъекции 5 буфер может быть гипертоническим, изотоническим или гипотоническим относительно конкретной референс-среды, т.е. содержание в буфере солей может быть выше, идентичным или ниже их содержания в конкретной референс-среде, при этом предпочтительно можно применять такие концентрации вышеуказанных солей, которые 10 не приводят к повреждению клеток в результате осмоса или других связанных с концентрацией воздействий. Референс-среды могут представлять собой, например, жидкости, применяемые в методах «in vivo», такие как кровь, лимфа, цитозольные жидкости или другие жидкости организма, или, например, жидкости, которые можно использовать в качестве референс-сред в методах «in vitro», такие как обычные буферы 15 или жидкости. Указанные обычные буферы или жидкости известны специалисту в данной области. Наиболее предпочтительной жидкой основой является лактированный раствор Рингера.

Однако в предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции можно использовать также один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей 20 или разбавителей или капсулирующих соединений, которые можно применять для введения пациенту, подлежащему лечению. Понятие «совместимые» в контексте настоящего описания означает, что указанные компоненты предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции можно смешивать с компонентами предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции таким образом, чтобы не происходило 25 взаимодействие, которое могло бы существенно снижать фармацевтическую эффективность фармацевтической композиции в обычных условиях применения.

Дополнительным компонентом предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции может быть иммунотерапевтический агент, который можно выбирать из иммуноглобулинов, предпочтительно IgG-типа, моноклональных или поликлональных 30 антител, поликлональной сыворотки или сывороток и т.д., наиболее предпочтительно из иммуноглобулинов против респираторно-синцитиального вируса (РСВ), например, пализимумаба. Предпочтительно указанный дополнительный иммунотерапевтический агент может находиться в виде пептида/белка или может кодироваться нуклеиновой кислотой, предпочтительно ДНК или РНК, наиболее предпочтительно мРНК. 35 Указанный иммунотерапевтический агент позволяет осуществлять пассивную вакцинацию в дополнение к активной вакцинации, которая запускается предлагаемой в изобретении образующей антиген мРНК.

Кроме того, согласно конкретному варианту осуществления изобретения помимо образующей антиген мРНК в предлагаемую в изобретении фармацевтическую 40 композицию можно включать дополнительные антигены, и они, как правило, представляют собой такие субстанции как клетки, клеточные лизаты, вирусы, ослабленные вирусы, инактивированные вирусы, белки, пептиды, нуклеиновые кислоты или другие био- или макромолекулы или их фрагменты. Предпочтительно антигены могут представлять собой белки и пептиды или их фрагменты, такие как эпитопы 45 указанных белков или пептидов, предпочтительно содержащие от 5 до 15, более предпочтительно от 6 до 9 аминокислот. В частности, указанные белки, пептиды или эпитопы могут происходить из слитого белка F, гликопротеина G, гидрофобного белка SH, матриксного белка M, нуклеопротеина N, большой полимеразы L, белка M2-1,

белка М2-2, фосфопротеина Р, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или из их фрагментов, вариантов или производных. Кроме того, антигены могут содержать также любую другую биомолекулу, например, липиды, углеводы и т.д. Предпочтительно антиген представляет собой белок или (поли-)пептидный антиген, нуклеиновую кислоту, нуклеиновую кислоту, которая кодирует белковый или (поли-)пептидный антиген, полисахаридный антиген, конъюгат полисахаридного антигена, липидный антиген, гликолипидный антиген, углеводный антиген, бактерию, клетку (вакцина) или убитый или ослабленный вирус.

Предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция или вакцина, указанная в настоящем описании, может содержать также другие добавки или дополнительные соединения. Другие добавки, которые можно включать в фармацевтическую композицию, представляют собой эмульгаторы, такие, например, как Iween®; смачивающие вещества, такие, например, как лаурилсульфат натрия; красители; улучшающие вкус вещества; фармацевтические носители; наполнители для приготовления таблеток; стабилизаторы; антиоксиданты; консерванты; ингибиторы РНКазы и/или противобактериальный или противовирусный агент. Кроме того, предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция может содержать малую интерферирующую РНК (siРНК), мишенью которой являются гены респираторно-синцитиального вируса (РСВ), например, siРНК, мишенью которой являются гены, которые кодируют слитый белок F, гликопротеин G, гидрофобный белок SH, матриксный белок М, нуклеопротеин N, большую полимеразу L, белок М2-1, белок М2-2, фосфопротеин Р, неструктурный белок NS1 или неструктурный белок NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ). Предлагаемая в изобретении фармацевтическая композиция, как правило, содержит в «безопасном и эффективном количестве» компоненты предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции, прежде всего предлагаемую(ые) в изобретении последовательность(и) мРНК, указанной(ых) в настоящем описании. В контексте настоящего описания под «безопасным и эффективным количеством» подразумевается количество предлагаемой(ых) в изобретении последовательности(ей) мРНК, указанной(ых) в настоящем описании, которое является достаточным для значимой индукции положительной модификации или предупреждения заболевания или нарушения, указанного в настоящем описании. Однако в то же время «безопасное и эффективное количество» является достаточно небольшим, чтобы избегать серьезных побочных действий и обеспечивать разумное соотношение между преимуществом и риском. Определение этих пределов, как правило, находится в компетенции осуществляющего лечение врача.

Предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию можно применять для лечения человека, а также для целей медицинской ветеринарии, предпочтительно в медицине для лечения человека в общем случае в виде фармацевтической композиции или в виде вакцины.

Согласно другому наиболее предпочтительному объекту изобретения предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию (или предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную в настоящем описании, или предлагаемую в изобретении композицию, содержащую несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании) можно получать или применять в качестве вакцины. Как правило, указанная вакцина представляет собой вакцину, указанную выше при описании фармацевтической композиции. Кроме того, указанная вакцина, как правило, содержит предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную в настоящем описании, или предлагаемую в

изобретении композицию, которая содержит несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, предлагаемых в настоящем описании.

Предлагаемая в изобретении вакцина может содержать также фармацевтически приемлемый носитель, адъювант и/или наполнитель, указанные в настоящем описании для предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции. В конкретном варианте предлагаемой в изобретении вакцины выбор фармацевтически приемлемого носителя определяют в основном в зависимости от пути введения предлагаемой в изобретении вакцины. Предлагаемую в изобретении вакцину можно применять, например, системно или локально. Пути системного введения в целом включают, например, трансдермальный, оральный, парентеральный пути, включая подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, внутрикожные и внутрибрюшинные инъекции и/или интраназальный путь введения. Пути локального применения в целом включают, например, местные пути нанесения, но также и внутрикожные, чрескожные, подкожные или внутримышечные инъекции или инъекции в область повреждения, внутричерепную, внутрилегочную, внутрисердечную и подъязычную инъекции. Более предпочтительно вакцины можно применять внутрикожным, подкожным или внутримышечным путем. Таким образом, предлагаемые в изобретении вакцины предпочтительно приготавливать в форме жидкости (или иногда в твердой форме).

В предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении вакцину вводят посредством внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно с использованием общепринятой техники на основе игольной инъекции или с использованием безыгольной системы, например, струйной инъекции. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении вакцину можно вводить с помощью струйной инъекции, представленной в настоящем описании. Предпочтительно предлагаемую в изобретении вакцину вводят внутримышечно с помощью струйной инъекции. Согласно другому варианту осуществления изобретения вакцину вводят внутрикожно с помощью струйной инъекции.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения вакцину можно вводить один, два или три раза, предпочтительно с помощью внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно струйной инъекции. Согласно конкретному варианту осуществления изобретения одного введения предлагаемой в изобретении вакцины, предпочтительно с использованием внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно с использованием струйной инъекции, достаточно для вызывания иммунного ответа против по меньшей мере одного антигена, кодируемого последовательностью мРНК, предлагаемой в изобретении. В предпочтительном варианте осуществления изобретения одно введение вакцины вызывает иммунный ответ, который приводит к нейтрализации вируса. В этом контексте наиболее предпочтительной является одна единичная внутрикожная или внутримышечная инъекция вакцины. Предпочтительно необязательно можно осуществлять дополнительные введения вакцины для повышения и/или пролонгирования иммунного ответа.

Предлагаемая в изобретении вакцина может дополнительно содержать одну или несколько вспомогательных субстанций, предназначенных для повышения при необходимости иммуногенности или иммуностимулирующей способности. Наиболее предпочтительными в качестве вспомогательных субстанций или добавок являются адъюванты, описанные для фармацевтической композиции.

Следующим объектом изобретения является набор или набор компонентов, содержащий компоненты в виде предлагаемой в изобретении последовательности

мРНК, предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины, и необязательно технические инструкции с информацией о введении и дозировании компонентов.

5 Помимо компонентов, представляющих собой предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, предлагаемую в изобретении композицию, содержащую несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину, набор может дополнительно
10 содержать фармацевтически приемлемый наполнитель, адъювант и по меньшей мере один дополнительный компонент, указанный в настоящем описании, а также средства для введения и технические инструкции. Компоненты в виде предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины и, например, адъювант, могут
15 находиться в лиофилизированной форме. В предпочтительном варианте осуществления изобретения перед применением набора для вакцинации к лиофилизированным компонентам добавляют указанный наполнитель в предварительно определенном количестве, которое прописано, например, в прилагаемых технических инструкциях. Путем осуществления указанной процедуры получают предлагаемую в изобретении
20 последовательность мРНК, предлагаемую в изобретении композицию, содержащую несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину, которые описаны в представленных выше объектах изобретения, которые после этого можно применять также в описанном выше способе.

25 В настоящем изобретении предложено также несколько вариантов применения предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, указанной в настоящем описании, предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины,
30 которые все содержат предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную в настоящем описании, или содержащих их наборов.

Следующим объектом изобретения является последовательность мРНК, кодирующая по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, и композиция,
35 фармацевтическая композиция, вакцина и набор, которые все содержат последовательность мРНК, предназначенные для применения в способе профилактического и/или терапевтического лечения инфекций, вызываемых РСВ. Следовательно, следующим объектом настоящего изобретения является первое медицинское применение предлагаемой в изобретении последовательности мРНК,
40 предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины и предлагаемого в изобретении набора, которые указаны в настоящем описании, в качестве лекарственного средства. В частности, в изобретении предложено применение последовательности мРНК, кодирующей по меньшей мере
45 один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, которые указаны выше, для приготовления лекарственного средства.

Другим объектом настоящего изобретения является второе медицинское применение

последовательности мРНК, кодирующей по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, которые указаны выше, необязательно в форме композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, фармацевтической композиции или вакцины, набора или набора компонентов, для лечения вызываемых РСВ инфекций, указанных в настоящем описании. В частности, последовательность мРНК, кодирующая по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, подлежащая применению в способе, указанном выше, представляет собой последовательность мРНК, приготовленную в сочетании с фармацевтически приемлемым наполнителем и необязательно дополнительным адъювантом и необязательным дополнительным другим компонентом, которые указаны выше, например, дополнительным антигеном или иммуноглобулином против РСВ. В этом контексте наиболее предпочтительным является (профилактическое) лечение младенцев, пожилых людей и пациентов с ослабленным иммунитетом. И еще более предпочтительным является (профилактическое) лечение преждевременно родившихся младенцев и младенцев с хроническим легочным заболеванием.

Предлагаемую в изобретении последовательность мРНК в альтернативном варианте можно получать в такой форме, которая позволяет вводить ее для предупреждения или лечения вызываемых РСВ инфекций с использованием нескольких доз, где каждая доза содержит предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, кодирующую по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ) или его фрагмент, вариант или производное, например, первая доза содержит по меньшей мере одну мРНК, кодирующую по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из слитого белка F (или его фрагменты, варианты или производные), а вторая доза содержит по меньшей мере одну последовательность мРНК, кодирующую по меньшей мере один антигенный пептид или белок, происходящий из другого антигена респираторно-синцитиального вируса (РСВ), предпочтительно из нуклеопротеина N (или его фрагменты, варианты или производные), из белка M2-1 или гликопротеина G (или его фрагментов, вариантов или производных). Согласно этому варианту осуществления изобретения обе дозы вводят поочередно, т.е. последовательно, через короткий промежуток времени один за другим, например, в пределах менее 10 мин, предпочтительно менее 2 мин, и в одну и ту же область организма для достижения такого же иммунологического действия, которое достигается при однократном введении одной композиции, которая содержит обе мРНК, например, мРНК, которая кодирует слитый белок F, и мРНК, которая кодирует нуклеопротеин N.

Согласно конкретному варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину можно вводить пациенту в виде единичной дозы. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину можно вводить пациенту в виде единичной дозы с последующим введением второй дозы и необязательно даже третьей, четвертой (или еще большего количества) последующих доз и т.д. Согласно этому варианту осуществления изобретения бустерные инокуляции предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины можно вводить пациенту через конкретные интервалы времени, предпочтительно указанные ниже, после второй (или третьей, четвертой и т.д.)

инокуляции. В этом контексте особенно предпочтительным является, если несколько доз содержат такую же последовательность мРНК, которая кодирует такой же антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ), например, слитый белок F. В указанном варианте осуществления изобретения дозы вводят в течение определенного периода времени, например, составляющего 20-30 дней. Например, для постконтактной профилактики можно вводить в течение 20-30 дней по меньшей мере 5 доз предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину вводят посредством внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно с использованием общепринятой техники на основе игольной инъекции или с использованием безыгольной системы, например, струйной инъекции. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину можно вводить с помощью струйной инъекции, указанной в настоящем описании. Предпочтительно предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину вводят внутримышечно с помощью струйной инъекции. Согласно другому варианту осуществления изобретения предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину вводят внутрикожно с помощью струйной инъекции.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения предлагаемую в изобретении последовательность мРНК или предлагаемую в изобретении фармацевтическую композицию или вакцину можно вводить один, два или три раза, предпочтительно с помощью внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно струйной инъекции. Согласно конкретному варианту осуществления изобретения одного введения предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины, предпочтительно с использованием внутрикожной или внутримышечной инъекции, предпочтительно с использованием струйной инъекции, достаточно для вызывания иммунного ответа против по меньшей мере одного антигена, кодируемого последовательностью мРНК, предлагаемой в изобретении. В предпочтительном варианте осуществления изобретения одно введение предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины вызывает иммунный ответ, который приводит к нейтрализации вируса. В этом контексте наиболее предпочтительной является одна единичная внутрикожная или внутримышечная инъекция предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины. Предпочтительно необязательно можно осуществлять дополнительные введения предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины для повышения и/или пролонгирования иммунного ответа.

В некоторых вариантах осуществления изобретения в указанных бустерных инокуляциях предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины можно применять дополнительное соединение или компонент, описанный для предлагаемой в изобретении

последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении фармацевтической композиции или вакцины, которые указаны в настоящем описании.

Следующим объектом настоящего изобретения является также способ экспрессии кодируемого антигенного пептида или белка, происходящего из слитого белка F, гликопротеина G, гидрофобного белка SH, матриксного белка M, нуклеопротеина N, 5 большой субъединицы полимеразы L, белка M2-1, белка M2-2, фосфопротеина P, неструктурного белка NS1 или неструктурного белка NS2 респираторно-синцитиального вируса (РСВ), заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых а) получают предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную в настоящем 10 описании, или предлагаемую в изобретении композицию, содержащую несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, б) интродуцируют или вносят предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную в настоящем описании, или предлагаемую в изобретении композицию, содержащую несколько предлагаемых в изобретении 15 последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, в экспрессионную систему, например, бесклеточную экспрессионную систему, клетку (например, обеспечивающую экспрессию клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм. Способ можно применять для лабораторных опытов, в исследовательских целях, для диагностики, для коммерческого получения пептидов или белков и/или для 20 терапевтических целей. В этом контексте, как правило, после получения предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, указанной в настоящем описании, или предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, их, как правило, интродуцируют или вносят в бесклеточную экспрессионную систему, клетку 25 (например, обеспечивающую экспрессию клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм, например, в оголенной или входящей в комплекс форме или в виде фармацевтической композиции или вакцины, указанной в настоящем описании, предпочтительно путем трансфекции или с использованием любого из путей введения, указанных в настоящем описании. Способ можно осуществлять *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. 30 Способ можно осуществлять также в контексте лечения конкретного заболевания, прежде всего лечения инфекционных болезней, предпочтительно вызываемых РСВ инфекций, указанных в настоящем описании.

В этой связи в контексте настоящего описания к методу *in vitro* относится трансфекция или трансдукция предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, указанной 35 в настоящем описании, или предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, в клетки в культуре вне организма; в контексте настоящего описания к методу *in vivo* относится трансфекция или трансдукция предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, указанной в настоящем описании, или 40 предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, в клетки путем введения предлагаемой в изобретении последовательности мРНК или предлагаемой в изобретении композиции, в целый организм или в индивидуума, и в контексте настоящего описания к методу *ex vivo* относится трансфекция или трансдукция 45 предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, или предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, в клетки, находящиеся вне организма или индивидуума, и последующее введение трансфектированных клеток в организм или в индивидуума.

Аналогично этому, другим объектом настоящего изобретения является также применение предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, указанной в настоящем описании, или предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, предпочтительно для диагностических или терапевтических целей, для экспрессии кодируемого антигенного пептида или белка, например, путем интродукции или внесения в бесклеточную экспрессионную систему, клетку (например, обеспечивающую экспрессию клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм. Применение может включать лабораторные опыты, исследовательские цели, диагностику, коммерческое получение пептидов или белков и/или терапевтическое применение. В этом контексте, как правило, после получения предлагаемой в изобретении последовательности мРНК, указанной в настоящем описании, или предлагаемой в изобретении композиции, содержащей несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, указанных в настоящем описании, их, как правило, интродуцируют или вносят в бесклеточную экспрессионную систему, клетку (например, обеспечивающую экспрессию клетку-хозяина или соматическую клетку), ткань или организм, например, в оголенной или входящей в комплекс форме или в виде фармацевтической композиции или вакцины, указанной в настоящем описании, предпочтительно путем трансфекции или с использованием любого из путей введения, указанных в настоящем описании. Применение можно осуществлять *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. Применение можно осуществлять также в контексте лечения конкретного заболевания, прежде всего для лечения инфекций, вызываемых РСВ.

Другим объектом изобретения является способ лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекций, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых:

а) получают предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, композицию, содержащую несколько предлагаемых в изобретении последовательностей мРНК, фармацевтическую композицию или набор, или набор компонентов, содержащий предлагаемую в изобретении последовательность мРНК, указанную выше;

б) вносят или интродуцируют последовательность мРНК, композицию, фармацевтическую композицию или набор, или набор компонентов в ткань или организм;

в) необязательно вводят иммуноглобулин против РСВ.

В целом, некоторыми объектами изобретения является последовательность мРНК, содержащая кодирующую область, которая кодирует по меньшей мере один антигенный пептид или белок респираторно-синцитиального вируса (РСВ). Предлагаемая в изобретении последовательность мРНК предназначена для применения в способе профилактического и/или терапевтического лечения инфекций, вызываемых респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ). Таким образом, изобретение относится к последовательности мРНК, указанной в настоящем описании, предназначенной для применения в способе профилактического и/или терапевтического лечения вызываемых РСВ инфекций.

В настоящем изобретении, если не указано иное, то, если это возможно, различные особенности альтернатив и вариантов осуществления изобретения можно объединять друг с другом. Кроме того, понятие «содержащий» не должно ограничиваться значением «состоящий из», если специально не указано иное. Однако в контексте настоящего изобретения понятие «состоящий из» является вариантом, который в данном изобретении рассматривается как подпадающий под понятие «содержащий», когда в контексте

настоящего описания используется понятие «содержащий».

Все публикации, патенты и заявки на патент, процитированные в настоящем описании, включены в настоящее описание в качестве ссылки, как если бы каждая индивидуальная публикация или заявка на патент была специально и индивидуально включена в качестве ссылки. Хотя вышеуказанное изобретение было достаточно подробно описано для целей более ясного понимания с помощью иллюстраций и примера, обычным специалистам в данной области должно быть очевидно в свете доктрины настоящего изобретения, что могут быть сделаны определенные изменения и модификации без отклонения от сущности или объема, которые определяются прилагаемой формулой изобретения.

Краткое описание чертежей

Приведенные ниже чертежи представлены исключительно в качестве иллюстрации и служат для дополнительного описания настоящего изобретения. Указанные чертежи не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения.

На чертежах показано:

на фиг. 1 - последовательность мРНК R1691 с оптимизированным содержанием G/C, кодирующая РСВ-F-белок «длинного» штамма РСВ (РСВ-F «длинный»), которая включена в мРНК-вакцину на основе «длинного» РСВ-F (SEQ ID NO: 31);

на фиг. 2 - последовательность мРНК R2510 с оптимизированным содержанием G/C, кодирующая РСВ-F-белок «длинного» штамма РСВ (РСВ-F «длинный»), которая включена в мРНК-вакцину на основе «длинного» РСВ-F (SEQ ID NO: 32);

на фиг. 3 - последовательность мРНК R2821 с оптимизированным содержанием G/C, кодирующая мутантный белок РСВ-F del554-574 «длинного» штамма РСВ (РСВ-F «длинный») (SEQ ID NO: 33);

на фиг. 4 - последовательность мРНК R2831 с оптимизированным содержанием G/C, кодирующая РСВ-N-белок «длинного» штамма РСВ (РСВ-F «длинный») (SEQ ID NO: 34);

на фиг. 5 - последовательность мРНК R2833 с оптимизированным содержанием G/C, кодирующая РСВ-M₂₋₁-белок «длинного» штамма РСВ (РСВ-F «длинный») (SEQ ID NO: 35);

на фиг. 6 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцина на основе «длинного» РСВ-F индуцировала титры антител против РСВ-F-белка, сопоставимые с титрами антитела против инактивированного РСВ.

Самкам мышей линии BALB/c инъецировали внутривенно (i.d.) мРНК-вакцину на основе штамма РСВ-F «длинный» (160 мкг R1691) или лактат Рингена (RiLa-буфер) в качестве применяемого для контроля буфера. Одной группе инъецировали внутримышечно (i.m.) по 10 мкг вакцины на основе инактивированного «длинного» штамма РСВ. У всех животных, которые получали бустерные инъекции в дни 21 и 35, собирали образцы крови в день 49 для определения титров антител в объединенной сыворотке согласно методу, описанному в примере 2. Обнаружено, что мРНК-вакцина на основе «длинного» РСВ-F индуцировала образование антител против белка F подклассов IgG1 и IgG2a. На графике приведены титры антител (n=5 мышей/группу);

на фиг. 7 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцина на основе «длинного» РСВ-F (R1691) индуцировала долговременный иммунный ответ у мышей.

Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 3, и общие титры антитела в виде IgG определяли с помощью ELISA.

Обнаружено, что титры антител оказались стабильными в течение 11 месяцев после последней бустерной вакцинации;

на фиг. 8 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцина на основе «длинного» РСВ-F (R1691) индуцировала специфические в отношении слитого (F)-белка РСВ многофункциональные CD8⁺-Т-клетки у мышей.

5 Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 4, и Т-клетки анализировали в отношении антигенспецифической индукции цитокинов по окрашиванию внутриклеточных цитокинов. Клетки стимулировали РСВ-F-пептидом (stim. F; KYKNAVTEL) или контрольным HA-пептидом вируса гриппа (stim. HA; IYSTVASSL). Линия на графике соответствует медианному значению (n=5 мышей/группу).

10 Обнаружено, что мРНК-вакцина на основе «длинного» РСВ-F индуцировала специфические для слитого (F) белка РСВ многофункциональные CD8⁺-Т-клетки в отличие от вакцины на основе инактивированного РСВ, которая не обладала способностью индуцировать специфические в отношении F-белка CD8⁺-Т-клетки;

15 на фиг. 9 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцина на основе РСВ-N (R2831) индуцировала специфические в отношении нуклеопротеина (N) многофункциональные CD8⁺-Т-клетки у мышей.

20 Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 5, и Т-клетки анализировали в отношении антигенспецифической индукции цитокинов по окрашиванию внутриклеточных цитокинов после стимуляции ProMix РСВ-N (15-мерные пептиды). Линия на графике соответствует медианному значению (n=5 мышей/группу).

25 Обнаружено, что мРНК-вакцина на основе РСВ-N индуцировала специфические в отношении нуклеопротеина (N) РСВ многофункциональные CD8⁺-Т-клетки в отличие от вакцины на основе инактивированного РСВ, которая не обладала способностью индуцировать специфические в отношении N-белка CD8⁺-Т-клетки;

на фиг. 10 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцина на основе РСВ-N (R2831) индуцировала специфические в отношении нуклеопротеина (N) многофункциональные CD4⁺-Т-клетки у мышей.

30 Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 5, и Т-клетки анализировали в отношении антигенспецифической индукции цитокинов по окрашиванию внутриклеточных цитокинов после стимуляции ProMix РСВ-N (15-мерные пептиды). Линия на графике соответствует медианному значению (n=5 мышей/группу).

35 Обнаружено, что мРНК-вакцина на основе РСВ-N индуцировала специфические в отношении нуклеопротеина (N) РСВ многофункциональные CD4⁺-Т-клетки в отличие от вакцины на основе инактивированного РСВ, которая не обладала способностью индуцировать специфические в отношении N-белка CD4⁺-Т-клетки;

40 на фиг. 11 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцина на основе РСВ-M₂₋₁ (R2833) индуцировала специфические в отношении M₂₋₁ многофункциональные CD8⁺-Т-клетки у мышей.

45 Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 5, и Т-клетки анализировали в отношении антигенспецифической индукции цитокинов по окрашиванию внутриклеточных цитокинов после стимуляции M₂₋₁-специфическим 9-мерным белком. Линия на графике соответствует медианному значению (n=5 мышей/группу).

Обнаружено, что мРНК-вакцина на основе РСВ-M₂₋₁ индуцировала специфические

в отношении РСВ-М₂₋₁ многофункциональные CD8⁺-Т-клетки в отличие от вакцины на основе инактивированного РСВ, которая не обладала способностью индуцировать специфические в отношении М₂₋₁-белка CD8⁺-Т-клетки;

5 на фиг. 12 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцины на основе РСВ-F либо индивидуально (РСВ-F=R2510; мутант РСВ-Fdel554-574=R2821), либо в сочетании с мРНК, которые кодируют другие белки РСВ (РСВ-N=R2831; РСВ-М₂₋₁=R2833), индуцировали гуморальные иммунные ответы у хлопковых крыс.

10 Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 6, и общие титры специфических в отношении РСВ-F антител в виде IgG определяли с помощью ELISA в день 49. Сыворотку анализировали в различных разведениях, которые представлены в нижней части графика;

на фиг. 13 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцины на основе РСВ-F либо индивидуально (РСВ-F=R2510; мутант РСВ-Fdel554-574=R2821), либо в сочетании с мРНК, которые кодируют другие белки РСВ (РСВ-N=R2831; РСВ-М₂₋₁=R2833), индуцировали образование функциональных антител у хлопковых крыс, что продемонстрировано на основе титров вирус-нейтрализующих антител (VNT).

20 Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 6, и титры вирус-нейтрализующих антител в день 49 определяли с помощью с помощью анализа уменьшения бляшек;

на фиг. 14 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцины на основе РСВ-F либо индивидуально (РСВ-F=R2510; мутант РСВ-Fdel554-574=R2821), либо в сочетании с мРНК, которые кодируют другие белки РСВ (РСВ-N=R2831; РСВ-М₂₋₁=R2833), снижали титры в легких и носу хлопковых крыс, подвергнутых контрольному заражению РСВ-вирусом.

Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 6.

30 (А) Титры в легких в день 5 после контрольного заражения РСВ. У всех групп животных, которых вакцинировали мРНК-вакцинами, обнаружены титры вируса ниже предела обнаружения при осуществлении титрации вируса, что демонстрирует наличие защиты вакцинированных хлопковых крыс при оценке на основе титров вируса в легких. В отличие от мРНК-вакцин вакцина на основе инактивированного формалином вируса не обладала способностью предупреждать появление титров вируса в легких.

35 (Б) Титры в носу в день 5 после контрольного заражения РСВ. Титр вируса в ткани носа также сильно снижался в группах, вакцинированных мРНК. В отличие от мРНК-вакцин вакцина на основе инактивированного формалином вируса не обладала способностью снижать титры вируса в носу;

на фиг. 15 - представлены результаты гистопатологического анализа легких подвергнутых контрольному заражению РСВ хлопковых крыс, которых применяли в опыте, описанном в примере 6;

на фиг. 16 - представлены результаты количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) количества копий вирусного генома (по измерению количества копий NS-1-гена РСВ) или экспрессированных цитокинов из ткани легких зараженных РСВ животных (или контрольных животных) у подвергнутых контрольному заражению РСВ хлопковых крыс, которых применяли в опыте, описанном в примере 6;

на фиг. 17 - данные, демонстрирующие, что мРНК-вакцины на основе РСВ-F (РСВ-F=R2510; RSV F* (мутант РСВ-Fdel554-574)=R2821) снижали титры в легких у хлопковых

крыс, подвергнутых контрольному заражению РСВ-вирусом хлопковых крыс.

Эксперимент осуществляли согласно методу, описанному в примере 7.

(А) Титры в легких в день 5 после контрольного заражения РСВ. У всех групп животных, которых вакцинировали внутривенно мРНК-вакцинами, обнаружено пониженные титры вируса по сравнению с обработанной буфером контрольной группой, что демонстрирует наличие защиты вакцинированных хлопковых крыс при оценке на основе титров вируса в легких. Уже одна единичная доза мРНК-вакцин на основе РСВ-F эффективно снижала титры вируса в легких.

(Б) Титры в легких в день 5 после контрольного заражения РСВ. Титр вируса в легких также сильно снижались в группах, которых вакцинировали мРНК путем внутримышечной инъекции.

Примеры

Приведенные ниже примеры представлены исключительно в качестве иллюстрации и служат для дополнительного описания настоящего изобретения. Указанные примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения.

Пример 1: Получение мРНК-вакцины

1. Получение конструкций ДНК и мРНК

Для рассматриваемых примеров получали последовательности ДНК, кодирующие белок РСВ-F (R1691 и R2510), мутантный белок РСВ-F del554-574 (R2821), белок РСВ N (R2831) и белок РСВ M2-1 (R2833) «длинного» штамма РСВ, и применяли для последующих реакций транскрипции *in vitro*. Мутантный белок РСВ-Fdel554-574 описан ранее (Oomens и др., J. Virol. 80(21), 2006, сс. 10465-10477).

Согласно первой процедуре получения создавали последовательности ДНК, кодирующие указанные выше мРНК. Конструкцию R1691 получали путем модификации кодирующей последовательности дикого типа посредством интродукции последовательности с оптимизированным для стабилизации содержанием GC, за которой следовала стабилизирующая последовательность, происходящая из альфа-глобин-3'UTR (muag (мутантная альфа-глобин-3'UTR) представленная в SEQ ID NO: 29), сегмент, состоящий из 64 аденозинов (поли-А-последовательность), сегмент, состоящий из 30 цитозинов (поли-С-последовательность) и гистоновая структура стебель-петля, представленная в SEQ ID NO: 30. В SEQ ID NO: 31 (см. фиг.1) представлена последовательность соответствующей мРНК. Конструкции R2510, R2821, R2831 и R2833 получали путем интродукции 5'-TOP-UTR, происходящей из рибосомального белка 32L, который имеет SEQ ID NO 23, модификации кодирующей последовательности дикого типа посредством интродукции последовательности с оптимизированным для стабилизации содержанием GC, за которой следовала стабилизирующая последовательность, происходящая из альбумин-3'UTR (альбумин7, согласно SEQ ID NO: 25), сегмент, состоящий из 64 аденозинов (поли-А-последовательность), сегмент, состоящий из 30 цитозинов (поли-С-последовательность) и гистоновая структура стебель-петля, представленная в SEQ ID NO: 30. В SEQ ID NO: 32-35 (см. фиг. 2-5) представлены последовательности соответствующих мРНК.

Таблица 1: Конструкции мРНК

РНК	Антиген	Чертеж	SEQ ID NO:
R1691	PCB F	1	SEQ ID NO: 31
R2510	PCB F	2	SEQ ID NO: 32
R2821	PCB Fdel554-574	3	SEQ ID NO: 33
R2831	PCB N	4	SEQ ID NO: 34
R2833	PCB M ₂₋₁	5	SEQ ID NO: 35

2. Транскрипция in vitro

Соответствующие ДНК-плазмиды, полученные согласно процедуре, описанной в разделе 1, транскрибировали in vitro с помощью полимеразы T7 в присутствии аналога кэпа (m^7 GpppG). Затем мРНК очищали с помощью PureMessenger[®] (фирма CureVac, Тюбинген, Германия: WO 2008/077592 A1).

3. Реагенты

Комплексообразующий реагент: протамин

4. Получение вакцины

мРНК включали в комплекс с протамином путем добавления протамин к мРНК в соотношении 1:2 (мас./мас.) (адьювантный компонент). После инкубации в течение 10 мин добавляли в таком же количестве свободную мРНК R1710, используемую в качестве образующей антиген РНК.

Например, получали вакцину на основе «PCB-F «длинного» (R1691), содержащую адьювантный компонент, состоящий из мРНК, которая кодирует F-белок «длинного» штамма PCB (R1691), представленный в SEQ ID NO: 31, в комплексе с протамином в соотношении 2:1 (мас./мас.), и свободную образующую антиген мРНК, которая кодирует F-белок «длинного» штамма PCB (R1691), представленный в SEQ ID NO: 31 (соотношение 1:1; входящая в комплекс РНК : свободная РНК).

Пример 2: Индукция гуморального иммунного ответа у мышей мРНК-вакциной на основе PCB-F «длинного»

Иммунизация

В день ноль мышам линии BALB/c инъецировали внутривенно (i.v.) мРНК-вакцину на основе PCB-F «длинного» (R1691 согласно примеру 1; 25 мкг/мышь/в день вакцинации) или лактат Рингера (RiLa) в качестве применяемого для контроля буфера, как указано в таблице 2. Контрольной группе инъецировали внутримышечно (i.m.) 10 мкг вакцины на основе инактивированного штамма PCB «длинный». Инактивированный «Respiratory Syncytial Virus Antigen» (антиген респираторно-синцитиального вируса) (инактивированный PCB «длинный») покупали у фирмы INSTITUT VIRION/SERION GmbH-SERION IMMUNDIAGNOSTICA GmbH. Инактивированный вирус разводили в стерильном ЗФР с получением конечной концентрации 0,2 мкг/мл. Всем животным осуществляли бустерные инъекции в день 14 и день 28. Образцы крови собирали в день 42 для определения титров антител к PCB-F.

Таблица 2: Группы животных

Группа	Линия, пол	Кол-во мышей	Путь введения, объем	Вакцина, доза	Схема вакцинации
1	BALB/c, самки	5	i.d. 2×50 мкл	R1691, 2 мкг	d0: первичная, d14: бустер, d28: бустер, d42: сбор крови
2	BALB/c, самки	5	i.m. 2×25 мкл	инактивированный РСВ «длинный», 10 мкг	d0: первичная, d14: бустер, d28: бустер, d42: сбор крови
3	BALB/c, самки	5	i.d. 2×50 мкл	80% лактат Рингера (RiLa), буфер	d0: первичная, d14: бустер, d28: бустер, d42: сбор крови

Определение антител к белку РСВ-F с помощью ELISA

Планшеты для ELISA сенсibilизировали рекомбинантным человеческим слитым гликопротеином РСВ (rec.hu F-белок, конечная концентрация: 5 мкг/мл) (фирма Sino Biological Inc.). Сенсibilизированные планшеты инкубировали, используя указанные разведения сыворотки, и определяли связывание специфических антител к F-белку с АВTS-субстратом, используя биотинилированные изотипспецифические антимышинные антитела в комбинации со стрептавидином-HRP (пероксидаза из хрена).

Результаты

Как продемонстрировано на фиг. 6, мРНК-вакцина на основе РСВ-F «длинного» индуцировала титры антител (в целом, IgG, IgG1 и IgG2a) против F-белка РСВ, сопоставимые с титрами против инактивированного РСВ.

Пример 3: Индукция долговременного иммунного ответа у мышей мРНК-вакциной на основе РСВ-F «длинного»

Иммунизация

Мышам линии BALB/c инъецировали внутрикожно (i.d.) мРНК-вакцину на основе РСВ-F «длинного» (R1691) или лактат Рингера (RiLa) в качестве применяемого для контроля буфера согласно схеме вакцинации, представленной в таблице 3.

Образцы крови собирали через 2 недели, 4 месяца и 11 месяцев после последней иммунизации.

Таблица 3: Группы животных

Группа	Линия, пол	Кол-во мышей	Путь введения, объем	Вакцина, доза	Схема вакцинации
1	BALB/c, самки	5	i.d., 100 мкл	R1691, 20 мкг	D0, d14, d28
4	BALB/c, самки	5	i.d., 100 мкл	80% лактат Рингера (RiLa), буфер	D0, d14, d28

Результаты

Как продемонстрировано на фиг. 7, мРНК-вакцина на основе РСВ-F «длинного» индуцировала долговременный иммунный ответ, о чем свидетельствовали стабильные титры антител в течение по меньшей мере 11 месяцев после последней бустер-вакцинации.

Пример 4: Индукция клеточного иммунного ответа у мышей мРНК-вакциной на основе РСВ-F «длинного»

Иммунизация

В день ноль мышам линии BALB/c инъецировали внутрикожно (i.d.) мРНК-вакцину на основе РСВ-F «длинного» R1691 (20 мкг/мышь/в день вакцинации) или лактат Рингера (RiLa) в качестве применяемого для контроля буфера, как указано в таблице 4.

Контрольной группе инъецировали внутримышечно (i.m.) 10 мкг вакцины на основе инактивированного штамма РСВ «длинный». Инактивированный «Respiratory Syncytial Virus Antigen» (инактивированный РСВ «длинный») покупали у фирмы INSTITUT VIRION/SERION GmbH-SERION IMMUNDIAGNOSTICA GmbH. Инактивированный вирус разводили в стерильном ЗФР с получением конечной концентрации 0,2 мкг/мл.

5 Всем животным осуществляли бустерные инъекции в день 14 и день 28. В день 34 изымали селезенки для анализа антигенспецифических Т-клеток.

Таблица 4: Группы животных

Группа	Линия, пол	Кол-во мышей	Путь введения, объем	Вакцина, доза	Схема вакцинации
1	BALB/c, самки	5	i.d., 2×50 мкл	R1691, 20 мкг	d0: первичная, d14: бустер, d28: бустер, d34: изъятие селезенки
2	BALB/c, самки	5	i.m., 2×25 мкл	инактивированный РСВ «длинный», 10 мкг	d0: первичная, d14: бустер, d28: бустер, d34: изъятие селезенки
3	BALB/c, самки	5	i.d., 2×50 мкл	80% лактат Рингера (RiLa), буфер	d0: первичная, d14: бустер, d28: бустер, d34: изъятие селезенки

Окрашивание внутриклеточных цитокинов

Спленоциты из вакцинированных и контрольных мышей выделяли согласно стандартному протоколу. В целом, метод состоял в следующем: выделенные селезенки измельчали, пропуская через клеточное сито, и промывали ЗФР/1% FBS с последующим лизисом эритроцитов. После стадии интенсивной промывки ЗФР/1% FBS спленоциты высевали в 96-луночные планшеты (2×10^6 клеток/луночку). На следующий день клетки стимулировали РСВ-F-пептидом (KYKNAVTEL; 5 мкл; H-2 кДа-ограниченный Т-клеточный эпитоп) или неродственным контрольным пептидом, полученным из НА-белка вируса гриппа (IYSTVASSL; 5 мкг/мл; покупали у фирмы EMC Microcollections) и антителом к CD28 (фирма BD Biosciences) в концентрации 2,5 мкг/мл в течение 6 ч при 37°C в присутствии смеси GolgiPlug™/GolgiStop™ (ингибиторы транспорта белков, содержащие брэфелдин А и монензин соответственно; фирма BD Biosciences). После стимуляции клетки промывали и окрашивали для выявления внутриклеточных цитокинов, используя реагент Cytofix/Cytoperm (фирма BD Biosciences) согласно инструкциям производителя. Для окрашивания применяли следующие антитела: CD8-PECy7 (1:200), CD3-ФИТС (1:200), IL2-PerCP-Cy5.5 (1:100), TNFα-PE (1:100), IFNγ-APC (1:100) (фирма eBioscience), CD4-BD Horizon V450 (1:200) (фирма BD Biosciences) и инкубировали с Fcγ-блокатором, разведенным в соотношении 1:100. Водный краситель (Aqua Dye) применяли для того, чтобы отличать живые клетки от мертвых (фирма Invitrogen). Клетки собирали с помощью проточного цитометра Canto II (фирма Beckton Dickinson). Результаты, полученные с помощью проточного цитометра, анализировали с использованием программы FlowJo (фирма Tree Star, Inc.). Статистический анализ осуществляли с использованием программы GraphPad Prism, версия 5.01. Статистические различия между группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты

Как продемонстрировано на фиг. 8, мРНК-вакцина на основе РСВ-F «длинного» (R1691) индуцировала IFNγ-позитивные, TNFα-позитивные и дважды IFNγ/TNFα-позитивные многофункциональные CD8⁺-Т-клетки, направленные против F-белка РСВ. При создании изобретения неожиданно было установлено, что вакцина на основе

инактивированного РСВ не обладала способностью индуцировать антигенспецифические CD8⁺-Т-клетки.

Пример 5: Индукция клеточных иммунных ответов у мышей мРНК-вакцинами на основе РСВ-N и РСВ-M₂₋₁

Иммунизация

В день ноль мышам линии BALB/c инъецировали внутривенно (i.v.) в различных дозах мРНК-вакцину на основе РСВ-N R2831, мРНК-вакцину на основе РСВ-M₂₋₁ R2833 или лактат Рингера (RiLa) в качестве применяемого для контроля буфера, как указано в таблице 5. Контрольной группе инъецировали внутримышечно (i.m.) 10 мкг вакцины на основе инактивированного штамма РСВ «длинный». Инактивированный «Respiratory Syncytial Virus Antigen» (инактивированный РСВ «длинный») покупали у фирмы INSTITUT VIRION/SERION GmbH-SERION IMMUNDIAGNOSTICA GmbH.

Инактивированный вирус разводили в стерильном ЗФР с получением конечной концентрации 0,2 мкг/мкл.

Все животные получали бустерные инъекции в дни 7 и 21. В день 27 изымали селезенки для анализа антигенспецифических Т-клеток

Таблица 5: Группы животных

Группа	Линия, пол	Кол-во мышей	Путь введения, объем	Вакцина, доза	Схема вакцинации
1	BALB/c, самки	5	i.d., 1×50 мкл	R2831 РСВ-N 40 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки
2	BALB/c, самки	5	i.d., 1×25 мкл	R2831 РСВ-N 20 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки
3	BALB/c, самки	5	i.d., 1×12.5 мкл	R2831 РСВ-N 10 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки
4	BALB/c, самки	5	i.d., 1×50 мкл	R2833 РСВ-M ₂₋₁ 40 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки
5	BALB/c, самки	5	i.d., 1×25 мкл	R2833 РСВ-M ₂₋₁ 20 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки

Группа	Линия, пол	Кол-во мышей	Путь введения, объем	Вакцина, доза	Схема вакцинации
6	BALB/с, самки	5	i.d., 1×12.5 мкл	R2833 РСВ-M ₂₋₁ 10 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки
7	BALB/с, самки	5	i.m., 2×25 мкл	инактивированный РСВ «длинный», 10 мкг	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки
8	BALB/с, самки	5	i.d., 1× 50 мкл	100% RiLa-буфер	d0: первичная, d7: бустер, d21: бустер, d27: изъятие селезенки

Окрашивание внутриклеточных цитокинов осуществляли согласно методу, описанному в примере 4, за исключением того, что клетки обрабатывали следующими стимуляторами:

M₂₋₁-пептид (5 мкг/мл), группы 4-8; (SYIGSINNI фирмы ProImmune); ProMix N (1 мкг/мл) 1-3, группа 7 и группа 8; (PX39 фирма Proimmune); контроль: среда + ДМСО + антитело к CD28, группы 1-8, описанные выше.

Результаты

Как продемонстрировано на фиг. 9, мРНК-вакцина на основе РСВ-N (R2831) индуцировала IFN γ -позитивные, TNF α -позитивные и дважды IFN γ /TNF α -позитивные многофункциональные CD8⁺-Т-клетки, направленные против N-белка РСВ у мышей.

При создании изобретения неожиданно было установлено, что вакцина на основе инактивированного РСВ не обладала способностью индуцировать антигенспецифические CD8⁺-Т-клетки.

Как продемонстрировано на фиг. 10, мРНК-вакцина на основе РСВ-N (R2831) индуцировала IFN γ -позитивные, TNF α -позитивные и дважды IFN γ /TNF α -позитивные многофункциональные CD4⁺-Т-клетки, направленные против N-белка РСВ у мышей.

При создании изобретения неожиданно было установлено, что вакцина на основе инактивированного РСВ не обладала способностью индуцировать антигенспецифические CD4⁺-Т-клетки.

Как продемонстрировано на фиг. 11, мРНК-вакцина на основе РСВ-M₂₋₁ (R2833) индуцировала IFN γ -позитивные, TNF α -позитивные и дважды IFN γ /TNF α -позитивные многофункциональные CD8⁺-Т-клетки, направленные против белка M₂₋₁ РСВ у мышей.

При создании изобретения неожиданно было установлено, что вакцина на основе инактивированного РСВ не обладала способностью индуцировать антигенспецифические CD8⁺-Т-клетки.

Пример 6: Опыт I по контрольному заражению хлопковых крыс РСВ

Для разработки вакцин против РСВ хлопковые крысы являются приемлемой животной моделью, прежде всего для контрольного заражения. Хлопковые крысы отвечают на препараты вакцин на основе инактивированного формалином РСВ повышением легочной патологией. Это позволяет оценивать безопасность вакцинации на основе феномена обострения заболевания.

Для расширения и оптимизации РСВ-специфического иммунного ответа получали мРНК-вакцины, кодирующие различные белки РСВ (белки РСВ F, мутант РСВ-Fdel554-

574, N и M₂₋₁), согласно методу, описанному в примере 1. Для оценки воздействия единичных или комбинированных вакцин эти вакцины вводили либо индивидуально, либо в комбинации (смешенная вакцина), как указано в таблице 6. Вакцины в объемах 2×50 мкл инъецировали внутривенно (i.v.) в кожу спины хлопковых крыс.

5 Дополнительные группы иммунизировали внутримышечно (i.m.) инактивированным β-пропиолактоном РСВ (фирма INSTITUT VIRION/SERION GmbH-SERION IMMUNDIAGNOSTICA GmbH), инактивированным формалином РСВ (FI-PCB) (фирма Sigmovir) или живым РСВ/A2 (фирма Sigmovir) (10⁵ бляшкообразующих единиц, БОЕ) для сравнения их иммуногенности с мРНК-вакцинами. Другую группу обрабатывали с помощью i.m.-инъекций моноклональными антителом к РСВ SYNAGIS® (пализумаб) в качестве пассивной иммунизации. SYNAGIS® вводили в дозе 15 мг/кг за один день до контрольного заражения РСВ. Для этого животных взвешивали и рассчитывали соответствующее количество SYNAGIS® в зависимости от веса животного.

10

15 Максимальный объем для i.m.-инъекции составлял 200 мкл на 100 г веса крысы. После иммунизации хлопковых крыс подвергали контрольному заражению путем интраназального (i.n.) введения вируса РСВ/A2 (10⁵ БОЕ в 100 мкл; фирма Sigmovir).

Таблица 6: Группы животных

Группы	Вакцина, доза	Объем	Антиген	Путь введения	Кол-во обработок	N на группу	Вакцинация (день)	Отбор крови (день)
А	Инактивированный β-пропиолактоном РСВ, 20 мкг	100 мкл	--	IM	3	5	0,14,28	14,28,49
Б	R2510, 80 мкг	2×50 мкл	PCB F	ID	3	5	0,14,28	14,28,49
В	R2821, 80 мкг	2×50 мкл	PCB F мутант	ID	3	5	0,14,28	14,28,49
Г	R2510 + R2831 «смесь I», каждая по 40 мкг	2×50 мкл	PCB F+ PCB N	ID	3	5	0,14,28	14,28,49
Д	R2510 + R2833 «смесь II», каждая по 40 мкг	2×50 мкл	PCB F+ PCB M ₂₋₁	ID	3	5	0,14,28	14,28,49
Е	R2510+ R2831+R2833 «смесь III», каждая по 26,666 мкг	2×50 мкл	PCB F+ PCB M ₂₋₁ + PCB N	ID	3	5	0,14,28	14,28,49
Ж	RiLa	2×50 мкл	--	ID	3	5	0,14,28	14,28,49
З	FI-PCB, лот №100 (разведение 1:100 в 3ФР PBS)	100 мкл	--	IM	2	5	0,28	28,49
И	живой РСВ/A2 10 ⁵ БОЕ	100 мкл	--	IM	1	5	0	49
К	SYNAGIS® (15 мг/кг)		--	IM	1	5	48	49
Л	отрицательный контроль		--	N/A	N/A	5	--	--

Для оценки иммунных ответов осуществляли следующие анализы: ELISA для оценки IgG против F-белка РСВ в сыворотке, определение титров нейтрализующих вирус РСВ антител (VNT), титрование вируса РСВ и гистопатологический анализ легких.

ELISA для оценки IgG против F-белка РСВ в сыворотке

Индукцию антител к белку F РСВ определяли с помощью ELISA согласно методу, описанному в примере 2.

Титры нейтрализующих вирус РСВ антител (VNT)

5 Сыворотки анализировали с помощью теста нейтрализации вируса (VNT). В целом, метод состоял в следующем: образцы сыворотки разводили в соотношении 1:10 инактивированной тепловой обработкой средой ЕМЕМ и дополнительно серийно разводили в соотношении 1:4. Разведенные образцы сыворотки инкубировали с РСВ (25-50 БОЕ) в течение 1 ч при комнатной температуре и инокулировали с дублированием
10 монослои конфлюэнтных HEp-2-клеток в 24-луночных планшетах. После 1 ч инкубации при 37°C в инкубаторе в атмосфере с 5% CO₂ на лунки наслаивали среду, содержащую 0,75% метилцеллюлозы. После инкубации в течение 4 дней дополнительный слой удаляли и клетки фиксировали с использованием окрашивания с помощью 0,1% кристаллического фиолетового в течение 1 ч и затем отмывали и сушили на воздухе. Соответствующие
15 величины, обратные титрам нейтрализующих антител, определяли в конечной точке, соответствующей 60%-ному снижению количества вирусов.

Титрования вируса РСВ и гистопатология легких

В день 54 получали образцы ткани из носа и гомогенизировали для осуществления титрования вируса. Легкие изымали целиком и разделяли на три секции для титрования
20 вируса (левая секция), гистопатологического обследования (правая секция), и ПЦР-анализа (лингвальная доля). Кроме того, определяли количество геномных копий вируса РСВ (путем измерения количества копий гена NS-1 РСВ) и уровни мРНК цитокинов с помощью количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (кОТ-ПЦР).

25 Результаты

Как продемонстрировано на фиг. 12, мРНК-вакцины на основе РСВ-F либо индивидуально (РСВ-F=R2510; мутант РСВ-Fdel554-574=R2821), либо в сочетании с мРНК, кодирующими другие белки РСВ (РСВ-N=R2831; РСВ-M2-1=R2833),
30 индуцировали специфические в отношении РСВ F гуморальные иммунные ответы у хлопковых крыс, о чем свидетельствуют общие титры антител в виде IgG в день 49.

Как продемонстрировано на фиг. 13, мРНК-вакцины на основе РСВ-F либо индивидуально (РСВ-F=R2510; мутант РСВ-Fdel554-574=R2821), либо в сочетании с мРНК, кодирующими другие белки РСВ (РСВ-N=R2831; РСВ-M2-1=R2833),
35 индуцировали образование РСВ-специфических функциональных антител у хлопковых крыс, о чем свидетельствуют титры вирус-нейтрализующих антител.

Как продемонстрировано на фиг. 14, мРНК-вакцины на основе РСВ-F либо индивидуально (РСВ-F=R2510; мутант РСВ-Fdel554-574=R2821), либо в сочетании с мРНК, кодирующими другие белки РСВ (РСВ-N=R2831; РСВ-M2-1=R2833), снижали вирусные титры в легких и носу хлопковых крыс, подвергнутых контрольному
40 заражению РСВ.

Как продемонстрировано на фиг. 14А, у всех животных, обработанных мРНК-вакцинами, титры вируса находились ниже предела обнаружения при осуществлении титрации вируса, что демонстрирует наличие защиты вакцинированных хлопковых
45 крыс при оценке на основе титров вируса в легких. В отличие от мРНК-вакцин вакцина на основе инактивированного формалином вируса лишь минимально снижала титр вируса в легких по сравнению с контрольной группой, обработанной буфером RiLa. Воздействие инактивированной β-пропиолактоном вакцины против РСВ оказалось более выраженным, но не приводило к снижению титра вируса в легких ниже предела

обнаружения у всех животных в этой группе. Как продемонстрировано на фиг. 14Б, титр вируса в ткани носа также значительно снижался в группах, вакцинированных мРНК. Титры вируса в носу инактивированного формалином вируса оказались сопоставимыми с титром вируса в вакцинированной RiLa группе. Инактивированная β -пропиолактоном вакцина оказалась более эффективной (по меньшей мере для двух из пяти животных). В отличие от этого, во всех группах, вакцинированных мРНК, обнаружен пониженный титр вируса в носу по сравнению с группой, вакцинированной RiLa.

Как продемонстрировано на фиг. 15, гистопатологический анализ легких хлопковых крыс, на которых проводили опыт по контрольному заражению РСВ, позволил установить патологию, описываемую различными баллами, в различных группах животных. Из гистопатологического анализа можно заключить, что ни в одной из вакцинированных мРНК групп не обнаружено повышенная патология легких, что имело место в случае группы, которую вакцинировали с использованием вакцины на основе инактивированного формалином РСВ. Средние баллы таких патологий, как перибронхиолит (PB), периваскулит (PV), интерстициальная пневмония (IP) и альвеолит (A), оказались существенно более низкими во всех группах, вакцинированных мРНК, по сравнению с группой 3 (инактивированный формалином РСВ). В дополнительных группах, вакцинированных R2510 (группа Б; РСВ-F) или R2821 (группа В; мутант РСВ-F), что, вероятно, свидетельствует о снижении легочной патологии по сравнению с группой, вакцинированной RiLa-буфером, и затем зараженной РСВ (Ж).

Как продемонстрировано на фиг. 16, результаты, полученные с помощью количественной ОТ-ПЦР, свидетельствуют о различных схемах экспрессии в различных группах животных. Данные оценки количества геномных копий РСВ, измеренная на основе гена NS-1 РСВ, приведены на фиг. 16А. Количество геномных копий снижалось после вакцинации с использованием мРНК-вакцин по сравнению с контрольной обработанной RiLa-буфером группой (группа Ж). Это не имело места в группе, вакцинированной инактивированным формалином РСВ (группа 3). Как продемонстрировано на фиг. 16Б, вакцинация с использованием вакцины на основе инактивированного формалином РСВ (группа 3) индуцировала повышенную экспрессию TN2-цитокина IL-4 по сравнению с контрольной группой, которую вакцинировали RiLa-буфером (группа Ж). В противоположность этому, вакцинация с использованием мРНК R2821, которая кодирует мутант РСВ-F, существенно снижала экспрессию мРНК IL-4 по сравнению с обработанной RiLa контрольной группой в легких после контрольного заражения РСВ. На фиг 16В представлены данные об экспрессии мРНК INF- γ . На фиг. 16Г представлены данные об экспрессии мРНК IL-5. Экспрессия IL-5 существенно снижалась в группах, вакцинированных с использованием R2510 или R2821, по сравнению с вакцинированными RiLa-буфером животными. Экспрессию вирусной РНК NS-1 или мРНК цитокинов, которые выделяли из ткани легкого, измеряли в день 5 после контрольного заражения. Статистический анализ осуществляли с помощью Т-критерия Стьюдента (* $p < 0,05$ по сравнению группой Ж (RiLa-контроль)).

Пример 7: Опыт II по контрольному заражению хлопковых крыс РСВ

мРНК-вакцины, кодирующие F-белок РСВ (F) или мутантный белок РСВ-F (F*) (РСВ F del554-574), получали согласно методу, описанному в примере 1. Для оценки воздействия единичной или нескольких вакцинаций (первичная и бустерные вакцинации) указанные вакцины вводили один, два или три раза (как показано в таблице 7). Вакцины в объемах 2x50 мкл инъецировали внутривенно (i.d.) в кожу спины хлопковых крыс. Дополнительные группы иммунизировали внутримышечно (i.m.), используя объемы

вакцин 1×100 мкл, в правую заднюю лапу. В качестве контроля одной группе инъецировали внутривенно буферный раствор лактата Рингера (буфер). После иммунизации хлопковых крыс подвергали контрольному заражению путем интраназального (i.n.) введения вируса РСВ/А2 (10⁵ БОЕ в 100 мкл; фирма Sigmovir). В качестве контроля одну группу не обрабатывали и не подвергали контрольному заражению (необработанная группа).

Таблица 7: Группы животных

Группы	Вакцина, доза	Объем	Антиген	Путь введения	Кол-во обработок	N на группу	Вакцинация (день)	Контрольное заражение (день)
F* i.d. 3×	R2821 80 мкг	2×50 мкл	мутант PCV F	ID	3	5	0,14,28	49
F* i.d. 2×	R2821 80 мкг	2×50 мкл	мутант PCV F	ID	2	5	0,14	49
F* i.d. 1×	R2821 80 мкг	2×50 мкл	мутант PCV F	ID	1	5	0	49
F i.d. 3×	R2510 80 мкг	2×50 мкл	PCV F	ID	3	5	0,14,28	49
F i.d. 2×	R2510 80 мкг	2×50 мкл	PCV F	ID	2	5	0,14	49
F i.d. 1×	R2510 80 мкг	2×50 мкл	PCV F	ID	1	5	0	49
F* i.m.	R2821 80 мкг	1×100 мкл	Мутант PCV F	IM	2	5	0,14	49
F i.m.	R2510 80 мкг	1×100 мкл	PCV F	IM	2	5	0,14	49
буфер	-	2×50 мкл		ID	3	5	0,14,28	49
необработанная	-		--	N/A	N/A	5	--	--

Титрования вируса РСВ

Определение титров вируса РСВ проводили согласно методу, описанному в примере 6.

Результаты

Как продемонстрировано на фиг. 17А, уже одна единичная внутривенная вакцинация мРНК-вакцинами, которые кодируют белок РСВ-F (F) или мутантный белок РСВ-F (F*) (PCV F del554-574), оказалась высокоэффективной в отношении снижения титра вируса в легком по сравнению с обработанной буфером контрольной группой. Вторая и третья вакцинации («бустер-вакцинации) снижали вирусные титры до уровня, находящегося ниже предела обнаружения.

Как продемонстрировано на фиг. 17Б, уже две внутримышечные вакцинации мРНК-вакцинами, которые кодируют белок РСВ-F (F) или мутантный белок РСВ-F (F*) (PCV F del554-574), значительно снижали вирусный титр в легких по сравнению с обработанной буфером контрольной группой.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> КуреВак ГмбХ

<120> Вакцина против респираторно-синцитиального вируса (РСВ)

<130> CU01P151W01

<160> 37

<170> PatentIn, версия 3.5

<210> 1

<211> 574

<212> PRT

<213> Респираторно-синцитиальный вирус

<400> 1

Met Glu Leu Pro Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Ala
 1 5 10 15
 5 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 10 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Asn
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 15 Met Gln Ser Thr Thr Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Thr Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 20 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 25 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205
 30 Lys Gln Ser Cys Arg Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 35 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 40 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 45 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

RU 2 723 328 C2

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 5 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 10 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 15 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu His His Val Asn Ala Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 20 515 520 525
 Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540
 Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560
 25 Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570
 <210> 2
 <211> 298
 <212> PRT
 30 <213> Респираторно-синцитиальный вирус
 <400> 2
 Met Ser Lys Asn Lys Asp Gln Arg Thr Ala Lys Thr Leu Glu Lys Thr
 1 5 10 15
 Trp Asp Thr Leu Asn His Leu Leu Phe Ile Ser Ser Gly Leu Tyr Lys
 35 20 25 30
 Leu Asn Leu Lys Ser Ile Ala Gln Ile Thr Leu Ser Ile Leu Ala Met
 35 40 45
 Ile Ile Ser Thr Ser Leu Ile Ile Thr Ala Ile Ile Phe Ile Ala Ser
 50 55 60
 40 Ala Asn His Lys Val Thr Leu Thr Thr Ala Ile Ile Gln Asp Ala Thr
 65 70 75 80
 Ser Gln Ile Lys Asn Thr Thr Pro Thr Tyr Leu Thr Gln Asp Pro Gln
 85 90 95
 Leu Gly Ile Ser Phe Ser Asn Leu Ser Glu Ile Thr Ser Gln Thr Thr
 45 100 105 110
 Thr Ile Leu Ala Ser Thr Thr Pro Gly Val Lys Ser Asn Leu Gln Pro
 115 120 125
 Thr Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser

RU 2 723 328 C2

130 135 140
 Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn
 145 150 155 160
 Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys
 5 165 170 175
 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn Lys
 180 185 190
 Lys Pro Gly Lys Lys Thr Thr Thr Lys Pro Thr Lys Lys Pro Thr Phe
 195 200 205
 10 Lys Thr Thr Lys Lys Asp Leu Lys Pro Gln Thr Thr Lys Pro Lys Glu
 210 215 220
 Val Pro Thr Thr Lys Pro Thr Glu Glu Pro Thr Ile Asn Thr Thr Lys
 225 230 235 240
 Thr Asn Ile Thr Thr Thr Leu Leu Thr Asn Asn Thr Thr Gly Asn Pro
 15 245 250 255
 Lys Leu Thr Ser Gln Met Glu Thr Phe His Ser Thr Ser Ser Glu Gly
 260 265 270
 Asn Leu Ser Pro Ser Gln Val Ser Thr Thr Ser Glu His Pro Ser Gln
 275 280 285
 20 Pro Ser Ser Pro Pro Asn Thr Thr Arg Gln
 290 295
 <210> 3
 <211> 64
 <212> PRT
 25 <213> Респираторно-синцитиальный вирус
 <400> 3
 Met Glu Asn Thr Ser Ile Thr Ile Glu Phe Ser Ser Lys Phe Trp Pro
 1 5 10 15
 Tyr Phe Thr Leu Ile His Met Ile Thr Thr Ile Ile Ser Leu Leu Ile
 30 20 25 30
 Ile Ile Ser Ile Met Thr Ala Ile Leu Asn Lys Leu Cys Glu Tyr Asn
 35 40 45
 Val Phe His Asn Lys Thr Phe Glu Leu Pro Arg Ala Arg Val Asn Thr
 50 55 60
 35 <210> 4
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> Респираторно-синцитиальный вирус
 <400> 4
 40 Met Glu Thr Tyr Val Asn Lys Leu His Glu Gly Ser Thr Tyr Thr Ala
 1 5 10 15
 Ala Val Gln Tyr Asn Val Leu Glu Lys Asp Asp Asp Pro Ala Ser Leu
 20 25 30
 Thr Ile Trp Val Pro Met Phe Gln Ser Ser Met Pro Ala Asp Leu Leu
 45 35 40 45
 Ile Lys Glu Leu Ala Asn Val Asn Ile Leu Val Lys Gln Ile Ser Thr
 50 55 60
 Pro Lys Gly Pro Ser Leu Arg Val Met Ile Asn Ser Arg Ser Ala Leu

RU 2 723 328 C2

Leu Cys Ile Ala Ala Leu Val Ile Thr Lys Leu Ala Ala Gly Asp Arg
 165 170 175
 Ser Gly Leu Thr Ala Val Ile Arg Arg Ala Asn Asn Val Leu Lys Asn
 180 185 190
 5 Glu Met Lys Arg Tyr Lys Gly Leu Leu Pro Lys Asp Ile Ala Asn Ser
 195 200 205
 Phe Tyr Glu Val Phe Glu Lys His Pro His Phe Ile Asp Val Phe Val
 210 215 220
 His Phe Gly Ile Ala Gln Ser Ser Thr Arg Gly Gly Ser Arg Val Glu
 10 225 230 235 240
 Gly Ile Phe Ala Gly Leu Phe Met Asn Ala Tyr Gly Ala Gly Gln Val
 245 250 255
 Met Leu Arg Trp Gly Val Leu Ala Lys Ser Val Lys Asn Ile Met Leu
 260 265 270
 15 Gly His Ala Ser Val Gln Ala Glu Met Glu Gln Val Val Glu Val Tyr
 275 280 285
 Glu Tyr Ala Gln Lys Leu Gly Gly Glu Ala Gly Phe Tyr His Ile Leu
 290 295 300
 Asn Asn Pro Lys Ala Ser Leu Leu Ser Leu Thr Gln Phe Pro His Phe
 20 305 310 315 320
 Ser Ser Val Val Leu Gly Asn Ala Ala Gly Leu Gly Ile Met Gly Glu
 325 330 335
 Tyr Arg Gly Thr Pro Arg Asn Gln Asp Leu Tyr Asp Ala Ala Lys Ala
 340 345 350
 25 Tyr Ala Glu Gln Leu Lys Glu Asn Gly Val Ile Asn Tyr Ser Val Leu
 355 360 365
 Asp Leu Thr Ala Glu Glu Leu Glu Ala Ile Lys His Gln Leu Asn Pro
 370 375 380
 Lys Asp Asn Asp Val Glu Leu
 30 385 390
 <210> 6
 <211> 2165
 <212> PRT
 <213> Респираторно-синцитиальный вирус
 35 <400> 6
 Met Asp Pro Ile Ile Asn Gly Asn Ser Ala Asn Val Tyr Leu Thr Asp
 1 5 10 15
 Ser Tyr Leu Lys Gly Val Ile Ser Phe Ser Glu Cys Asn Ala Leu Gly
 20 25 30
 40 Ser Tyr Ile Phe Asn Gly Pro Tyr Leu Lys Asn Asp Tyr Thr Asn Leu
 35 40 45
 Ile Ser Arg Gln Asn Pro Leu Ile Glu His Met Asn Leu Lys Lys Leu
 50 55 60
 Asn Ile Thr Gln Ser Leu Ile Ser Lys Tyr His Lys Gly Glu Ile Lys
 45 65 70 75 80
 Leu Glu Glu Pro Thr Tyr Phe Gln Ser Leu Leu Met Thr Tyr Lys Ser
 85 90 95
 Met Thr Ser Leu Glu Gln Ile Ala Thr Thr Asn Leu Leu Lys Lys Ile

RU 2 723 328 C2

		100		105		110										
	Ile	Arg	Arg	Ala	Ile	Glu	Ile	Ser	Asp	Val	Lys	Val	Tyr	Ala	Ile	Leu
				115					120					125		
5	Asn	Lys	Leu	Gly	Leu	Lys	Glu	Lys	Asp	Lys	Ile	Lys	Ser	Asn	Asn	Gly
			130				135					140				
	Gln	Asp	Glu	Asp	Asn	Ser	Val	Ile	Thr	Thr	Ile	Ile	Lys	Asp	Asp	Ile
	145						150				155				160	
	Leu	Ser	Ala	Val	Lys	Asp	Asn	Gln	Ser	His	Leu	Lys	Ala	Asp	Lys	Asn
					165					170					175	
10	His	Ser	Thr	Lys	Gln	Lys	Asp	Thr	Ile	Lys	Thr	Thr	Leu	Leu	Lys	Lys
				180					185					190		
	Leu	Met	Cys	Ser	Met	Gln	His	Pro	Pro	Ser	Trp	Leu	Ile	His	Trp	Phe
			195					200					205			
15	Asn	Leu	Tyr	Thr	Lys	Leu	Asn	Asn	Ile	Leu	Thr	Gln	Tyr	Arg	Ser	Asn
		210					215					220				
	Glu	Val	Lys	Asn	His	Gly	Phe	Ile	Leu	Ile	Asp	Asn	Gln	Thr	Leu	Ser
	225					230					235				240	
	Gly	Phe	Gln	Phe	Ile	Leu	Asn	Gln	Tyr	Gly	Cys	Ile	Val	Tyr	His	Lys
					245					250					255	
20	Glu	Leu	Lys	Arg	Ile	Thr	Val	Thr	Thr	Tyr	Asn	Gln	Phe	Leu	Thr	Trp
				260					265					270		
	Lys	Asp	Ile	Ser	Leu	Ser	Arg	Leu	Asn	Val	Cys	Leu	Ile	Thr	Trp	Ile
		275						280					285			
25	Ser	Asn	Cys	Leu	Asn	Thr	Leu	Asn	Lys	Ser	Leu	Gly	Leu	Arg	Cys	Gly
		290					295					300				
	Phe	Asn	Asn	Val	Ile	Leu	Thr	Gln	Leu	Phe	Leu	Tyr	Gly	Asp	Cys	Ile
	305					310					315					320
	Leu	Lys	Leu	Phe	His	Asn	Glu	Gly	Phe	Tyr	Ile	Ile	Lys	Glu	Val	Glu
					325					330					335	
30	Gly	Phe	Ile	Met	Ser	Leu	Ile	Leu	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Asp	Gln	Phe
				340					345					350		
	Arg	Lys	Arg	Phe	Tyr	Asn	Ser	Met	Leu	Asn	Asn	Ile	Thr	Asp	Ala	Ala
		355						360					365			
35	Asn	Lys	Ala	Gln	Lys	Asn	Leu	Leu	Ser	Arg	Val	Cys	His	Thr	Leu	Leu
		370					375					380				
	Asp	Lys	Thr	Val	Ser	Asp	Asn	Ile	Ile	Asn	Gly	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu
	385					390					395				400	
	Leu	Ser	Lys	Phe	Leu	Lys	Leu	Ile	Lys	Leu	Ala	Gly	Asp	Asn	Asn	Leu
					405					410					415	
40	Asn	Asn	Leu	Ser	Glu	Leu	Tyr	Phe	Leu	Phe	Arg	Ile	Phe	Gly	His	Pro
				420					425					430		
	Met	Val	Asp	Glu	Arg	Gln	Ala	Met	Asp	Ala	Val	Lys	Val	Asn	Cys	Asn
		435						440					445			
45	Glu	Thr	Lys	Phe	Tyr	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Ser	Met	Leu	Arg	Gly	Ala
		450					455					460				
	Phe	Ile	Tyr	Arg	Ile	Ile	Lys	Gly	Phe	Val	Asn	Asn	Tyr	Asn	Arg	Trp
	465					470					475				480	
	Pro	Thr	Leu	Arg	Asn	Ala	Ile	Val	Leu	Pro	Leu	Arg	Trp	Leu	Thr	Tyr

RU 2 723 328 C2

				485					490					495		
	Tyr	Lys	Leu	Asn	Thr	Tyr	Pro	Ser	Leu	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu	Arg	Asp
				500					505					510		
5	Leu	Ile	Val	Leu	Ser	Gly	Leu	Arg	Phe	Tyr	Arg	Glu	Phe	Arg	Leu	Pro
				515					520					525		
	Lys	Lys	Val	Asp	Leu	Glu	Met	Ile	Ile	Asn	Asp	Lys	Ala	Ile	Ser	Pro
				530					535					540		
	Pro	Lys	Asn	Leu	Ile	Trp	Thr	Ser	Phe	Pro	Arg	Asn	Tyr	Met	Pro	Ser
				545					550					555		560
10	His	Ile	Gln	Asn	Tyr	Ile	Glu	His	Glu	Lys	Leu	Lys	Phe	Ser	Glu	Ser
				565					570						575	
	Asp	Lys	Ser	Arg	Arg	Val	Leu	Glu	Tyr	Tyr	Leu	Arg	Asp	Asn	Lys	Phe
				580					585					590		
15	Asn	Glu	Cys	Asp	Leu	Tyr	Asn	Cys	Val	Val	Asn	Gln	Ser	Tyr	Leu	Asn
				595					600					605		
	Asn	Pro	Asn	His	Val	Val	Ser	Leu	Thr	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Leu	Ser
				610					615					620		
	Val	Gly	Arg	Met	Phe	Ala	Met	Gln	Pro	Gly	Met	Phe	Arg	Gln	Val	Gln
				625					630					635		640
20	Ile	Leu	Ala	Glu	Lys	Met	Ile	Ala	Glu	Asn	Ile	Leu	Gln	Phe	Phe	Pro
				645					650					655		
	Glu	Ser	Leu	Thr	Arg	Tyr	Gly	Asp	Leu	Glu	Leu	Gln	Lys	Ile	Leu	Glu
				660					665					670		
25	Leu	Lys	Ala	Gly	Ile	Ser	Asn	Lys	Ser	Asn	Arg	Tyr	Asn	Asp	Asn	Tyr
				675					680					685		
	Asn	Asn	Tyr	Ile	Ser	Lys	Cys	Ser	Ile	Ile	Thr	Asp	Leu	Ser	Lys	Phe
				690					695					700		
	Asn	Gln	Ala	Phe	Arg	Tyr	Glu	Thr	Ser	Cys	Ile	Cys	Ser	Asp	Val	Leu
				705					710					715		720
30	Asp	Glu	Leu	His	Gly	Val	Gln	Ser	Leu	Phe	Ser	Trp	Leu	His	Leu	Thr
				725					730					735		
	Ile	Pro	His	Val	Thr	Ile	Ile	Cys	Thr	Tyr	Arg	His	Ala	Pro	Pro	Tyr
				740					745					750		
35	Ile	Arg	Asp	His	Ile	Val	Asp	Leu	Asn	Asn	Val	Asp	Glu	Gln	Ser	Gly
				755					760					765		
	Leu	Tyr	Arg	Tyr	His	Met	Gly	Gly	Ile	Glu	Gly	Trp	Cys	Gln	Lys	Leu
				770					775					780		
	Trp	Thr	Ile	Glu	Ala	Ile	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Ile	Ser	Leu	Lys	Gly
				785					790					795		800
40	Lys	Phe	Ser	Ile	Thr	Ala	Leu	Ile	Asn	Gly	Asp	Asn	Gln	Ser	Ile	Asp
				805					810					815		
	Ile	Ser	Lys	Pro	Val	Arg	Leu	Met	Glu	Gly	Gln	Thr	His	Ala	Gln	Ala
				820					825					830		
45	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ala	Leu	Asn	Ser	Leu	Lys	Leu	Leu	Tyr	Lys	Glu	Tyr
				835					840					845		
	Ala	Gly	Ile	Gly	His	Lys	Leu	Lys	Gly	Thr	Glu	Thr	Tyr	Ile	Ser	Arg
				850					855					860		
	Asp	Met	Gln	Phe	Met	Ser	Lys	Thr	Ile	Gln	His	Asn	Gly	Val	Tyr	Tyr

RU 2 723 328 C2

	1235		1240		1245
	Asn Ser Leu Thr Arg Gly Glu		Arg Gly Pro Thr Lys		Pro Trp Val
	1250		1255		1260
	Gly Ser Ser Thr Gln Glu Lys		Lys Thr Met Pro Val		Tyr Asn Arg
5	1265		1270		1275
	Gln Val Leu Thr Lys Lys Gln		Arg Asp Gln Ile Asp		Leu Leu Ala
	1280		1285		1290
	Lys Leu Asp Trp Val Tyr Ala		Ser Ile Asp Asn Lys		Asp Glu Phe
	1295		1300		1305
10	Met Glu Glu Leu Ser Ile Gly		Thr Leu Gly Leu Thr		Tyr Glu Lys
	1310		1315		1320
	Ala Lys Lys Leu Phe Pro Gln		Tyr Leu Ser Val Asn		Tyr Leu His
	1325		1330		1335
	Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg		Pro Cys Glu Phe Pro		Ala Ser Ile
15	1340		1345		1350
	Pro Ala Tyr Arg Thr Thr Asn		Tyr His Phe Asp Thr		Ser Pro Ile
	1355		1360		1365
	Asn Arg Ile Leu Thr Glu Lys		Tyr Gly Asp Glu Asp		Ile Asp Ile
	1370		1375		1380
20	Val Phe Gln Asn Cys Ile Ser		Phe Gly Leu Ser Leu		Met Ser Val
	1385		1390		1395
	Val Glu Gln Phe Thr Asn Val		Cys Pro Asn Arg Ile		Ile Leu Ile
	1400		1405		1410
	Pro Lys Leu Asn Glu Ile His		Leu Met Lys Pro Pro		Ile Phe Thr
25	1415		1420		1425
	Gly Asp Val Asp Ile His Lys		Leu Lys Gln Val Ile		Gln Lys Gln
	1430		1435		1440
	His Met Phe Leu Pro Asp Lys		Ile Ser Leu Thr Gln		Tyr Val Glu
	1445		1450		1455
30	Leu Phe Leu Ser Asn Lys Thr		Leu Lys Ser Gly Ser		His Val Asn
	1460		1465		1470
	Ser Asn Leu Ile Leu Ala His		Lys Ile Ser Asp Tyr		Phe His Asn
	1475		1480		1485
	Thr Tyr Ile Leu Ser Thr Asn		Leu Ala Gly His Trp		Ile Leu Ile
35	1490		1495		1500
	Ile Gln Leu Met Lys Asp Ser		Lys Gly Ile Phe Glu		Lys Asp Trp
	1505		1510		1515
	Gly Glu Gly Tyr Ile Thr Asp		His Met Phe Ile Asn		Leu Lys Val
	1520		1525		1530
40	Phe Phe Asn Ala Tyr Lys Thr		Tyr Leu Leu Cys Phe		His Lys Gly
	1535		1540		1545
	Tyr Gly Lys Ala Lys Leu Glu		Cys Asp Met Asn Thr		Ser Asp Leu
	1550		1555		1560
	Leu Cys Val Leu Glu Leu Ile		Asp Ser Ser Tyr Trp		Lys Ser Met
45	1565		1570		1575
	Ser Lys Val Phe Leu Glu Gln		Lys Val Ile Lys Tyr		Ile Leu Ser
	1580		1585		1590
	Gln Asp Ala Ser Leu His Arg		Val Lys Gly Cys His		Ser Phe Lys

RU 2 723 328 C2

	1595		1600		1605										
	Leu	Trp	Phe	Leu	Lys	Arg	Leu	Asn	Val	Ala	Glu	Phe	Thr	Val	Cys
	1610		1615		1620										
	Pro	Trp	Val	Val	Asn	Ile	Asp	Tyr	His	Pro	Thr	His	Met	Lys	Ala
5	1625		1630		1635										
	Ile	Leu	Thr	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Arg	Met	Gly	Leu	Ile	Asn	Ile
	1640		1645		1650										
	Asp	Arg	Ile	His	Ile	Lys	Asn	Lys	His	Lys	Phe	Asn	Asp	Glu	Phe
	1655		1660		1665										
10	Tyr	Thr	Ser	Asn	Leu	Phe	Tyr	Ile	Asn	Tyr	Asn	Phe	Ser	Asp	Asn
	1670		1675		1680										
	Thr	His	Leu	Leu	Thr	Lys	His	Ile	Arg	Ile	Ala	Asn	Ser	Glu	Leu
	1685		1690		1695										
	Glu	Asn	Asn	Tyr	Asn	Lys	Leu	Tyr	His	Pro	Thr	Pro	Glu	Thr	Leu
15	1700		1705		1710										
	Glu	Asn	Ile	Leu	Ala	Asn	Pro	Ile	Lys	Ser	Asn	Asp	Lys	Lys	Thr
	1715		1720		1725										
	Leu	Asn	Asp	Tyr	Cys	Ile	Gly	Lys	Asn	Val	Asp	Ser	Ile	Met	Leu
	1730		1735		1740										
20	Pro	Leu	Leu	Ser	Asn	Lys	Lys	Leu	Val	Lys	Ser	Ser	Ala	Met	Ile
	1745		1750		1755										
	Arg	Thr	Asn	Tyr	Ser	Lys	Gln	Asp	Leu	Tyr	Asn	Leu	Phe	Pro	Thr
	1760		1765		1770										
	Val	Val	Ile	Asp	Arg	Ile	Ile	Asp	His	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Lys
25	1775		1780		1785										
	Ser	Asn	Gln	Leu	Tyr	Thr	Thr	Thr	Ser	His	Gln	Ile	Ser	Leu	Val
	1790		1795		1800										
	His	Asn	Ser	Thr	Ser	Leu	Tyr	Cys	Met	Leu	Pro	Trp	His	His	Ile
	1805		1810		1815										
30	Asn	Arg	Phe	Asn	Phe	Val	Phe	Ser	Ser	Thr	Gly	Cys	Lys	Ile	Ser
	1820		1825		1830										
	Ile	Glu	Tyr	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Lys	Ile	Lys	Asp	Pro	Asn	Cys
	1835		1840		1845										
	Ile	Ala	Phe	Ile	Gly	Glu	Gly	Ala	Gly	Asn	Leu	Leu	Leu	Arg	Thr
35	1850		1855		1860										
	Val	Val	Glu	Leu	His	Pro	Asp	Ile	Arg	Tyr	Ile	Tyr	Arg	Ser	Leu
	1865		1870		1875										
	Lys	Asp	Cys	Asn	Asp	His	Ser	Leu	Pro	Ile	Glu	Phe	Leu	Arg	Leu
	1880		1885		1890										
40	Tyr	Asn	Gly	His	Ile	Asn	Ile	Asp	Tyr	Gly	Glu	Asn	Leu	Thr	Ile
	1895		1900		1905										
	Pro	Ala	Thr	Asp	Ala	Thr	Asn	Asn	Ile	His	Trp	Ser	Tyr	Leu	His
	1910		1915		1920										
	Ile	Lys	Phe	Ala	Glu	Pro	Ile	Ser	Leu	Phe	Val	Cys	Asp	Ala	Glu
45	1925		1930		1935										
	Leu	Pro	Val	Thr	Val	Asn	Trp	Ser	Lys	Ile	Ile	Ile	Glu	Trp	Ser
	1940		1945		1950										
	Lys	His	Val	Arg	Lys	Cys	Lys	Tyr	Cys	Ser	Ser	Val	Asn	Lys	Cys

RU 2 723 328 C2

	1955		1960		1965
	Thr Leu Ile Val Lys Tyr His		Ala Gln Asp Asp		Ile Asp Phe Lys
	1970		1975		1980
	Leu Asp Asn Ile Thr Ile Leu		Lys Thr Tyr Val Cys		Leu Gly Ser
5	1985		1990		1995
	Lys Leu Lys Gly Ser Glu Val		Tyr Leu Val Leu Thr		Ile Gly Pro
	2000		2005		2010
	Ala Asn Ile Phe Pro Val Phe		Asn Val Val Gln Asn		Ala Lys Leu
	2015		2020		2025
10	Ile Leu Ser Arg Thr Lys Asn		Phe Ile Met Pro Lys		Lys Ala Asp
	2030		2035		2040
	Lys Glu Ser Ile Asp Ala Asn		Ile Lys Ser Leu Ile		Pro Phe Leu
	2045		2050		2055
	Cys Tyr Pro Ile Thr Lys Lys		Gly Ile Asn Thr Ala		Leu Ser Lys
15	2060		2065		2070
	Leu Lys Ser Val Val Ser Gly		Asp Ile Leu Ser Tyr		Ser Ile Ala
	2075		2080		2085
	Gly Arg Asn Glu Val Phe Ser		Asn Lys Leu Ile Asn		His Lys His
	2090		2095		2100
20	Met Asn Ile Leu Lys Trp Phe		Asn His Val Leu Asn		Phe Arg Ser
	2105		2110		2115
	Thr Glu Leu Asn Tyr Asn His		Leu Tyr Met Val Glu		Ser Thr Tyr
	2120		2125		2130
	Pro Tyr Leu Ser Glu Leu Leu		Asn Ser Leu Thr Thr		Asn Glu Leu
25	2135		2140		2145
	Lys Lys Leu Ile Lys Ile Thr		Gly Ser Leu Leu Tyr		Asn Phe His
	2150		2155		2160
	Asn Glu				
	2165				
30	<210> 7				
	<211> 194				
	<212> PRT				
	<213> Респираторно-синцитиальный вирус				
	<400> 7				
35	Met Ser Arg Arg Asn Pro Cys Lys Phe Glu Ile Arg Gly His Cys Leu				
	1	5	10	15	
	Asn Gly Lys Arg Cys His Phe Ser His Asn Tyr Phe Glu Trp Pro Pro				
		20	25	30	
	His Ala Leu Leu Val Arg Gln Asn Phe Met Leu Asn Arg Ile Leu Lys				
40		35	40	45	
	Ser Met Asp Lys Ser Ile Asp Thr Leu Ser Glu Ile Ser Gly Ala Ala				
	50	55	60		
	Glu Leu Asp Arg Thr Glu Glu Tyr Ala Leu Gly Val Val Gly Val Leu				
	65	70	75	80	
45	Glu Ser Tyr Ile Gly Ser Ile Asn Asn Ile Thr Lys Gln Ser Ala Cys				
		85	90	95	
	Val Ala Met Ser Lys Leu Leu Thr Glu Leu Asn Ser Asp Asp Ile Lys				
		100	105	110	

RU 2 723 328 C2

Lys Leu Arg Asp Asn Glu Glu Leu Asn Ser Pro Lys Ile Arg Val Tyr
 115 120 125
 Asn Thr Val Ile Ser Tyr Ile Glu Ser Asn Arg Lys Asn Asn Lys Gln
 130 135 140
 5 Thr Ile His Leu Leu Lys Arg Leu Pro Ala Asp Val Leu Lys Lys Thr
 145 150 155 160
 Ile Lys Asn Thr Leu Asp Ile His Lys Ser Ile Thr Ile Asn Asn Pro
 165 170 175
 Lys Glu Leu Thr Val Ser Asp Thr Asn Asp His Ala Lys Asn Asn Asp
 10 180 185 190
 Thr Thr
 <210> 8
 <211> 90
 <212> PRT
 15 <213> Респираторно-синцитиальный вирус
 <400> 8
 Met Thr Met Pro Lys Ile Met Ile Leu Pro Asp Lys Tyr Pro Cys Ser
 1 5 10 15
 Ile Thr Ser Ile Leu Ile Thr Ser Arg Cys Arg Val Thr Met Tyr Asn
 20 20 25 30
 Arg Lys Asn Thr Leu Tyr Phe Asn Gln Asn Asn Pro Asn Asn His Met
 35 40 45
 Tyr Ser Pro Asn Gln Thr Phe Asn Glu Ile His Trp Thr Ser Gln Asp
 50 55 60
 25 Leu Ile Asp Thr Ile Gln Asn Phe Leu Gln His Leu Gly Val Ile Glu
 65 70 75 80
 Asp Ile Tyr Thr Ile Tyr Ile Leu Val Ser
 85 90
 <210> 9
 30 <211> 241
 <212> PRT
 <213> Респираторно-синцитиальный вирус
 <400> 9
 Met Glu Lys Phe Ala Pro Glu Phe His Gly Glu Asp Ala Asn Asn Arg
 35 1 5 10 15
 Ala Thr Lys Phe Leu Glu Ser Ile Lys Gly Lys Phe Thr Ser Pro Lys
 20 25 30
 Asp Pro Lys Lys Lys Asp Ser Ile Ile Ser Val Asn Ser Ile Asp Ile
 35 40 45
 40 Glu Val Thr Lys Glu Ser Pro Ile Thr Ser Asn Ser Thr Ile Ile Asn
 50 55 60
 Pro Thr Asn Glu Thr Asp Asp Asn Ala Gly Asn Lys Pro Asn Tyr Gln
 65 70 75 80
 Arg Lys Pro Leu Val Ser Phe Lys Glu Asp Pro Ile Pro Ser Asp Asn
 45 85 90 95
 Pro Phe Ser Lys Leu Tyr Lys Glu Thr Ile Glu Thr Phe Asp Asn Asn
 100 105 110
 Glu Glu Glu Ser Ser Tyr Ser Tyr Glu Glu Ile Asn Asp Gln Thr Asn

RU 2 723 328 C2

	115		120		125														
	Asp	Asn	Ile	Thr	Ala	Arg	Leu	Asp	Arg	Ile	Asp	Glu	Lys	Leu	Ser	Glu			
	130						135				140								
	Ile	Leu	Gly	Met	Leu	His	Thr	Leu	Val	Val	Ala	Ser	Ala	Gly	Pro	Thr			
5	145					150					155				160				
	Ser	Ala	Arg	Asp	Gly	Ile	Arg	Asp	Ala	Met	Val	Gly	Leu	Arg	Glu	Glu			
					165					170					175				
	Met	Ile	Glu	Lys	Ile	Arg	Thr	Glu	Ala	Leu	Met	Thr	Asn	Asp	Arg	Leu			
				180					185					190					
10	Glu	Ala	Met	Ala	Arg	Leu	Arg	Asn	Glu	Glu	Ser	Glu	Lys	Met	Ala	Lys			
			195					200					205						
	Asp	Thr	Ser	Asp	Glu	Val	Ser	Leu	Asn	Pro	Thr	Ser	Glu	Lys	Leu	Asn			
	210						215					220							
	Asn	Leu	Leu	Glu	Gly	Asn	Asp	Ser	Asp	Asn	Asp	Leu	Ser	Leu	Glu	Asp			
15	225					230					235				240				
	Phe																		
	<210>	10																	
	<211>	139																	
	<212>	PRT																	
20	<213>	Респираторно-синцитиальный вирус																	
	<400>	10																	
	Met	Gly	Ser	Asn	Ser	Leu	Ser	Met	Ile	Lys	Val	Arg	Leu	Gln	Asn	Leu			
	1			5						10					15				
	Phe	Asp	Asn	Asp	Glu	Val	Ala	Leu	Leu	Lys	Ile	Thr	Cys	Tyr	Thr	Asp			
25			20					25					30						
	Lys	Leu	Ile	His	Leu	Thr	Asn	Ala	Leu	Ala	Lys	Ala	Val	Ile	His	Thr			
			35				40					45							
	Ile	Lys	Leu	Asn	Gly	Ile	Val	Phe	Val	His	Val	Ile	Thr	Ser	Ser	Asp			
	50					55					60								
30	Ile	Cys	Pro	Asn	Asn	Asn	Ile	Val	Val	Lys	Ser	Asn	Phe	Thr	Thr	Met			
	65				70						75				80				
	Pro	Val	Leu	Gln	Asn	Gly	Gly	Tyr	Ile	Trp	Glu	Met	Met	Glu	Leu	Thr			
				85				90					95						
	His	Cys	Ser	Gln	Pro	Asn	Gly	Leu	Ile	Asp	Asp	Asn	Cys	Glu	Ile	Lys			
35			100					105					110						
	Phe	Ser	Lys	Lys	Leu	Ser	Asp	Ser	Thr	Met	Thr	Asn	Tyr	Met	Asn	Gln			
			115				120					125							
	Leu	Ser	Glu	Leu	Leu	Gly	Phe	Asp	Leu	Asn	Pro								
	130						135												
40	<210>	11																	
	<211>	124																	
	<212>	PRT																	
	<213>	Респираторно-синцитиальный вирус																	
	<400>	11																	
45	Met	Asp	Thr	Thr	His	Asn	Asp	Thr	Thr	Pro	Gln	Arg	Leu	Met	Ile	Thr			
	1			5						10				15					
	Asp	Met	Arg	Pro	Leu	Ser	Leu	Glu	Thr	Thr	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Arg			
			20					25					30						

RU 2 723 328 C2

	Asp	Ile	Ile	Thr	His	Arg	Phe	Ile	Tyr	Leu	Ile	Asn	His	Glu	Cys	Ile	
			35					40				45					
	Val	Arg	Lys	Leu	Asp	Glu	Arg	Gln	Ala	Thr	Phe	Thr	Phe	Leu	Val	Asn	
			50				55					60					
5	Tyr	Glu	Met	Lys	Leu	Leu	His	Lys	Val	Gly	Ser	Thr	Lys	Tyr	Lys	Lys	
							70				75					80	
	Tyr	Thr	Glu	Tyr	Asn	Thr	Lys	Tyr	Gly	Thr	Phe	Pro	Met	Pro	Ile	Phe	
					85					90					95		
	Ile	Asn	His	Asp	Gly	Phe	Leu	Glu	Cys	Ile	Gly	Ile	Lys	Pro	Thr	Lys	
10					100					105				110			
	His	Thr	Pro	Ile	Ile	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Leu	Asn	Pro					
					115					120							
	<210>		12														
	<211>		1725														
15	<212>		PHK														
	<213>		Респираторно-синцитиальный вирус														
	<400>		12														
	auggaguugc	саауссусаа	агсаааугса	ауиассасаа	уцсусгсугс	агусасаууу											60
	угсууугсуу	суагусаааа	саусасугаа	гааууууауа	ааусааауг	сагусгсугу											120
20	агсаааггсу	аусууагугс	уцуаагаасу	ггууугуауа	суагугууау	аасуауагаа											180
	уааагуаауа	усаагггаааа	уаагугуаау	ггаасггауг	суааггуааа	ауугауааас											240
	саагауууаг	ауааауауаа	аааугсугуа	асагаауугс	агуугсугау	гсааагсаса											300
	асагсгсгаа	асаауцггс	сггааггааа	суааааггу	ууаугаууа	уаааааааа											360
	аауаааааа	аааааааау	аааааааагс	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											420
25	уугууаггуг	ууггауцугс	аауцгсгсг	ггсгггггг	уауаааааа	сгггггггг											480
	гааггггааг	угааааааа	сгггггггг	суааааааа	сгггггггг	сгггггггг											540
	ууауааааа	ггггггггг	сгггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											600
	ааааааааа	уаааааааа	ггггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											660
	ауагггггг	ааааааааа	сгггггггг	суааааааа	сгггггггг	сгггггггг											720
30	гсггггггг	суааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											780
	ауааааааа	уаааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											840
	ггуаааааа	ааааааааа	уаааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											900
	гуааааааа	сгггггггг	уаааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											960
	суааааааа	сгггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1020
35	уаааааааа	сгггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1080
	сгггггггг	ааааааааа	уаааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1140
	сгггггггг	уаааааааа	сгггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1200
	ггггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг											1260
	ааааааааа	сгггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1320
40	уаааааааа	ааааааааа	ггггггггг	уаааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1380
	ааааааааа	ггггггггг	суааааааа	ггггггггг	уаааааааа	уаааааааа											1440
	уаааааааа	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг											1500
	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг	сгггггггг											1560
	уаааааааа	уаааааааа	ааааааааа	уаааааааа	уаааааааа	уаааааааа											1620
45	уаааааааа	уаааааааа	сгггггггг	ааааааааа	ааааааааа	ааааааааа											1680
	ааааааааа	уаааааааа	уаааааааа	уаааааааа	уаааааааа	уаааааааа											1725
	<210>		13														
	<211>		897														

<212> РНК

<213> Респираторно-синцитиальный вирус

<400> 13

аугиссаааа асааггасса асгсассгсу аагасасуаг аааагассуг ггасасусус 60
 5 ааусаиуиуаи уаиусаиуаис аусгггсуиа уаиааггиаа аусиуаааис уаиагсасаа 120
 аусасаиуаи ссаиусиггс ааугаиаааис усаасиуас уаиааууас агссауааа 180
 уисаиагссу сггсааасса сааагисаса сиаасаасиг сааусаиаса агаугсааса 240
 агссагауса агаасасаас сссаасаиас сисасусигг ауссусигсу уггауагсгс 300
 уисиссааис угисугаааи уасаусасаа ассассасса уасуагсиус аасаасасса 360
 10 ггагисаагу сааассигса асссаасаа гусаагасиа аааасасаас аасаасссаа 420
 асаасаасса гсаагссас уасаааасаа сгссааааса аассассаа сааасссааи 480
 ааугаиууис асиусгаагу гуиуаасиуу гуацсигса гсауаугсг саасаусса 540
 ассигсиггг сиаусигсаа аагауаасса аасааааааа сaggaaagaa аассассс 600
 аагссиааса ааааассаас сиусаагаса ассааааааг аусусааасс усааассаси 660
 15 ааассааагг аагуацссас сассаагссс асагаагсг саацсауаа сассассаа 720
 асааасауса саасиасаси гсисассаас аасассасг гааауссаа асисасаагу 780
 сааауггааа ссиуссасис аассуссусс гааггсааис уаагсссиус усаагусс 840
 асаасауссг агсасссаус асаасссиса усиссасса асаасаасг ссагуаг 897

<210> 14

20 <211> 195

<212> РНК

<213> Респираторно-синцитиальный вирус

<400> 14

ауггаааааа сауссаиуаас аауагаууис усаагсааау усуггссуа сууасасиа 60
 25 аиасасауга усасаасааи ааусисиуиг сиааусаиуа усиссауаи гасугсааиа 120
 сиааасааас уиуигуааиа уаасгуауис саиаасаааа ссууагуаи ассаагсгс 180
 сгагисааса сауаг 195

<210> 15

30 <211> 771

<212> РНК

<213> Респираторно-синцитиальный вирус

<400> 15

ауггааасаи асгигаасаа гсиусасгаа ггсиссасаи асасгсгсгс uguucaauac 60
 ааугиссуаг ааааагасга угасссигса усасиуасаа уаагггггс саугиуссаа 120
 35 усаусиаугс сгсгаууу асиуааааа гаасуагсиа аугуаааи асугуаааа 180
 саааиуисса сасссааггг ассиусасиа агагисауга уааасусааг аагугсауиг 240
 сиагсасааа угсссагсаа аиуиассаиа угугсиаауг угиссуугга угааагаагс 300
 ааасиггсгаи аугаугуаас сасасссиги гаааусаагг саугуагуси асаагссиа 360
 аааусааааа аиаугиуаас уасаггиааа гаусисасиа угаагасаси саацссаса 420
 40 саугаиуиуаи уигсиууауг угауууугаа аасауагуаа саусааааа агусауауа 480
 ссаасауасс уаагауссаи сагигисага аауааагаус угаасасаси угааауауа 540
 асаассасиг ааиусааааа угссаусаса ааугсааааа усаусссуа сисаггауаа 600
 сиууагиса усасагигас угасаасааа ггагсаиуса аауасауааа гсгсгааагу 660
 саауусауаг уагаусиууг агсиуассиа гааааагаа гуауауауа угууассаса 720
 45 ааууггаагс асасгсгсас асгаууугса аусааассса уггаагуаа а 771

<210> 16

<211> 1176

<212> РНК

<213> Респираторно-синцитиальный вирус

<400> 16

	auggcucuua	gsaaagucsa	guugaaugau	acacucsaaca	aagaucsaacu	ucugucaucu	60
	agcaaaucsa	ssaucssaacs	gagcacagga	gauaguauug	auacuccuaa	uuauaugug	120
5	сagaаасаса	усааиаагуи	аугуггсауг	уааииаауса	сagaагаугс	uaaucuaaaa	180
	uucacugggu	uaauagguau	guuaauugcu	augucuaaggu	uaggaagaga	agacaccaua	240
	aaaaucucsa	gagaucsggg	auaucaugua	aaagcaaaug	gaguagaugu	aacacacau	300
	cgucsaagasa	ucaaugggaa	agaaaugaaa	uuugaagugu	uaacauuggc	aagcuuaaca	360
	асугаааиис	аааисаасаи	угагаиагаа	исиагааааи	ссиасааааа	aaugcuaaaa	420
10	gaaaugggag	agguagcucc	agaauacagg	caugauucuc	cugauugugg	gaugauaaua	480
	uuauguauag	cagcauuagu	aauaacsaaa	uuggcagcag	gggauagauc	uggucuuaca	540
	gcccugauua	ggagagcuua	uaauguccua	aaaaaugaaa	ugaaacguua	caaaggcuua	600
	cuaccsaagg	auauagssaa	cagcuucuaa	gaaguguuug	aaaaacauc	ccacuuuaa	660
	гаугиуиуиу	иисаиуиуиу	иаиагсасаа	исииссacca	gagguggcag	uagaguugaa	720
15	gggauuuuug	caggauuguu	uaugaaugcc	uauggugcag	ggcaaguaau	gcuacggugg	780
	ggagucuuag	caaaaucagu	uaaaaauuuu	auguuaggac	augcuagugu	gcaagcagaa	840
	auggaacaag	uuguugaggu	uuaugaauau	gcccaaaaau	uggguggaga	agcaggauuc	900
	иассаиуаиу	угаасаассс	аааагсауса	иаиуиаисиу	угасисаауу	uccucacuuu	960
	иссагугуаг	иаиуаггсаа	угсугсуггс	суаггсауаа	ugggagagua	cagagguaca	1020
20	ccgaggaauc	aagaucuaaa	ugaugcagca	aaggcauaug	cugaacaacu	caaagaaaau	1080
	ggugugauua	acucaguguu	auuagacuu	acagcagaag	aacuagaggc	uaucaaacau	1140
	cagcuuaauc	caaaagauaa	ugauguagag	cuuuga			1176

<210> 17

<211> 6498

25 <212> РНК

<213> Респираторно-синцитиальный вирус

<400> 17

	auggaucssa	uuauaauggg	aaaucugcu	aauguuuauc	uaaccgauag	uuuuuuuuuu	60
	gguguuuauc	cuuucucaga	guguaaugcu	uuaggauuu	acauuuuca	uggucsuuu	120
30	сисааааау	аииаиассаа	сиаааииагу	агасаааааис	саииааиага	acacaugaa	180
	cuaaagaaac	uaaauiuaac	acagucsuua	auaucuaagu	aucuaaaagg	ugaaauuuuu	240
	uuagaagagc	cuacuuauuu	ucagucsuua	cuuaugacau	acaagaguau	gaccucguug	300
	gaacagauug	cuaccacuaa	uuuacuuuaa	aagauaauaa	gaagagcuau	agaauiuaagu	360
	гаугисаааг	исиаугсиаи	аиугааиааа	суагггсиаа	аагаааагга	caagauuuuu	420
35	иссаасаау	гасаггауга	агасаааиса	гуааиуагса	ссиаауааа	agaugauua	480
	cuuucagcug	uuaggaauaa	ucaaucucsu	cuuaaagcag	acaaaauua	cucuaaaaa	540
	caaaaagasa	cauucuaaac	aacacucuu	aagaauiuaa	uguguucaau	gcagcauccu	600
	ссаисауггу	иааиасаиу	гуиуааиуиу	иасасааааи	иааасаасаи	auuaacacag	660
	иасгсаусаа	аугаггуиаа	ааассауггг	иуиуаиуа	иагаиуааа	aacucuuagu	720
40	ggauuucaau	uuuuuuugaa	ucaauauggu	uguauguuu	aucuaaagga	acucuaaaga	780
	auuucuguga	caaccuaaaa	ucaauucuu	acauggaaag	auuuuagccu	uaguagauua	840
	aauguuuugu	uaauuacaug	gauuaguua	ugcuugaaca	cauuuuuuuu	aagcuuaggc	900
	иааагаугсг	гаиисааиуа	угиуаисиу	асасааааиу	иССиууаугг	ugauuguaa	960
	cuaaagcuau	uucacaauga	gggguucua	auuuuuuuuu	agguagaggg	uuuuuuuuuu	1020
45	исисааиуиу	иаааиуааа	агаагаагаи	сааиуаааа	ааггаиуууа	uaauaguau	1080
	сисаасааса	исасагаугс	угсиааиуааа	гсисагааааа	аисугсиаис	aagaguauuu	1140
	саиасаиуиу	иагаиуааа	агуаиссгаи	ааиуааиуаа	ауггсгагаи	gauuuuuuu	1200
	иуаагуаагу	иССиуаааиу	ааиуааагсиу	гсгггугаа	аиуаааааа	cauucugagu	1260

	gaacuauauu	uuuuguucag	aaauuuugga	cacccaauyg	uagaugaaag	acaagccaug	1320
	gaugcuguaa	aaguuauuug	caaugagacc	aaauuuuacu	uguuuagcag	uuugaguaug	1380
	uuuagaggug	ccuuuuauua	uagaauuuua	aaaggguuug	uaauuaauua	caacagaugg	1440
	ccuacuuaaa	gaaaugcuau	uguuuuaccc	uuuagauggu	uaacuuaqua	uaaacuaaac	1500
5	acuuauccuu	cuuuuguugga	acuuacagaa	agagauuuuga	uuguguuuau	aggacuacgu	1560
	uucuaucgug	aguuucgguu	gccuaaaaaa	guggaucuug	aaaugauuuu	aaaugauaaa	1620
	gcuauaucac	ccccuaaaaa	uuugauauug	acuaguuuuc	cuagaaauua	uaugccguca	1680
	cacauacaaa	acuauauaga	acaugaaaaa	uuuuuuuuuu	ccgagaguga	uaaucaaga	1740
	agaguauuag	aguauuuuuu	aagagauaac	aaauucaaug	aaugugauuu	auacaacugu	1800
10	guaguuaauc	aaaguuaucu	caacaacccu	aaucaugugg	uaucauugac	aggcaaagaa	1860
	agagaacuca	guguagguag	aauguuugca	augcaaccgg	gaauguucag	acagguucaa	1920
	auauuggcag	agaaaaugau	agcugaaaaa	auuuuacaau	ucuuuuccuga	aagucuuaqa	1980
	agauauggug	aucuagaacu	acaaaaaaau	uuagaauuga	aagcaggaau	aaguaacaaa	2040
	ucaaauccgu	acaauquaaa	uuacaacaau	uacauuagua	agugcucuau	caucacagau	2100
15	cucagcaaa	ucaaucaagc	auuucgquau	gaaacgucqu	guauuuquag	ugaugugcug	2160
	gaugaacugc	augguquaca	aucucquuuu	uccugguuac	auuuuacquu	uccucauguc	2220
	acaauauuu	gcacauauag	gcaugcacc	cccuauuuu	gagaucauu	uguagauuu	2280
	aacaauquag	augaacaaaag	uggauuuuu	agauaucaca	ugggugguau	ugaagggugg	2340
	ugucaaaaa	uauggaccau	agaagcuaua	ucacuuuugg	aucuauuau	ucuaaaagg	2400
20	aaauucucua	uuacugcquu	aauuuauugg	gacaaucauu	cauagauuu	aagcaacca	2460
	gucagacuca	uggaagguca	aacucaugcu	caagcaguuu	auuugcuagc	auuuuuuagc	2520
	cuuuuuuuac	uguauuuuaga	guaugcaggc	auaggucaca	auuuuuuagg	aacugagacu	2580
	uuuuuuuacac	gagauuugca	auuuuauug	uuuuuauuuc	aacuuuacgg	uguauuuuac	2640
	ccugcuagua	uuuagaaagu	ccuuuagug	ggaccgugga	uuuacacuu	acuugaugu	2700
25	uucaauquga	gucuaquau	uuuagguagu	uuugacaca	aauuuaguu	uagaggugaa	2760
	agucuuuuu	gcaguuuuuu	uuuuuaguuu	guuugguuuu	uuuuuacuuu	ugcucuuaaa	2820
	uuuuuuuuuac	augcguuuuug	uuuacuuuuu	uuuuuuuuug	uuuuuuuuuu	gguuucuguuu	2880
	cacuuuuuuu	ccuuuuuuuu	ucuuuuguuu	uuuuuugcu	uuuuuacuuu	guuuuuguuu	2940
	uuaccuaugu	uuuuuggugg	ugguugauccc	aacuuuguuu	uuuaguuuu	uuuuuaguuu	3000
30	acuccuquuu	uccucacaga	ggcuuuuuguu	cacucugugu	uuuuuacuuu	uuuuuuuaca	3060
	aaccuugacu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	3120
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3180
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3240
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3300
35	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3360
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3420
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3480
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3540
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3600
40	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3660
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3720
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3780
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3840
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3900
45	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	3960
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	4020
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	4080
	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	uuuuuacuuu	uuuuuaguuu	4140

	auugacauag	uauuccaaaa	cuguauaagc	uuuggccuua	gcuuaauguc	aguaguagaa	4200
	caauuuacua	auguaugucc	uaacagaauu	auucucauac	cuaagcuuaa	ugagauacau	4260
	uugaugaaac	cucccauuuu	cacaggugau	guugauauuc	acaaguuaaa	acaagugaua	4320
	caaaaacagc	auauguuuuu	accagacaaa	auaaguuuuga	cucaauaugu	ggaauuuuc	4380
5	uuuaguaaca	aaacacuca	aucuggaucu	cauguuuuuu	cuaauuuuuu	auuggcacau	4440
	aaaauaucug	acuauuuuca	uaauacuuac	auuuuaagua	cuaauuuuagc	uggacauugg	4500
	auucuaauua	uacaacuuau	gaaagauuc	aaagguuuuu	uugaaaaaga	uuggggagag	4560
	ggauauauaa	cugaucuuau	guuuuuuuuu	uugaaaquuu	ucuucaaugc	uuauaagacc	4620
	uaucucuugu	guuuucuuuu	agguuuuugc	aaagcaaaac	uggaguguga	uaugaacacu	4680
10	ucagauucuu	uauguguuuu	ggaauuuuuu	gacaguuguu	auuggaaguc	uaugucuaag	4740
	guuuuuuuuag	aacaaaaagu	uaucuuuuac	auucuuuagcc	aagaugcaag	uuuacauaga	4800
	guuuuuuuuag	gucauagcuu	cauuuuuuuag	uuucuuuuuac	gucuuuuuag	agcagaauuu	4860
	acaguuuugcc	cuuggguuuu	uaacauuagau	uaucuuuuuac	cacauuugaa	agcauuuuu	4920
	acuuaauuag	aucuuuuuag	aauggguuuu	auuuuuuuuag	auagaauaca	cauuuuuuuu	4980
15	aaacacuuuu	ucauuuuuag	uuuuuuuuuac	ucuuuuuuuac	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5040
	ucaguuuuuu	cuuuuuuuuu	aaauuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5100
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5160
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5220
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5280
20	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5340
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5400
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5460
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5520
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5580
25	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5640
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5700
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5760
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5820
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5880
30	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	5940
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6000
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6060
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6120
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6180
35	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6240
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6300
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6360
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6420
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6480
40	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	6498
	<210>	18					
	<211>	585					
	<212>	PHK					
	<213>	Респираторно-синцитиальный вирус					
45	<400>	18					
	auugacauag	uauuccaaaa	cuguauaagc	uuuggccuua	gcuuaauguc	aguaguagaa	60
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	120
	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	uuuuuuuuuu	180

	aguggagcug cagaguugga cagaacagaa gaguaugcuc uugguguagu uggagugcua	240
	gagaguuaa uaggaucsaau aaauaaaua acuaaacaau cagcaugugu ugccaugagc	300
	aaacuccuca cugaacuca uagugaugau aucaaaaaac ugagagacaa ugaagagcua	360
	aauicaccca agauaagagu guacaauacu gucauaucau auauugaaag caacaggaaa	420
5	аасаагааас ааасуаусса усугуааааа агашугссаг сагасгуауу гаагаааасс	480
	аусаааааса саууггауау ссааагагс аааассауа асааассаа агаууаасу	540
	гуаугауаа саааугасса угссaaaaaу ааугауасуа ссуга	585
	<210> 19	
	<211> 273	
10	<212> РНК	
	<213> Респираторно-синцитиальный вирус	
	<400> 19	
	аугассаугс сааааауау гауасуассу гасааауаус суугуагуау аасууссауа	60
	суаауаасаа гуагаугуаг агусасуауг уауааусгаа агаасасасу аауууусауа	120
15	саааасаасс сааауаасса уаугуасуа ссгааусаа саууцаауга аауссауугг	180
	ассисасааг асуугаууа сааауусаа ааууууууас агсаууагг угууауугаг	240
	гуауауауа саауауауау аууаугуауа уаа	273
	<210> 20	
	<211> 726	
20	<212> РНК	
	<213> Респираторно-синцитиальный вирус	
	<400> 20	
	ауггаааагу уугсуссуга аууссаууга гаагаугсаа асаасагггс уасуаауус	60
	суагааусаа уааагггсаа ауусасауа ссуааагауа ссаагаааа агуагуауау	120
25	ауаусугуа асусауага уауагаагуа ассааагаа гсссуауаа асусааууа	180
	ассаууууа ассаасааа угагасагау гуаааугсаг ггаааагс саууаусаа	240
	агаааассис уагуаагуу сааагаагс ссуауаааа гуауауауау сууууаааа	300
	суауаааааг ааассауага гасуууугау асаааугааг аагаууауау суаууауау	360
	гаагаауаа аугауаагс гаасгауауа ауаасугсаа гаууагуаг гауугауаа	420
30	ааууааааг ааууасуагг ааугсууас асаууагуаг уагсаагугс аггасуаа	480
	усугсуаггг ауггуауааг агаугссауа гууггуууаа гагаагаау гауагаааа	540
	аусагаасуг аагсаууауау гассааугас агууаагааг суауггсааг асусаггау	600
	гaggaaagug aaaagaugc aaaagacaca ucagaugaag ugucucuaa uccaacauca	660
	гaгaaauuga acaaccuguu ggaagggaau гауаугауаа аугаууауа асуугаагуа	720
35	уусуга	726
	<210> 21	
	<211> 420	
	<212> РНК	
	<213> Респираторно-синцитиальный вирус	
40	<400> 21	
	аугггсгаса ауусгууаг уаугауаааа гуагаууау аааууууууа угаааугау	60
	гаагуагсау угуааааау аааугсуау асугасааау уауааууу аасуааугсу	120
	ууггсуаагг сагугауааа уасааусааа уугаааггса уугугуууууа гсаугуауу	180
	асаагуагг ауаууууууу уауаауауау ауугуагуаа аауууууу саааааааг	240
45	ссаугсуаа ааааугггг ууауауауау ггаааугауаг ааууаааааа уугсусуаа	300
	ссуааааааг уауаааааа сааууугаа ауаааауууу ссаааааааа ааугаууаа	360
	асаааааааа ауауааааа усаууууууу гауууууууу гаууууаууу уаууууууаа	420
	<210> 22	

	<211>	375	
	<212>	РНК	
	<213>	Респираторно-синцитиальный вирус	
	<400>	22	
5		аuggасасаа сссасаауга иассасасса сааагасуга угауасасага саугагассг	60
		иугисасиуг агасиасааи аасаусасиа ассагагаса усаиаасаса сгаиуиуаиа	120
		иасиуааиаа аисаугаауг сауагугага ааасиугауг ааагасггс сасиуиуаса	180
		иуссгггуса асиаугаааи гааасиаиуг сасааагуаг гаагсасиаа аиаиаааааа	240
		иаиасугааи асаасасааа аиауггсаси иусссиаугс сгаиуиуаи сааусаугаи	300
10		гггуиусиуаг ааугсаиугг саиуаагсси асааагсаиа сисссаиааи аиасаагуаи	360
		гаусисааис саиаг	375
	<210>	23	
	<211>	42	
	<212>	ДНК	
15	<213>	Homo sapiens	
	<400>	23	
		ggcgctgcct acggagggtgg cagccatctc cttctcggca tc	42
	<210>	24	
	<211>	186	
20	<212>	ДНК	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	24	
		catcacattht aaaagcatct cagcctacca tgagaataag agaaagaaaa tgaagatcaa	60
		aagcttattc atctgttttt ctttttcggt ggtgtaaagc caacaccctg tctaaaaaac	120
25		ataaatthtct ttaatcattt tgcctctttt ctctgtgctt caattaataa aaaatggaaa	180
		gaatct	186
	<210>	25	
	<211>	186	
	<212>	ДНК	
30	<213>	Homo sapiens	
	<400>	25	
		catcacattht aaaagcatct cagcctacca tgagaataag agaaagaaaa tgaagatcaa	60
		tagcttattc atctcttttt ctttttcggt ggtgtaaagc caacaccctg tctaaaaaac	120
		ataaatthtct ttaatcattt tgcctctttt ctctgtgctt caattaataa aaaatggaaa	180
35		gaacct	186
	<210>	26	
	<211>	110	
	<212>	ДНК	
	<213>	Homo sapiens	
40	<400>	26	
		gctggagcct cggtagccat gcttcttgcc ccttgggcct cccccagcc cctcctcccc	60
		ttcctgcacc cgtacccccg tggctcttga ataaagtctg agtgggcggc	110
	<210>	27	
	<211>	108	
45	<212>	ДНК	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	27	
		gctggagcct cggtagccgt tctcctgcc cgtgggcct cccaacgggc cctcctcccc	60

	tccttgcacc ggccttcct ggtctttgaa taaagtctga gtgggcag	108
	<210> 28	
	<211> 132	
	<212> ДНК	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 28	
	gctcgctttc ttgctgtcca atttctatta aaggttcctt tgttccctaa gtccaactac	60
	taaactgggg gatattatga agggccttga gcatctggat tctgcctaataaaaaacatt	120
	tatttttcatt gc	132
10	<210> 29	
	<211> 44	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> центральная связывающая альфа-комплекс область 3' UTR гена альфа-глобина (муаг	
	<400> 29	
	gcccgatggg cctcccaacg ggcctcctc cctccttgc accg	44
	<210> 30	
	<211> 24	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> наиболее предпочтительная последовательность гистоновой структуры типа «стебе	
	<400> 30	
25	caaaggctct tttcagagcc асса	24
	<210> 31	
	<211> 1942	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> РСВ-Г «длинный» (GC) R1691	
	<400> 31	
	gggagaaaagc uиассаугга гсугсссауc сусааггсса асгссауас сассауцуг	60
	гсггссгуга сгуиусгсиу сгссагсусс сагаасауа ссгaggагуи суассагagc	120
35	ассугсуссг ссгусагсаа гggсуацсуг уссгссусс гgaccgggug гуаасгagc	180
	гугауcасса усгagсугуc саасаусааг гагаасаагу гсаасггсac сгacгсгааг	240
	гугаагсуга усаассагга гсусгасааг уасаагааг ссгусaccга гсугсagсуг	300
	сусаугсага гсacгaccгс сгссаасааc сгсгсгсггс гсгagсугcc гсггуисауг	360
	аасуаcaccс угаасааcас саагаагagс аасгугaccс учссаагаа гсгсаагсгг	420
40	сгсиуссугг ггуиуссугси сггсгугггг агсгссауcс ссуссггсау сгссгусagc	480
	ааггугсугс ассуггagгг сгagгугааc аагаусаагу ссгссуссу гagcaccааc	540
	ааггсггусг угусссугag саасггггуг уссгуссуса ссagсааггу гсуггaccсуг	600
	аагаасуаса усгасаагса гсуссугccc аусгугааа агсagуccсуг ссггауcagc	660
	ааcаусгaга сггусауcга гуиуссagсag аагаасаacc гссугсуга гауcaccсгг	720
45	гагуиcагсг угаасгссгг сгугaccacc сссгусуца сгуаcаугси гaccаacagc	780
	гagсугсусу сссугауcаа сгacаугccc аусaccаагс accагаагаа гсугаугagc	840
	ааcаасгугс агауcгугсг ссagсagуcc уacагсауа угуссауcау сааггagгag	900
	гуссусгссу асгуггугса гсугссгсуг уacггггуга учгacaccсс сугсуггааг	960

	cuccacacga	gccccucug	caccaccaac	accaaggagg	gcuccaacau	cugccugacg	1020
	cggaccgacc	gcggguggua	cugcgacaac	gccggcagcg	uguccuucuu	ccccaggcc	1080
	gagaccugca	agguccagag	caaccgggug	uucugcgaca	ccaugaacuc	ccucacgcug	1140
	ccgagcgagg	ugaaccugug	caacgucgac	aucuucaccc	ccaaguacga	cugcaagauc	1200
5	augaccucca	agaccgacgu	gagcuccagc	gugaucaccu	cccucggcgc	gaucgucagc	1260
	ugcuaccggga	agacgaagug	caccgccagc	aacaagaacc	gcggaucacu	caagaccuuc	1320
	uccaacgggu	gcgacuacgu	gagcaacaag	ggcguggaca	ccgucuccgu	gggcaacacc	1380
	ciguacuacg	ugaacaagca	ggagggggaag	agccugucg	ucaagggcga	gcccaucauc	1440
	aacuucucacg	acccccucgu	guccccgucc	gacgaguucg	acgccagcau	cucccaggug	1500
10	aacgagaaga	ucaaccagag	ccugggccuuc	auccggaagu	ccgacgagcu	gcugcaccac	1560
	gucaacgccg	ggaagagcac	gaccaacauc	augaucacca	ccaucacacu	cgugaucauc	1620
	gugauccucc	ugucccugau	cgcgugcggc	cuccugcugu	acugcaaggc	ccgacgacg	1680
	cccugagccc	ucuccaagga	ccagcugagc	gggaucacaa	acaucgccuu	cuccaacuga	1740
	ggacuaguuu	uaagacugac	uagcccgaug	ggccucccaa	cgggcccucc	uccccuccuu	1800
15	gcaccgagau	uaauaaaaaaaa	aaaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaaa	1860
	aaaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaug	cauccccccc	cccccccccc	cccccccccc	ccccaaaggc	1920
	ucuuuucaga	gccaccagaa	uu				1942
	<210>	32					
	<211>	2107					
20	<212>	PHK					
	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
	<223>	PCB-F «длинный» (GC) R2510					
	<400>	32					
25	ggggcgugc	cuaccgaggu	ggcagccauc	uccuucucgg	caucaagcuu	accauggagc	60
	ugcccauccu	caaggccaac	gccaucacca	ccauccuggc	ggccgugacg	uucugcuucg	120
	ccagcuccca	gaacaucacc	gaggaguuc	accagagcac	cugcuccgcc	gucagcaagg	180
	gcuaccuguc	cgccuccggg	accggguggu	acacgagcgu	gaucaccauc	gagcugucca	240
	acaucaaggga	gaacaagugc	aacggcaccg	acgcgaaggu	gaagcugauc	aaccaggagc	300
30	ucgacaagua	caagaaccgc	gucaccgagc	ugcagcugcu	caugcagagc	acgaccgccg	360
	ccaacaaccg	cgcgcgggcg	gagcugccgc	gguucaugaa	cuacaccucg	aacaacacca	420
	agaagacgaa	cgugaccucc	uccaagaagc	gcaagcgggc	cuuccugggg	uuccugcucg	480
	gcguggggag	cgccaucgcc	uccggcaucg	ccgucagcaa	ggugcugcac	cuggagggcg	540
	aggugaacaa	gaucaauguc	gccuccuga	gcaccaacaa	ggcgugcug	ucccugagca	600
35	acgggguguc	cguccucacc	agcaaggugc	uggaccugaa	gaacuacauc	gacaagcagc	660
	uccugccsau	cgugaacaag	caguccugcc	ggaucagcaa	caucgagacg	gucaucgagu	720
	uccagcagaa	gaacaaccgc	cugcucgaga	ucaccggga	guucagcug	aacgccggcg	780
	ugaccacccc	cgucuccacg	uacaugcuga	ccaacagcga	gcugcucucc	cugaucacg	840
	acaugcccau	caccaaccgac	cagaagaagc	ugaugagcaa	caacgugcag	aucgugcgcc	900
40	agcaguccua	cagcaucaug	uccaUCAUCA	aggaggaggu	ccucgccuac	guggugcagc	960
	ugcccgugua	cggggucauc	gacacccccu	gcuggaagcu	ccacacgagc	ccccugugca	1020
	ccaccaacac	caaggagggc	uccaacaucu	gccugacgcg	gaccgaccgc	gggugguacu	1080
	gcgacaaccg	cggcagcug	uccuucuucc	cccaggccga	gaccugcaag	guccagagca	1140
	accggguguu	cugcgacacc	augaacucucc	ucacgucgcc	gagcgaggug	aaccugugca	1200
45	acgucgacau	cuucaacccc	aaguacgacu	gcaagaucacu	gaccuccaag	accgacguga	1260
	gcuccagcgu	gaucaccucc	cucggcgcg	ucgucagcug	cuacgggaag	acgaagugca	1320
	ccgscagcaa	caagaaccgc	ggcaucauca	agaccuucuc	caacgggugc	gacuacguga	1380
	gcaacaaggg	cguggacacc	gucuccgugg	gcaacaccuu	guacuacgug	aacaagcagg	1440

	aggggaagag	ccuguaacguc	aagggcgagc	ccaucauca	cuucuaacgac	ccccucgugu	1500
	ucccguccga	cgaguucgac	gccagcaucu	cccaggugaa	cgagaagauc	aaccagagcc	1560
	uggccuucan	ccggaagucc	gacgagcugc	ugcaccacgu	caacgccggg	aagagcacga	1620
	ccaacaucan	gaucaccacc	aucaucaucg	ugaucaucgu	gauccuccug	ucccugaucg	1680
5	cgguccggccu	ccugcuguaac	ugcaaggccc	gcagcacgcc	cgugaccuc	uccaaggacc	1740
	agcugagcgg	gaucaacaac	aucgccuucu	ccaacugagg	acuagugcau	cacauuuaaa	1800
	agcaucucag	ccuaccauga	gaauaagaga	aagaaaauga	agaucuuag	cuuauucauc	1860
	ucuuuuucuu	uuucguuggu	guaaagccaa	caccucuguc	aaaaaacua	auuuucuuua	1920
	aucauuuugc	cucuuuuuc	ugugcuuca	uuuuuuuuuu	auggaaaga	ccuagaucua	1980
10	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	2040
	aaaugcaucc	cccccccccc	cccccccccc	ccccccccca	aaggcucuuu	ucagagccac	2100
	cagaauu						2107
	<210>	33					
	<211>	2044					
15	<212>	PHK					
	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
	<223>	PCB-Fdel1554-574 «длинный» (GC) R2821					
	<400>	33					
20	ggggcgucg	cuacggaggu	ggcagccauc	ucuuucucgg	caucaagcuu	accauggagc	60
	ugcccauccu	caaggccaac	gccaucacca	ccauccuggc	ggccgugacg	uucugcuucg	120
	ccagcuccca	gaacaucacc	gaggaguucu	accagagcac	cugcuccgcc	gucagcaagg	180
	gcuaccuguc	cgccucuccg	accggguggu	acacgagcgu	gaucaccauc	gagcugucca	240
	acaucaagga	gaacaagugc	aacggcaccg	acgcgaaggu	gaagcugauc	aaccaggagc	300
25	ucgacaagua	caagaaccgc	gucaccgagc	ugcagcugcu	caugcagagc	acgaccgccg	360
	ccaacaaccg	cgcgcgggcg	gagcugccgc	gguucaugaa	cuacaccucg	aacaacacca	420
	agaagacgaa	cgugaccuc	uccaagaagc	gcaagcggcg	cuuccugggg	uuccugcucg	480
	gcguggggag	cgccaucgcc	uccggcaucg	ccgucagcaa	ggugcugcac	cuggagggcg	540
	aggugaacaa	gaucaagucc	gccuuccuga	gcaccaacaa	ggcgugcug	ucccugagca	600
30	acgggguguc	cguccucacc	agcaaggugc	uggaccugaa	gaacuacauc	gacaagcagc	660
	uccugcccau	cgugaacaa	gaguccugcc	ggaucagcaa	caucgagacg	gucaucgagu	720
	uccagcagaa	gaacaaccgc	cugcucgaga	ucacccggga	guucagcug	aacgccggcg	780
	ugaccacccc	cgucuccacg	uacaugcuga	ccaacagcga	gcugcucucc	cugaucaacg	840
	acaugcccau	caccaaccgac	cagaagaagc	ugaugagcaa	caacgugcag	aucgugcgcc	900
35	agcaguccua	cagcaucaug	uccaucauca	aggaggaggu	ccucgccuac	guggugcagc	960
	ugccgcugua	cggggucauc	gacacccccc	gcuggaagcu	ccacacgagc	ccccugugca	1020
	ccaccaaac	caaggagggg	uccaacaucu	gccugacgcg	gaccgaccgc	gggugguacu	1080
	gcgacaaccg	cggcagcug	ucuuucuu	cccaggccga	gaccugcaag	guccagagca	1140
	accggguguu	cugcgacacc	augaaacucc	ucacgcugcc	gagcgaggug	aaccugugca	1200
40	acgucgacau	cuucaacccc	aaguacgacu	gcaagaucan	gaccuccaag	accgacguga	1260
	gcuccagcgu	gaucaccucc	cucggcgcg	ucgucagcug	cuacgggaag	acgaagugca	1320
	ccgccagcaa	caagaaccgc	ggcaucauca	agaccuucuc	caacgggugc	gacuacguga	1380
	gcaacaaggg	cguggacacc	gucuccgug	gcaaacaccu	guacuacgug	aacaagcagg	1440
	aggggaagag	ccuguaacguc	aagggcgagc	ccaucauca	cuucuaacgac	ccccucgugu	1500
45	ucccguccga	cgaguucgac	gccagcaucu	cccaggugaa	cgagaagauc	aaccagagcc	1560
	uggccuucan	ccggaagucc	gacgagcugc	ugcaccacgu	caacgccggg	aagagcacga	1620
	ccaacaucan	gaucaccacc	aucaucaucg	ugaucaucgu	gauccuccug	ucccugaucg	1680
	cgguccggccu	ccugcuguaac	ugcaaggccc	gcugaggacu	agugcaucac	auuuuuuagc	1740

	aucucagccu	accaugagaa	uaagagaaaag	aaaaugaaga	ucaauagcuu	auucaucucu	1800	
	uuuucuuuuu	cguuggugua	aagccaacac	ccugucuaaa	aaacauaaa	uucuuuaauc	1860	
	auuuugccuc	uuuucucugu	gcuucaauua	auaaaaaaug	gaaagaaccu	agaucuaaaa	1920	
	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	1980	
5	ugcaucccc	cccccccc	cccccccc	cccccaaaag	gcucuuiiica	gagccaccag	2040	
	aaui						2044	
	<210>	34						
	<211>	1558						
	<212>	PHK						
10	<213>	Искусственная последовательность						
	<220>							
	<223>	PCB-N (GC) R2831						
	<400>	34						
	ggggcgcugc	cuacggaggu	ggcagccauc	uucuucucgg	caucaagcuu	accauggccc	60	
15	ugagcaaggu	gaagcucaac	gacacccuga	acaaggacca	gcugcucucc	agcuccaagu	120	
	acassaucsa	gcgcagcagc	ggcgacucca	ucgacacccc	caacuacgac	guccagaagc	180	
	acaucaaaaa	gcugugcggg	augcugcuca	ucaccgagga	cgccaaccac	aaguucaccg	240	
	gcccgaucgg	gaugcuquac	gcaugagcc	ggcucggccg	cgaggacacg	aucaagauc	300	
	ugcgggacgc	cggguaccac	gugaaggcca	acggcgugga	gcucaccacc	caccgccagg	360	
20	acaucaacgg	caaggagaug	aaguucgagg	ugcugaccu	cgccucccug	acgaccgaga	420	
	uccagaucsa	caucgagauc	gagagccgga	aguccuacaa	gaagaugcug	aaggagaugg	480	
	gggagguugg	cccggaguac	cgccacgaca	gccccgacug	cggaugauc	auccucugca	540	
	ucgcggcccu	ggucaucacc	aagcugggccg	ccggggaccg	guccggccuc	accgcgguga	600	
	uccgcggggc	caacaacgug	cugaagaacg	agaugaagcg	cuacaagggg	cugcucccca	660	
25	aggacaucgc	caacagcuuc	uacgagguuc	ucgagaagca	ccccacuu	aucgacgugu	720	
	ucgugcacuu	cggcaucgcc	caguccagca	cgcgggcgcg	gucccgcguc	gagggcaucu	780	
	ucgccgggcu	guucaugaac	gcuacggcg	ccggccaggu	gaugcugcgg	uggggcgugc	840	
	ucgccaagag	cgucaagaac	aucaugcugg	ggcacgccuc	cgugcaggcc	gagauggagc	900	
	agguggucga	gguguacgag	uacgcgcaga	agcuggcgcg	cgaggccggg	uucuaccaca	960	
30	uccucaaaaa	cccgaaggcc	agccugcugu	cccucaccca	guccccgcac	uucagcagcg	1020	
	ugguuccugg	gaacgccgcc	ggccuuggga	ucaugggcga	guaccgcggg	acccgcggga	1080	
	accaggaccu	cuacgacgcg	gccaaggccu	acgccgagca	gcugaaggag	aacggcguga	1140	
	ucaacuacuc	cgugcuggac	cucaccgccg	aggagcugga	ggcgaucaag	caccagcuga	1200	
	acccaaggga	caacgacguc	gagcucugag	gacuagugca	ucacauuuua	aagcaucuca	1260	
35	gccuaccaug	agaauaagag	aaagaaaaug	aagaucuaau	gcuuauucau	cucuuiiucu	1320	
	uuuucguugg	uguaaagcca	acaccsuguc	uaaaaaacau	aauiiucuuu	aaucuuuuug	1380	
	ccucuuuuuc	cugugcuuca	auuaauaaaa	aauggaaaaga	accuagauc	aaaaaaaaaa	1440	
	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaugcauc	1500	
	cccccccc	cccccccc	cccccccc	aaaggcucuu	uucagagcca	ccagaauu	1558	
40	<210>	35						
	<211>	967						
	<212>	PHK						
	<213>	Искусственная последовательность						
	<220>							
45	<223>	PCB-M2-1 (GC) R2833						
	<400>	35						
	ggggcgcugc	cuacggaggu	ggcagccauc	uucuucucgg	caucaagcuu	accaugagcc	60	
	gcccgaaccc	cugcaaguuc	gagaucggcg	gccacugccu	gaacgggaag	cggugccacu	120	

	ucuccsaca cuacuucgag uggccgcccc acgcccuccu ggugcgccag aacuucaugc	180
	ugaaccggau ccucaagagc auggacaagu ccaucgacac ccugagcgag aucuccggcg	240
	ccgcgagacu ggaccgcacc gaggaguacg cccucggggu cgugggcgug cuggagagcu	300
	acaucggguc caucaacaac aucacgaagc agagcgccug cgucgccaug uccaagcugc	360
5	усассгггсц гаасггсггс гасаусаага агсцгсггга саасгггггс цусаасцсс	420
	ссаагауцсг сгугуасаас асггугауса гсуаауауауа гуссаааааа аагааааа	480
	агсагаассау ссаааааааа аааааааааа ссгсгггггг ссугаааааа асгауаааа	540
	асаааааааа сааааааааа агсааааааа асаааааааа гааааааааа асггугуааа	600
	асаааааааа сааааааааа асаааааааа сааааааааа асаааааааа сааааааааа	660
10	агсауаааааа сааааааааа гааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа	720
	уаааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа	780
	аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа	840
	аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа	900
	аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа	960
15	сагааааа	967
	<210> 36	
	<211> 75	
	<212> ДНК	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 36	
	gcggctcggc cattttgtcc cagtcagtcc ggaggtctgc gctgcagaag taccgctgc	60
	ggagtaactg caaag	75
	<210> 37	
	<211> 24	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> последовательность гистоновой структуры типа «стебель-петля»	
	<400> 37	
30	сааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа аааааааааа	24

(57) Формула изобретения

1. мРНК для лечения или профилактики инфекций, вызываемых респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ), содержащая кодирующую область, структуру 5'-кэпа, 5'-нетранслируемую область и/или 3'-нетранслируемую область, поли(А)-последовательность, где кодирующая область кодирует мутант слитого белка (F)РСВ, аминокислотная последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 1, и в которой аминокислотные остатки 554-574 последовательности слитого белка F удалены из мутанта слитого белка F;
- в которой содержание G/C в кодирующей области повышено при замещении по меньшей мере на 70% замещаемых кодонов в кодирующей области по сравнению с содержанием G/C в кодирующей области мРНК дикого типа.
2. мРНК по п. 1, в которой мутант слитого белка F происходит из штамма РСВ ATCC VR-26.
3. мРНК по п. 1 или 2, дополнительно содержащая поли(С)-последовательность.
4. мРНК по п. 1, в которой поли(А)-последовательность содержит последовательность из 25-400 аденозиновых нуклеотидов.
5. мРНК по любому из пп. 1-4, дополнительно содержащая по меньшей мере одну

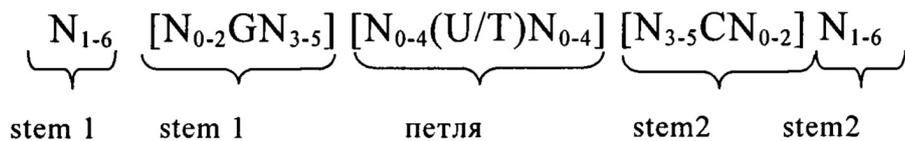
гистоновую структуру типа «стебель-петля».

6. мРНК по п. 5, в которой по меньшей мере одну гистоновую структуру типа «стебель-петля» выбирают из формулы (I) или (II):

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



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



пограничный элемент

пограничный элемент

в которых:

пограничные элементы stem1 или stem2 N_{1-6} обозначают непрерывную

последовательность, состоящую из 1-6 N, где N
каждый независимо друг от друга выбран из
нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C или
их нуклеотидного аналога;

stem1 $[N_{0-2}GN_{3-5}]$

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

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

в которой N_{3-5} обозначает непрерывную
последовательность, состоящую из 3-5, где N
каждый независимо друг от друга выбран из
нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C
или его нуклеотидного аналога, и

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

последовательность петли $[N_{0-4}(U/T)N_{0-4}]$ локализована между элементами stem1 и
 stem2 и обозначает непрерывную
 последовательность, состоящую из 3-5
 нуклеотидов;
 в которой N_{0-4} каждый независимо друг от
 друга обозначает непрерывную
 последовательность, состоящую из 0-4 N, где
 N каждый независимо друг от друга выбран
 из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C
 или его нуклеотидного аналога; и
 в которой U/T обозначает уридин или
 необязательно тимидин;
 stem2 $[N_{3-5}CN_{0-2}]$ обозначает последовательность, обратно
 комплементарную или частично обратно
 комплементарную элементу stem1, и
 представляет собой непрерывную
 последовательность, состоящую из 5-7
 нуклеотидов;
 в которой N_{3-5} обозначает непрерывную
 последовательность, состоящую из 3-5 N, где
 N каждый независимо друг от друга выбран
 из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G и C
 или его нуклеотидного аналога;
 в которой N_{0-2} обозначает непрерывную
 последовательность, состоящую из 0-2 N, где
 N каждый независимо друг от друга выбран
 из нуклеотида, выбранного из A, U, T, G или
 C или его нуклеотидного аналога; и
 в которой C обозначает цитидин или его
 аналог и необязательно может быть заменен
 на гуанозин или его аналог при условии, что
 комплементарный ему нуклеотид гуанозин в
 stem1 заменен на цитидин;

где у элементов stem1 и stem2 может происходить спаривание оснований друг с другом
 с образованием обратно комплементарной последовательности, при этом между stem1
 и stem2 может иметь место спаривание оснований, или с образованием частично обратно

предпочтительно из соответствующей последовательности РНК, предпочтительно лишенной 5' TOP-мотива.

13. мРНК по п. 12, в которой 5' UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая происходит из 5' UTR TOP-гена, кодирующего
5 рибосомальный белок, предпочтительно из соответствующей последовательности РНК, предпочтительно лишенной 5' TOP-мотива.

14. мРНК по п. 13, в которой 5' UTR-элемент содержит или состоит из нуклеотидной последовательности, которая происходит из 5' UTR TOP-гена, кодирующего белок
10 большой рибосомной субъединицы (RPL), предпочтительно лишенного 5' TOP-мотива, и более предпочтительно содержит или состоит из последовательности РНК, соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 23.

15. мРНК по п. 14, содержащая предпочтительно в 5' → 3'-направлении:

а) структуру 5'-кэпа, предпочтительно m7GpppN;

б) 5' UTR-элемент, который содержит или состоит из нуклеотидной
15 последовательности, которая происходит из 5' UTR TOP-гена, предпочтительно содержит или состоит из последовательности РНК, соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 23;

в) кодирующую область, которая кодирует мутант слитого белка F PCB;

г) 3' UTR-элемент, содержащий или состоящий из нуклеотидной последовательности,
20 которая происходит из гена, образующего стабильную мРНК, предпочтительно содержит или состоит из последовательности РНК, соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 18;

д) поли(А)-последовательность, предпочтительно содержащую 64 аденозина;

е) поли(С)-последовательность, предпочтительно содержащую 30 цитозинов; и

ж) гистоновую структуру типа «стебель-петля», предпочтительно содержащую
25 последовательность РНК, соответствующую нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30.

16. мРНК по п. 15, содержащая последовательность SEQ ID NO: 33.

17. Комплекс для лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекций, содержащий
30 мРНК по любому из пп. 1-16 и катионное или поликатионное соединение или полимерный носитель в массовом соотношении, выбранном из диапазона от 6:1 до 0,25:1 между мРНК и катионным или поликатионным соединением или полимерным носителем; или в соотношении между азотом/фосфатом мРНК и катионным или поликатионным соединением или полимерным носителем в диапазоне 0,1-10.

18. Комплекс по п. 17, где в котором катионным соединением является катионный
35 белок или пептид, предпочтительно протамин, или катионный липид.

19. Композиция для получения лекарственного средства для лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекций, содержащая эффективное количество по
40 меньшей мере двух мРНК по любому из пп. 1-16 и вспомогательные вещества.

20. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики вызываемых РСВ
инфекций, содержащая эффективное количество мРНК по любому из пп. 1-16 или композицию по п. 19 и фармацевтически приемлемый носитель.

21. Фармацевтическая композиция по п. 20 в виде комплекса по любому из пп. 17,
18.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 20, 21, которая используется в
45 качестве вакцины.

23. Набор для лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекций, содержащий мРНК по любому из пп. 1-16, композицию по п. 19, фармацевтическую композицию по

любому из пп. 20-22 и необязательно технические инструкции с информацией о введении и дозировке компонентов.

24. Применение мРНК по любому из пп. 1-16, композиции по п. 19, фармацевтической композиции по одному из пп. 20-22 и набора по п. 23 для получения лекарственного средства для лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекций.

25. Применение мРНК по любому из пп. 1-16, композиции по п. 19, фармацевтической композиции по любому из пп. 20-22 и набора по п. 23 для лечения или профилактики вызываемых РСВ инфекций.

26. Применение по п. 25, в котором лечение предполагает дополнительное введение иммуноглобулина против РСВ, прежде всего паливизумаба.

15

20

25

30

35

40

45

1/23

RSV-F «длинный» (GC) R1691

GGGAGAAAGCUUACCAUGGAGCUGCCCAUCCUCAAGGCCAACGCCAUCACCACCAUCCUG
 GCGGCCGUGACGUUCUGCUUCGCCAGCUCGCCAGAACAUCACCGAGGAGUUCUACCAGAGC
 ACCUGCUCGCCCGUCAGCAAGGGCUACCUGUCCGCCUCCGGACCGGGUGGUACACGAGC
 GUGAUCACCAUCGAGCUGUCCAACAUCAAGGAGAACAAGUGCAACGGCACCGACGCGAAG
 GUGAAGCUGAUSAACCAGGAGCUCGACAAGUACAAGAACGCCGUCACCGAGCUGCAGCUG
 CUCAUGCAGAGCACGACCGCCGCCAACCAACCGCGCGCGGCGGAGCUGCCGCGGUUCAUG
 AACUACACCCUGAACAAACACCAAGAAGACGAACGUGACCCUCUCAAGAAGCGCAAGCGG
 CGCUUCCUGGGGUUCCUGCUCGGCGUGGGGAGCGCCAUCGCCUCCGGCAUCGCCGUCAGC
 AAGGUGCUGCACCUUGGAGGGCGAGGUGAACAAGAUCAAGUCCGCCUCCUGAGCACCAAC
 AAGGGGUGCUGUCCUGAGCAACGGGGUGUCCGUCCUACCAGCAAGGUGCUGGACCUG
 AAGAACUACAUCGACAAGCAGCUCUGCCCAUCGUGAACAAAGCAGUCCUGCCGGAUCAGC
 AACAU CGAGACGGUCAUCGAGUUCAGCAGAAGAACAACCGCCUUCGUCGAGAUCACCCGG
 GAGUUCAGCGUGAACGCCGGCGUGACCACCCCGUCUCCACGUACAUGCUGACCAACAGC
 GAGCUGCUCUCCUGAUAACGACAUGCCCAUCACCAACGACCAGAAGAAGCUGAUGAGC
 AACACGUGCAGAUCGUGCGCCAGCAGUCCUACAGCAUCAUGUCCAUCAUCAAGGAGGAG
 GUCCUCGCCUACGUGGUGCAGCUGCCGUGUACGGGGUCAUCGACACCCCGUGUGGAAG
 CUCCACACGAGCCCCUGUGCACCACCAACACCAAGGAGGGCUCCAACAUCUGCCUGACG
 CGGACCGACCGGGGUGGUACUGCGACAACGCCGGCAGCGUGUCCUUCUCCCCAGGCC
 GAGACCGCAAGGUCCAGAGCAACCGGGUGUUCUGCGACACCAUGAACUCCUCACGCUG
 CCGAGCGAGGUGAACCUUGUGCAACGUCGACAUCUUAACCCCAAGUACGACUGCAAGAUC
 AUGACCUCCAAGACCGACGUGAGCUCAGCGUGAUCACCUCCUCCUGGGCGGAUCGUCAGC
 UGCUACGGGAAGACGAAGUGCACCGCCAGCAACAAGAACCGCGGCAUCAUCAAGACCUUC
 UCCAACGGGUGCGACUACGUGAGCAACAAGGGCGUGGACACCGUCUCCGUGGGCAACACC
 CUGUACUACGUGAACAAAGCAGGAGGGGAAGAGCCUGUACGUAAGGGCGAGCCAUCAUC
 AACUUCUACGACCCCCUCGUGUCCCGUCCGACGAGUUCGACGCCAGCAUCUCCAGGUG
 AACGAGAAGAUCAACCAGAGCCUGGCCUUAUCCGGAAGUCCGACGAGCUGCUGCACCAC
 GUCAACGCCGGGAAGAGCACGACCAACAUCAUGAUCACCACCAUCAUCAUCGUGAUAUC
 GUGAUCUCCUGUCCUGAUCGCGGUCGGCCUCCUGCUGUACUGCAAGGCCCGCAGCACG
 CCCGUGACCCUCUCCAAGGACCAGCUGAGCGGGAUCAACAACAUCGCCUUCUCCAACUGA
 GGACUAGUUAUAAGACUGACUAGCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUCCU
 GCACCGAGAUUAAUAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGC
 UCUUUUCAGAGCCACCAGAAU

Фиг. 1

2/23

RSV-F «длинный» (GC) R2510

GGGGCGCUGCCUACGGAGGUGGCAGCCAUCUCCUUCUCGGCAUCAAGCUUACCAUGGAGC
 UGCCAUCCUCAAGGCCAACGCCAUCACCACCAUCCUGGCGGCCGUGACGUUCUGCUUCG
 CCAGCUCCCAGAACAUCACCGAGGAGUUCUACCAGAGCACCUGCUCGCGCCGUCAGCAAGG
 GCUACCUGUCCGCCUCCGGACCGGGUGGUACACGAGCGUGAUCACCAUCGAGCUGUCCA
 ACAUCAAGGAGAACAAGUGCAACGGCACCAGCGAAGGUGAAGCUGAUCAACCAGGAGC
 UCGACAAGUACAAGAACGCCGUCACCGAGCUGCAGCUGCUAUGCAGAGCACGACCGCCG
 CCAACAACCGCGCGCGGGCGGAGCUGCCGCGGUUCAUGAACUACACCUGAACAACACCA
 AGAAGACGAACGUGACCCUCUCCAAGAAGCGCAAGCGGCGCUUCCUGGGGUUCCUGCUCG
 GCGUGGGGAGCGCCAUCGCCUCCGGCAUCGCCGUCAGCAAGGUGCUGCACCUUGGAGGGCG
 AGGUGAACAAGAUCAAGUCCGCCUCCUGAGCACCAACAAGGCGGUCGUGUCCUGAGCA
 ACGGGGUGUCCGUCCUACCCAGCAAGGUGCUGGACCUGAAGAACUACAUCGACAAGCAGC
 UCCUGCCCAUCGUGAACAAGCAGUCCUGCCGGAUCAGCAACAUCGAGACGGUCAUCGAGU
 UCCAGCAGAAGAACAACCGCCUGCUCGAGAUCACCCGGGAGUUCAGCGUGAACGCCGGCG
 UGACCACCCCGCUCUCCACGUACAUGCUGACCAACAGCGAGCUGCUCUCCUGAUAACG
 ACAUGCCCAUCACCAACGACCAGAAGAAGCUGAUGAGCAACAACGUGCAGAUCGUGCGCC
 AGCAGUCCUACAGCAUCAUGUCCAUCAUCAAGGAGGAGGUCCUGCCUACGUGGUGCAGC
 UGCCGUGUACGGGGUCAUCGACACCCCGCUGGAAGCUCCACACGAGCCCCUGUGCA
 CCACCAACACCAAGGAGGGCUCCAACAUCUGCCUGACGCGGACCGACCGCGGGUGGUACU
 GCGACAACGCCGGCAGCGUGUCCUUCUCCCGAGCCGAGACCUGCAAGGUCCAGAGCA
 ACCGGGUGUUCUGCGACACCAUGAACUCCUCACGCUGCCGAGCGAGGUGAACCUGUGCA
 ACGUCGACAUCUUAACCCCAAGUACGACUGCAAGAUAUGACCUCCAAGACCGACGUGA
 GCUCCAGCGUGAUCACCUCCUCGCGCGGAUCGUCAGCUGCUACGGGAAGACGAAGUGCA
 CCGCCAGCAACAAGAACCAGCGCAUCAUCAAGACCUUCUCCAACGGGUGCGACUACGUGA
 GCAACAAGGGCGUGGACACCGUCUCCGUGGGCAACACCCUGUACUACGUGAACAAGCAGG
 AGGGGAAGAGCCUGUACGUAAGGGCGAGCCCAUCAUCAACUUCUACGACCCCCUCGUGU
 UCCCGUCCGACGAGUUCGACGCCAGCAUCUCCAGGUGAACGAGAAGAUCAACCAGAGCC
 UGGCCUUAUCCGGAAGUCCGACGAGCUGCUGCACCACGUAACGCCGGGAAGAGCACGA
 CCAACAUCAUGAUCACCACCAUCAUCAUCGUGAUAUCGUGAUCUCCUGUCCUGAUCG
 CGGUCGGCCUCCUGCUGUACUGCAAGGCCCGCAGCACGCCGUGACCCUCCUCCAAGGACC
 AGCUGAGCGGGAUCAACAACAUCGCCUUCUCCAACUGAGGACUAGUGCAUCACAUUUAAA
 AGCAUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAAGAGAAAAGAAAUGAAGAUCAAUAGCUUAUUCUUC
 UCUUUUUCUUUCGUGGUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAACAUAUUUUUUUA
 AUCAUUUGCCUUCUUUCUCUGUGCUUCAUUUAUAAAAAUGGAAAGAACCUAGAUCUA
 AA
 AAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAGAGCCAC
 CAGAAUU

Фиг. 2

3/23

RSV-Fdel554-574 «длинный» (GC) R2821

GGGGCGCUGCCUACGGAGGUGGCAGCCAUCCUUCUCGGCAUCAAGCUUACCAUGGAGC
UGCCCAUCCUCAAGGCCAACGCCAUACCACCAUCCUGGCGGCCGUGACGUUCUGCUUCG
CCAGCUCCCAGAACAUACCGAGGAGUUCUACCAGAGCACCUGCUCCGCCGUCAGCAAGG
GCUACCUGUCCGCCUCCGGACCGGGUGGUACACGAGCGUGAUCACCAUCGAGCUGUCCA
ACAUCAAGGAGAACAAAGUGCAACGGCACCGCGAAGGUGAAGCUGAUAACCAGGAGC
UCGACAAGUACAAGAACGCCGUCACCGAGCUGCAGCUGCUAUGCAGAGCACGACCGCCG
CCAACAACCGCGCGCGGGCGGAGCUGCCGCGGUUCAUGAACUACACCUGAACAAACCA
AGAAGACGAACGUGACCCUCUCCAAGAAGCGCAAGCGGCGCUUCCUGGGGUUCCUGCUCG
GCGUGGGGAGCGCCAUCGCCUCCGGCAUCGCCGUCAGCAAGGUGCUGCACCUUGGAGGGCG
AGGUGAACAAAGAUCAAGUCCGCCUCCUGAGCACCAACAAGGCGGUCGUGUCCUGAGCA
ACGGGGUGUCCGUCUACCAGCAAGGUGCUGGACCUGAAGAACUACAUCGACAAGCAGC
UCCUGCCCAUCGUGAACAAAGCAGUCCUGCCGGAUCAGCAACAUCGAGACGGUCAUCGAGU
UCCAGCAGAAGAACAAACCGCCUGCUCGAGAUCACCCGGGAGUUCAGCGUGAACCGCCGGCG
UGACCACCCCGCUCUCCAGUACAUGCUGACCAACAGCGAGCUGCUCUCCUGAUAACG
ACAUGCCCAUCACCAACGACCAGAAGAAGCUGAUGAGCAACAACGUGCAGAUCGUGCGCC
AGCAGUCCUACAGCAUCAUGUCCAUCAUAAGGAGGAGGUCCUGCCUACGUGGUGCAGC
UGCCGUGUACGGGGUCAUCGACACCCCGCUGGGAAGCUCCACACGAGCCCCUGUGCA
CCACCAACACCAAGGAGGGCUCCAACAUCUGCCUGACGCGGACCGACCGCGGGUGGUACU
GCGACAACCGCGGAGCGUGUCCUUCUUCUCCCGAGCCGAGACCUGCAAGGUCCAGAGCA
ACCGGGUGUUCUGCGACACCAUGAACUCCUACGCUGCCGAGCGAGGUGAACCUUGUGCA
ACGUCGACAUCUUAACCCCAAGUACGACUGCAAGAUAUGACCUCAAGACCGACGUGA
GCUCCAGCGUGAUCACCUCCUCGGCGCGAUCGUCAGCUGCUACGGGAAGACGAAGUGCA
CCGCCAGCAACAAGAACCGCGGCAUCAUAAGACCUUCCUACGGGUGCGACUACGUGA
GCAACAAGGGCGUGGACACCGUCUCCGUGGGCAACACCCUGUACUACGUGAACAAAGCAGG
AGGGGAAGAGCCUGUACGUCAAGGGCGAGCCCAUCAUAACUUCUACGACCCCGCUGUGU
UCCCGUCCGACGAGUUCGACGCCAGCAUCUCCAGGUGAACGAGAAGAUCAACCAGAGCC
UGCCUUAUCCGGAAGUCCGACGAGCUGCUGCACCCAGUCAACCGCGGAAGAGCACGA
CCAACAUAUGAUCACCACCAUCAUCAUCGUGAUAUCGUGAUCCUCCUGUCCUGAUCG
CGGUCGGCCUCCUGCUGUACUGCAAGGCCCGCUGAGGACUAGUGCAUCACAUUUAAGC
AUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAAGAGAAAGAAAUGAAGAUCAAUAGCUUAUUAUCUCU
UUUUUUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAACAUAUUUUUUUAUC
AUUUUGCCUUCUUCUCUGUCUCAAUUAUAAAAAUGGAAAGAACCUAGAUCAAAA
AA
UGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAGAGCCACCAG
AAUU

Фиг. 3

4/23

RSV-N (GC) R2831

GGGGGCUGCCUACGGAGGUGGCAGCCAUUCUCCUUCUCGGCAUCAAGCUUACCAUGGCC
UGAGCAAGGUGAAGCUAACGACACCCUGAACAAAGGACCAGCUGCUCUCCAGCUCCAAGU
ACACCAUCCAGCGCAGCACGGGCGACUCCAUCGACACCCCAACUACGACGUCCAGAAGC
ACAUCAACAAGCUGUGCGGGGAUGCUGCUCAUCACCGAGGACGCCAACCAAGUUCACCG
GCCUGAUCGGGAUGCUGUACCGGAUGAGCCGGCUCGGCCGCGAGGACACGAUCAAGAUCC
UGCGGGACGCCGGUACCACGUGAAGGCCAACGGCGUGGACGUCACCACCCACCGCCAGG
ACAUCAACGGCAAGGAGAUGAAGUUCGAGGUGCUGACCUCGCCUCCUGACGACCAGAGA
UCCAGAUAACAUCGAGAU CGAGAGCCGGAAGUCCUACAAGAAGAUGCUGAAGGAGAUGG
GGGAGGUGGCCCGGAGUACCGCCACGACAGCCCGACUGCGGCAUGAUCAUCCUCUGCA
UCGCGGCCUGGUCAUACCAAGCUGGCCCGGGGACCGGUCCGGCCUACCGCGGUGA
UCCGCCGGCCAAACAACGUGCUAAGAACGAGAUGAAGCGCUACAAGGGGCUGUCCCA
AGGACAUCGCCAACAGCUUCUACGAGGUCUUCGAGAAGCACCCACUUCAUCGACGUGU
UCGUGCACUUCGGCAUCGCCAGUCCAGCACGCGGGGCGGGUCCCGGUCGAGGGCAUCU
UCGCGGGCUGUUCAUGAACCGUACGGCGCCGGCCAGGUGAUGCUGCGGUGGGGCGUC
UCGCCAAGAGCGUCAAGAACAUCAUUGCGGGCACGCCUCCGUGCAGGCCGAGAUGGAGC
AGGUGGUCGAGGUGUACGAGUACGCGCAGAAGCUGGGCGCGAGGCCGGUUCUACCACA
UCCUCAACAACCCGAAGGCCAGCCUGCUGUCCUCACCCAGUCCCGCACUUCAGCAGCG
UGGUCCUGGGGAACGCCCGCCGGCCUGGGGAUCAUGGGCGAGUACCGCGGGACCCCGCGGA
ACCAGGACCUCUACGACGCGGCCAAGGCCUACGCCGAGCAGCUGAAGGAGAACGGCGUGA
UCAACUACUCCGUGCUGGACCUCACCGCCGAGGAGCUGGAGGCGAUC AAGCACCAGCUGA
ACCCAAGGACAACGACGUCGAGCUCUGAGGACUAGUGCAUCACAUUAAAAGCAUCUCA
GCCUACCAUGAGAAUAGAGAAAAGAAAUGAAGAUCAAUAGCUUAUUCAUUCUUUUUCU
UUUUCGUUGGUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAACAUAUUUUUCUUUAUCAUUUUG
CCUCUUUCUCUGUCUCAAUUAUAAAAAUGGAAAGAACCUAGAUCUAAAAA
AAAUGCAUC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAGAGCCACCAGAAU

Фиг. 4

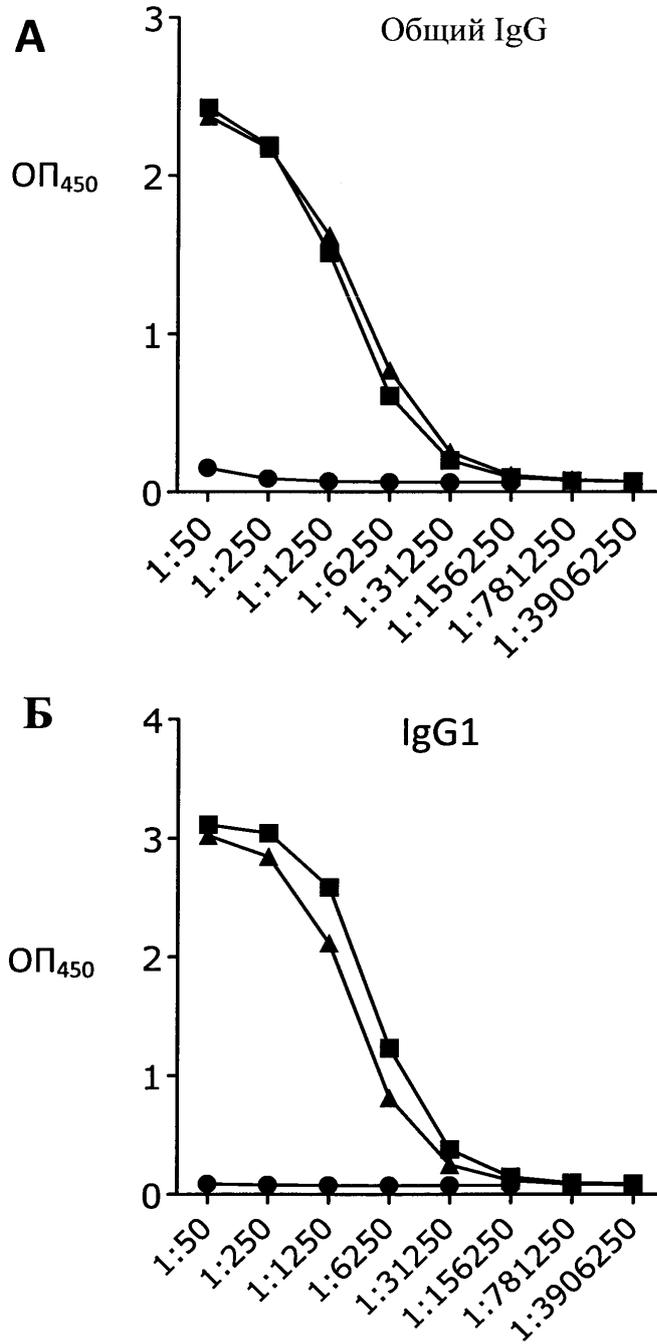
5/23

RSV-M₂₋₁ (GC) R2833

GGGGCGCUGCCUACGGAGGUGGCAGCCAUCUCCUUCUCGGCAUCAAGCUUACCAUGAGCC
GCCGGAACCCUGCAAGUUCGAGAUCCGCGGCCACUGCCUGAACGGGAAGCGGUGCCACU
UCUCCACAACUACUUCGAGUGGCCGCCACGCCUCCUGGUGCGCCAGAACUUCAUGC
UGAACCGGAUCCUCAAGAGCAUGGACAAGUCCAUCGACACCCUGAGCGAGAUCUCCGGCG
CCGCGGAGCUGGACCGCACCGAGGAGUACGCCUUCGGGUGCGUGGGCGUGCUGGAGAGCU
ACAUCGGGUCCAUCAACAACAUCACGAAGCAGAGCGCCUGCGUCGCCAUGUCCAAGCUGC
UCACCGAGCUGAACAGCGACGACAUCAAGAAGCUGCGGGACAACGAGGAGCUAACUCCC
CCAAGAUCGCGUGUACAACACCGUGAUCAGCUACAUCGAGUCCAACCGGAAGAACAACA
AGCAGACCAUCCACCGUGGAAAGCGCCUCCCCGCCGACGUCCUGAAGAAGACGAUCAAGA
ACACCCUGGACAUCCACAAGAGCAUCACCAUCAACAACCCGAAGGAGCUCACCGUGUCCG
ACACGAACGACCACGCGAAGAACAACGACACCACCGAGGACUAGUGCAUCACAUUUAAA
AGCAUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAAGAGAAAGAAAUGAAGAUCAAUAGCUUAUUAUC
UCUUUUUCUUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAACAUAUUUUUUUA
AUCAUUUUGCCUCUUUCUCUGUGCUUCAUUAAUAAAAAUGGAAAGAACCUAGAUCUA
AAA
AAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAGAGCCAC
CAGAAUU

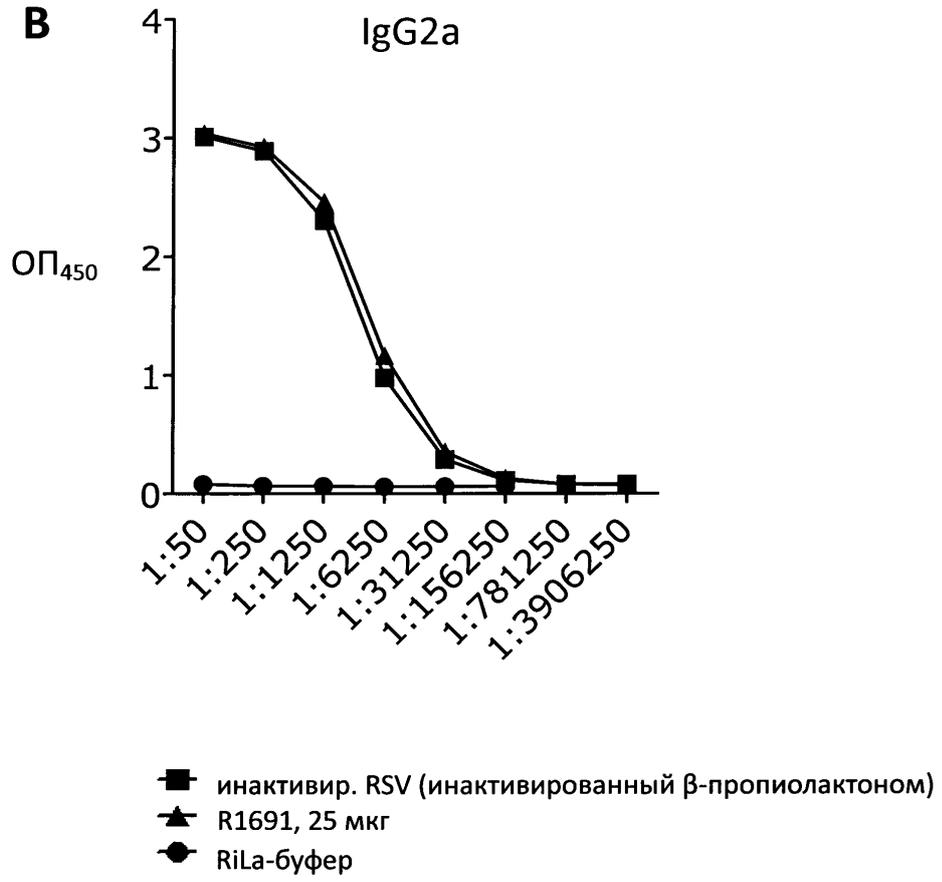
Фиг. 5

6/23



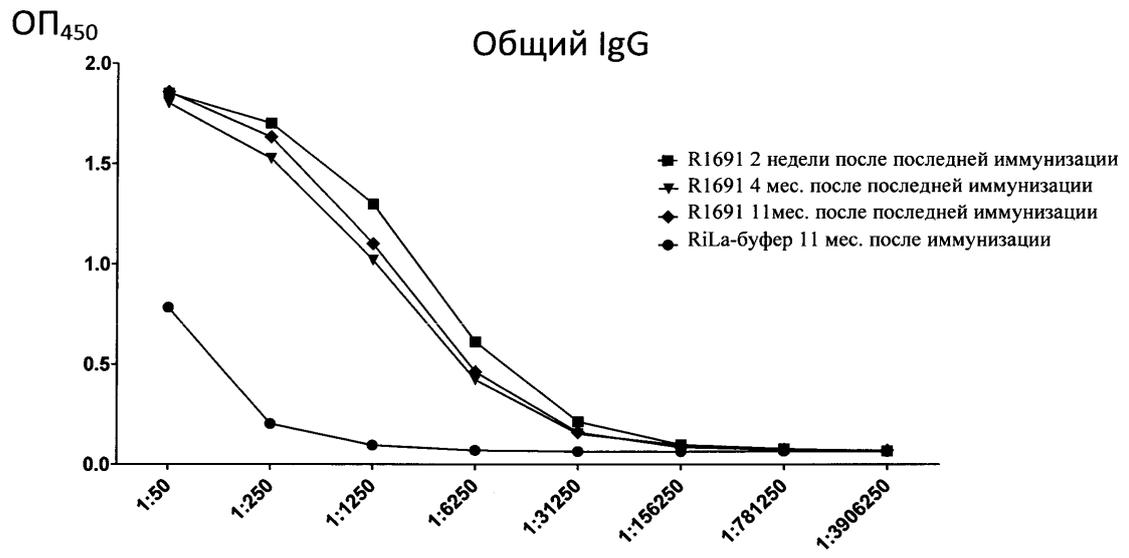
Фиг. 6

7/23



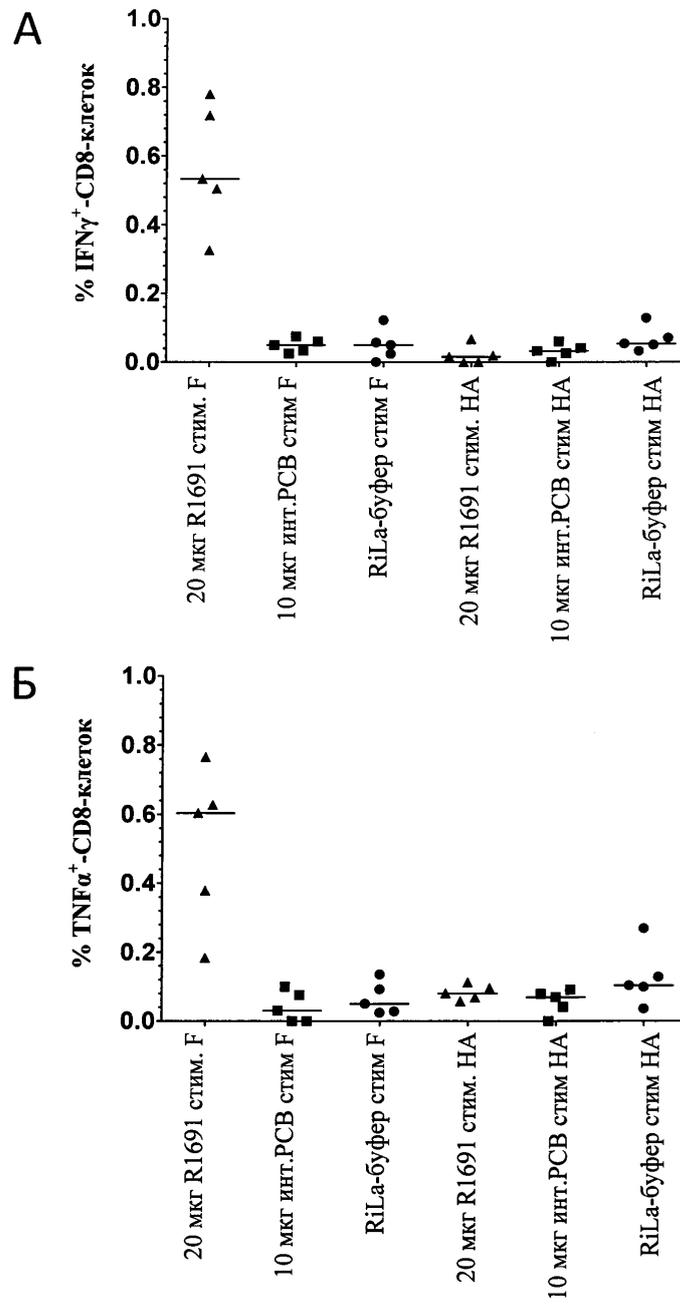
Фиг. 6 - продолжение

8/23



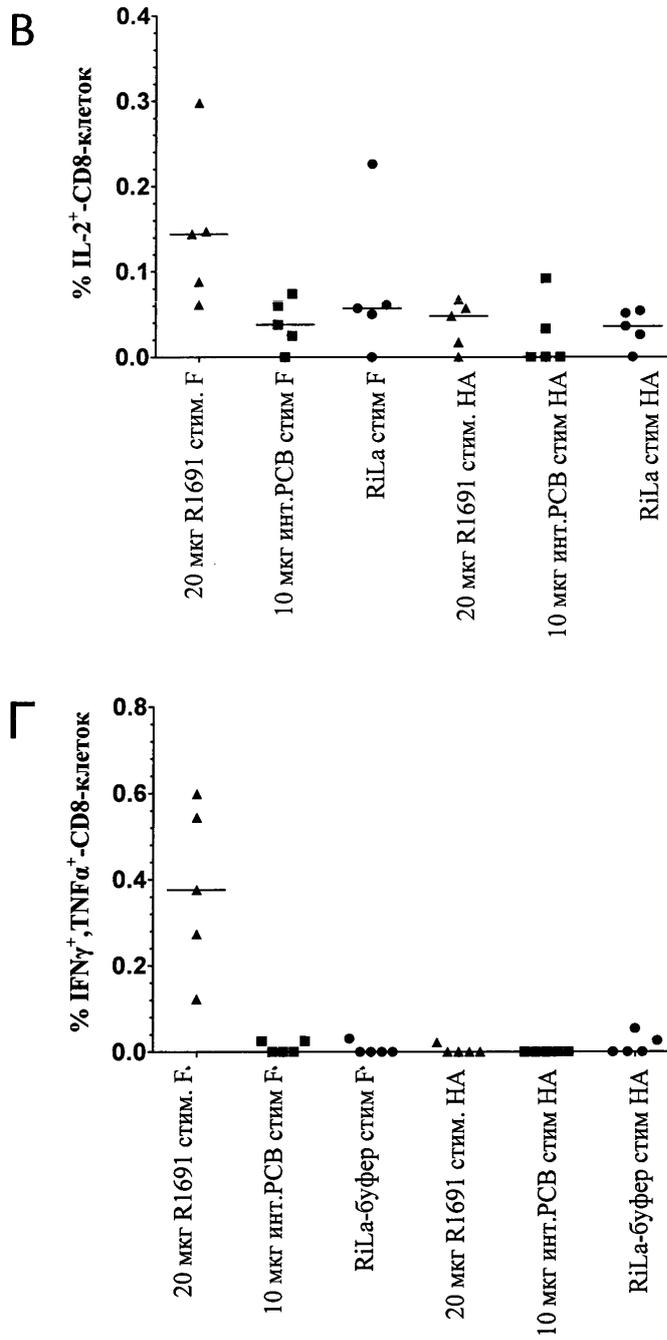
Фиг. 7

9/23



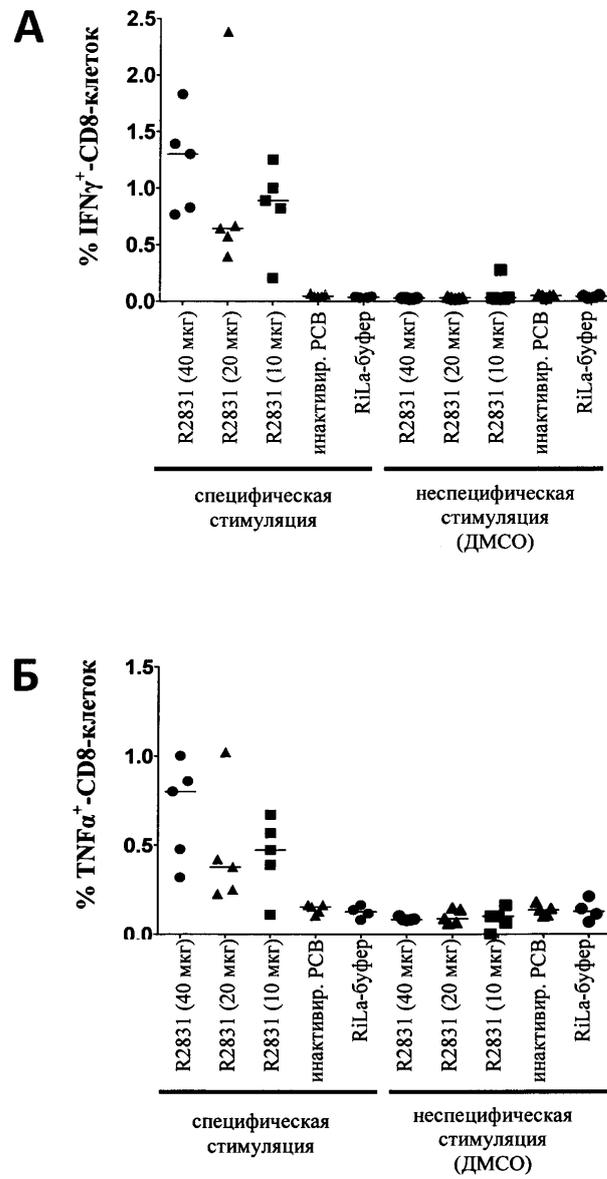
Фиг. 8

10/23



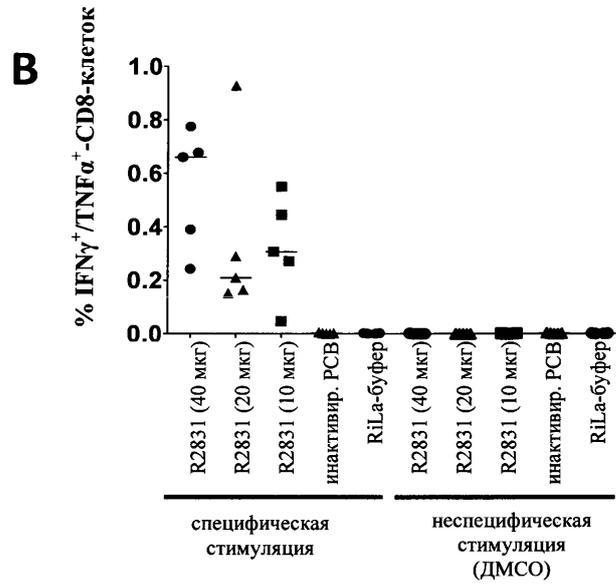
Фиг. 8 – продолжение

11/23



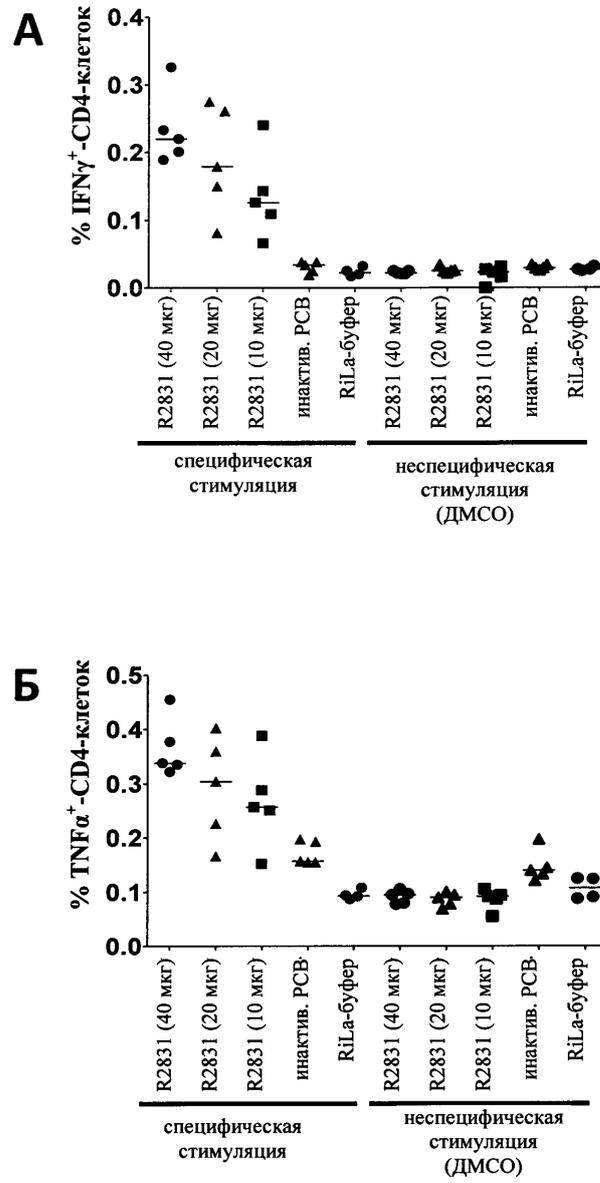
Фиг. 9

12/23



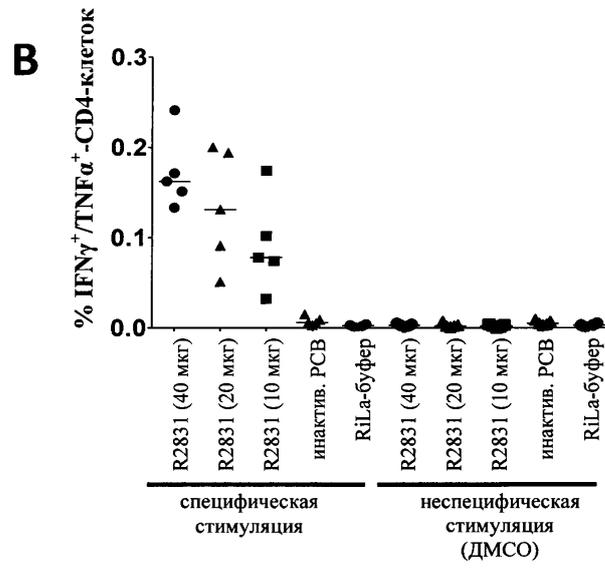
Фиг. 9 – продолжение

13/23



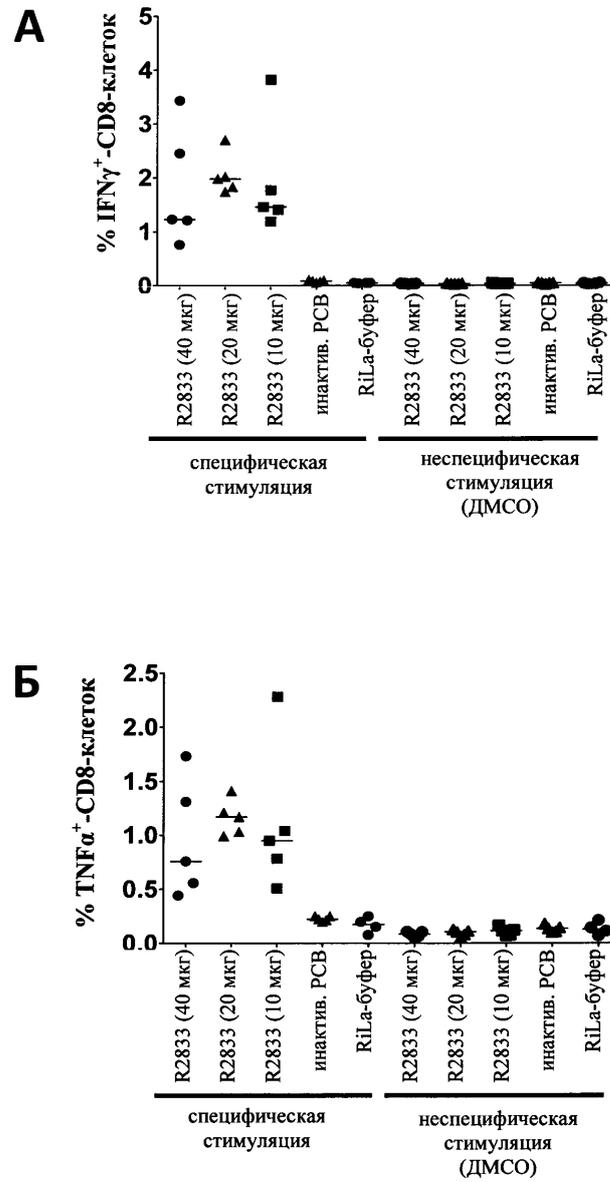
Фиг. 10

14/23



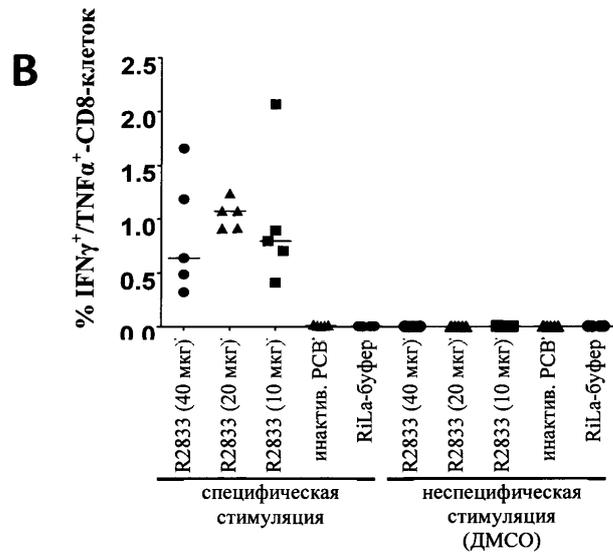
Фиг. 10 – продолжение

15/23



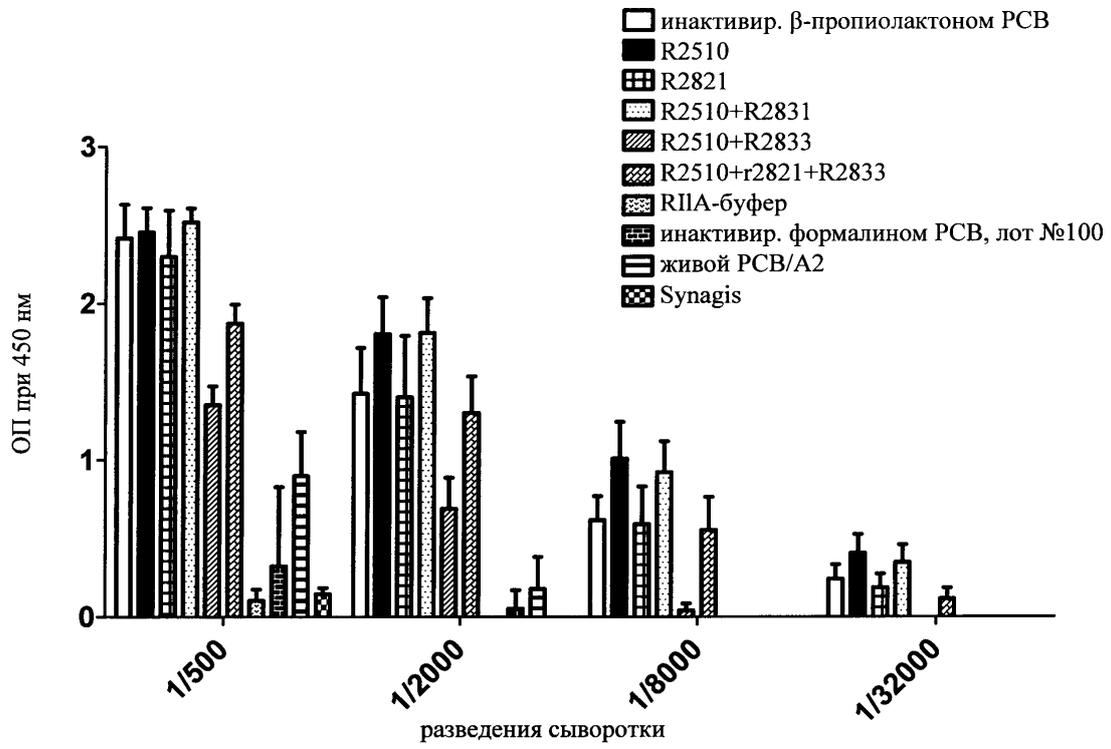
Фиг. 11

16/23



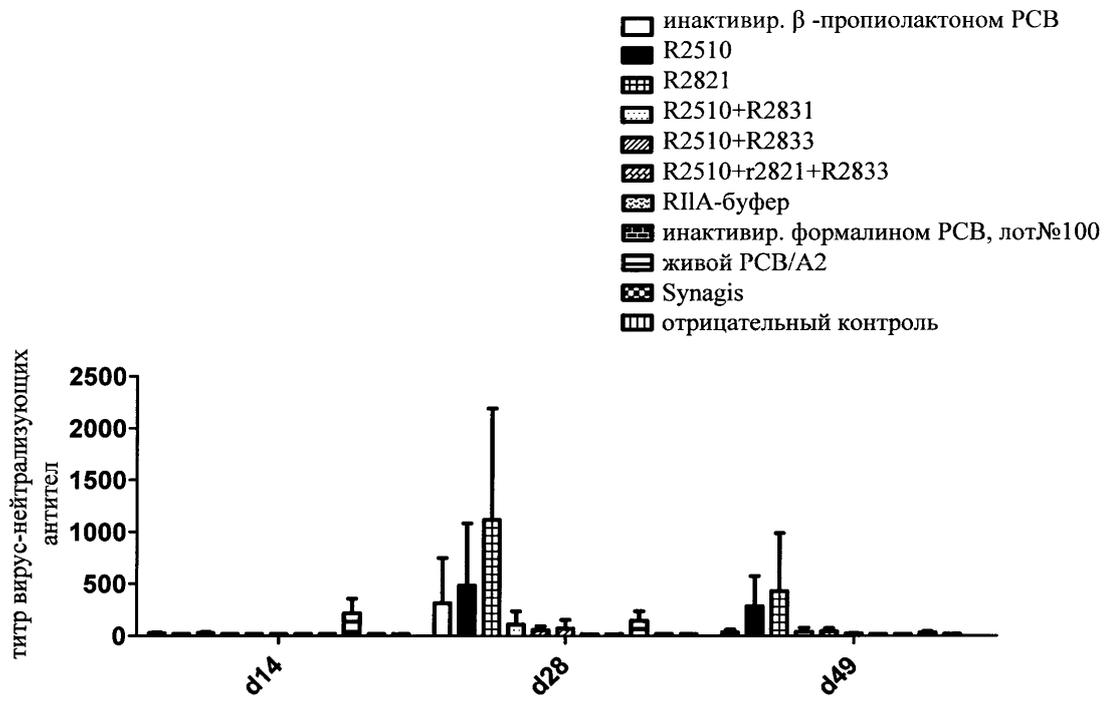
Фиг. 11 – продолжение

17/23



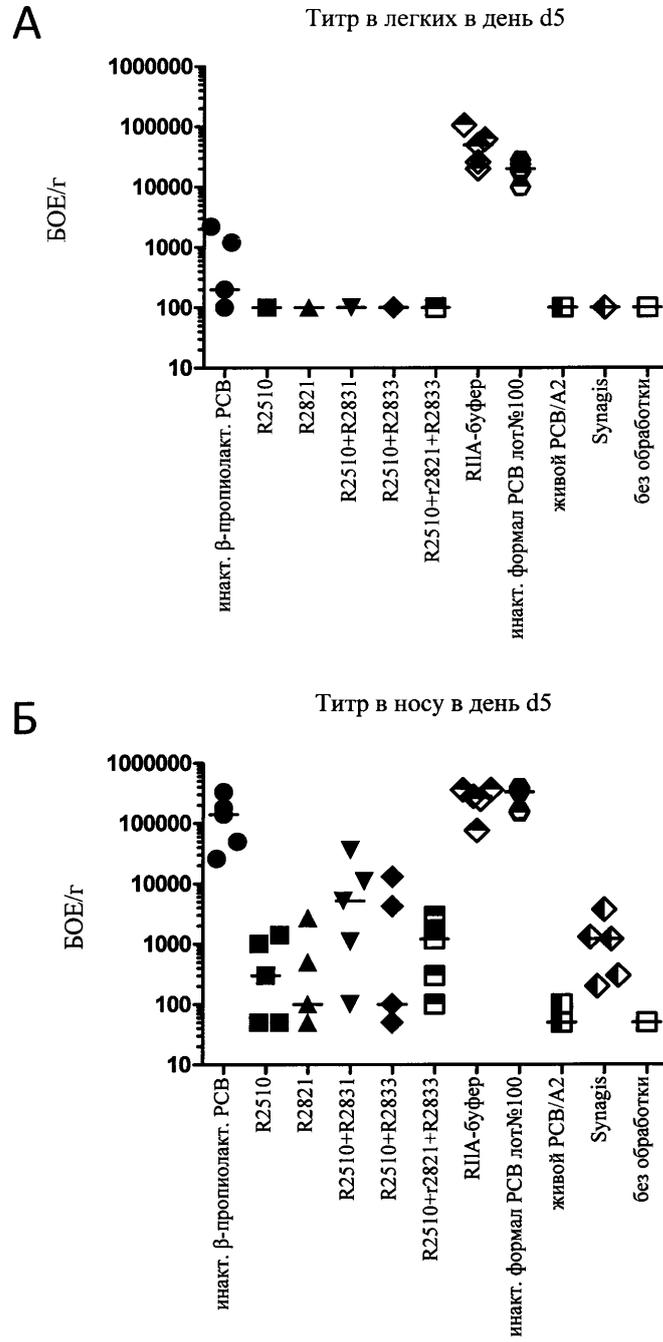
Фиг. 12

18/23



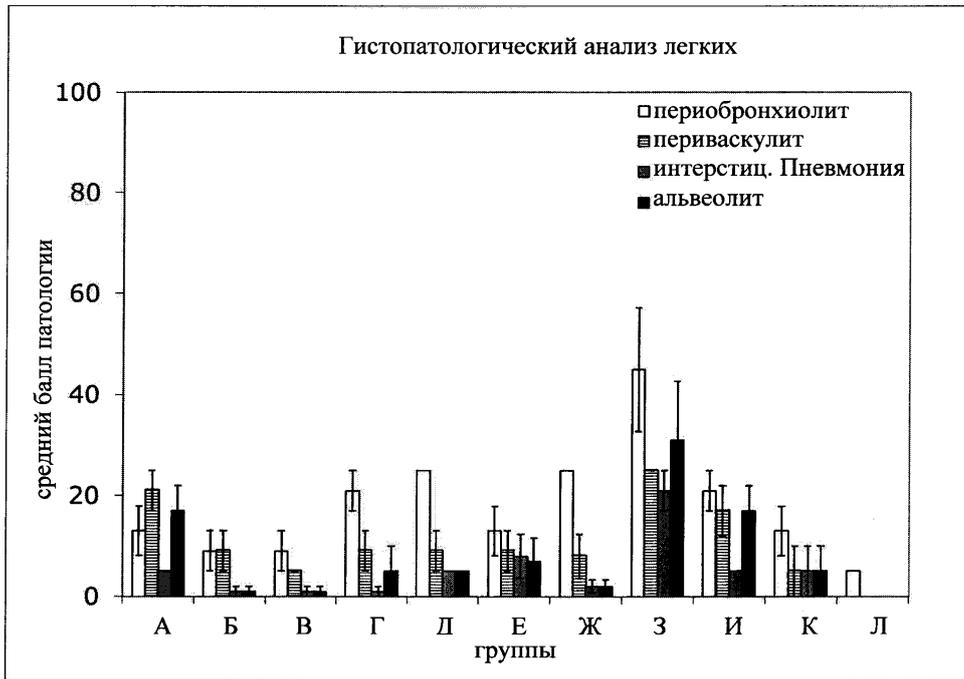
Фиг. 13

19/23



Фиг. 14

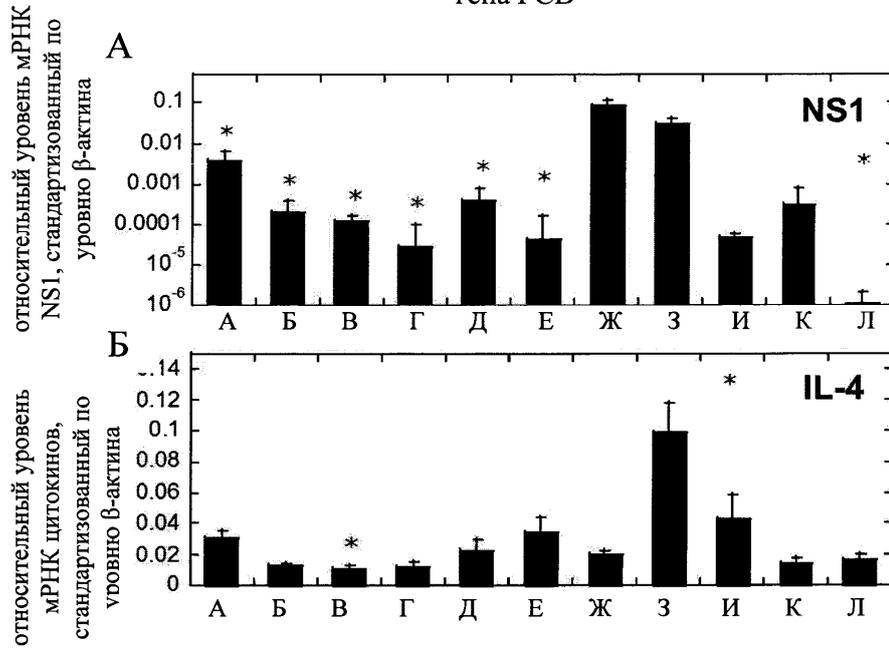
20/23



Фиг. 15

21/23

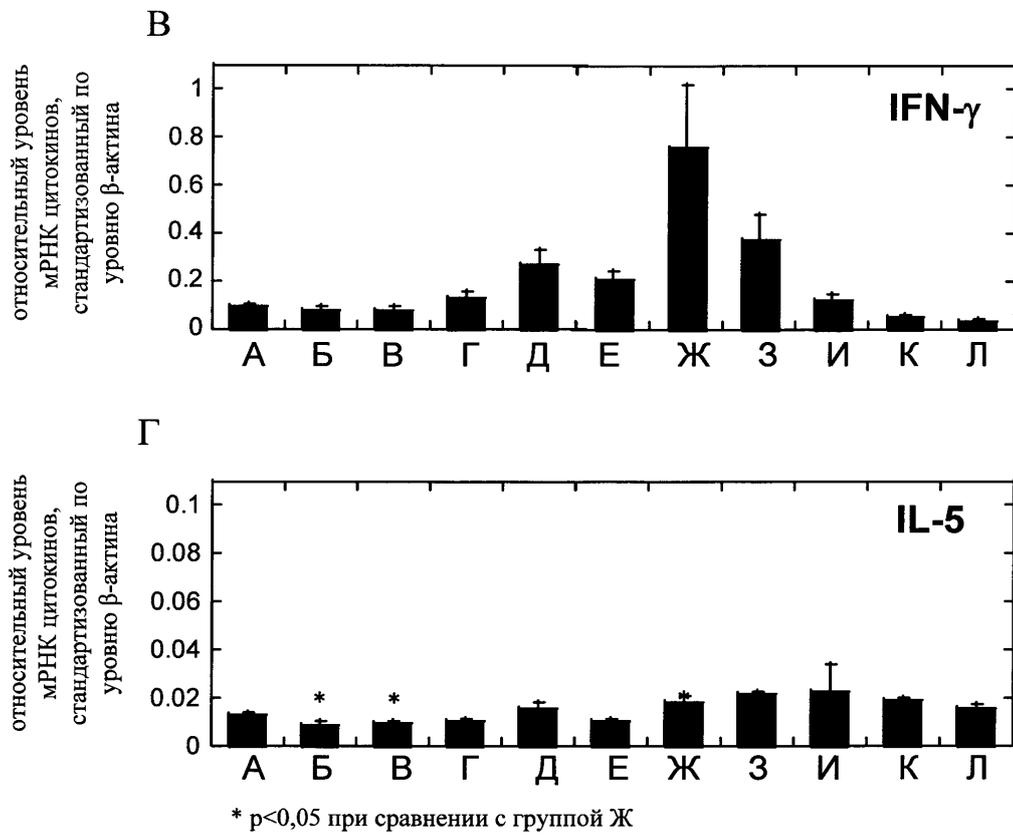
Результаты КОТ-ПЦР-анализа экспрессии легочных цитокинов и NS1-гена РСВ



* $p < 0,05$ при сравнении с группой Ж

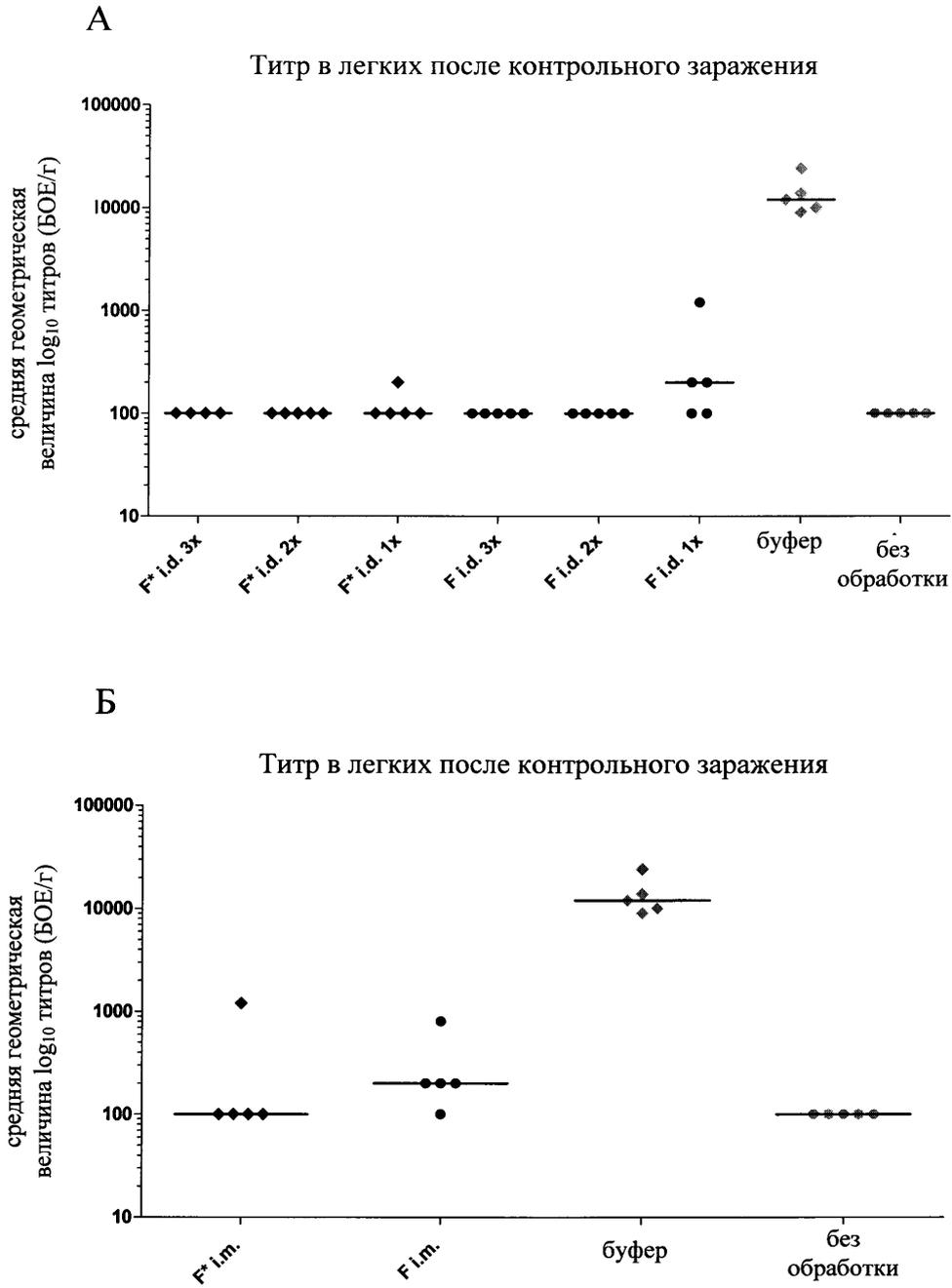
Фиг. 16

22/23



Фиг. 16 –продолжение

23/23



Фиг. 17