



Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования
«Крымский федеральный университет
имени В.И. Вернадского»

295007 Республика Крым, г. Симферополь,
проспект Академика Вернадского, 4

Отдел интеллектуальной собственности

Начальник отдела:
Бондаренко Даниил Владимирович
Тел. раб. +7(3652)51 08 69
Тел. моб. +7(978) 618 63 17
[E-mail:work.daniil@mail.ru](mailto:work.daniil@mail.ru)

г. Симферополь, ул. Ялтинская, 20, каб. 308

**КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ В.И. ВЕРНАДСКОГО**



*Отдел интеллектуальной
собственности*

**МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКИЕ
НАУКИ № 5**

2024 г.

Патент на изобретение № 2824405

Авторы:

**Юрченко Ксения Андреевна,
Оберемок Владимир Владимирович,
Юрченко Алёна Андреевна**

Способ получения олигонуклеотидной вакцины против вируса SARS-Cov-2

Изобретение относится к области медицины, фундаментальным исследованиям в области биомедицинских технологий. Задачей заявленного решения является способ получения олигонуклеотидной вакцины против вируса SARS-Cov-2.

Постановленная задача решается следующим образом.

Способ получения олигонуклеотидной вакцины против вируса SARS-Cov-2, включает фосфорамидитный синтез тιοфосфатной олигонуклеотидной конструкции, содержащей антигенпрезентирующую часть и адьювантную часть, представленную CpG-островками внутри конструкции, длиной 57 нуклеотидов Lasso-1 5'-CCCCGGGGGGCAGAGACAGAAGAAACAGCAAACC CCCCCGGGGAACGCCAACGCCT-3', при этом в качестве сульфорирующего реагента используют 3-((N,N-диметиламинометилен)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-5-тион, защитная группа DMT удаляется раствором 3% трихлоруксусной кислоты в хлористом метиле, раствор нуклеозидного фосфорамидита в абсолютном ацетонитриле активируют 2-этилтиотетразолом в сухом ацетонитриле, кэпирование проводится путем обработки твердофазного носителя растворами пропионового ангидрида и 1-метилимидазола в качестве катализатора, после снятия полученного целевого олигонуклеотида с твердофазного носителя, защитные группы удаляются в течение ночи при 55°C в концентрированном растворе аммиака, после синтеза осуществляют очистку при помощи вэжх. Способ получения осуществляют следующим образом.

Вакцина была синтезирована на приборе ASM-800 с использованием стандартного фосфорамидитного метода синтеза, используя в качестве сульфорирующего реагента 3-((N, М-

диметиламинометилен)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-5-тион (ДДТТ). Защитная группа DMT удаляется раствором 3% трихлоруксусной кислоты в хлористом метиле. Образующийся диметокситригильный катион оранжевого цвета вымывается из системы. В результате образуется закрепленный на твердофазном носителе предшественник олигонуклеотида со свободной 5'гидроксильной группой. Раствор нуклеозидного фосфорамидита 0,1 М в абсолютном ацетонитриле активируют 0,25 М раствором кислотного катализатора 2-этилтиотетразола в сухом ацетонитриле. Смешение компонентов происходит в коммуникационных линиях синтезатора в процессе доставки реагентов в колонку, содержащей твердофазный носитель.

Активированный амидофосфит в избытке вводится во взаимодействие с 5'гидроксильной группой, образуя фосфотриэфирную связь. После завершения реакции избыток реагентов и побочные продукты удаляются из реактора промыванием ацетонитрилом. После завершения стадии конденсации небольшая доля 5'-гидроксильных групп (0, 94) остается не прореагировавшими и должна быть выведена из процесса дальнейшего удлинения цепи. С этой целью, оставшиеся гидроксильные группы защищаются ацильными группами, устойчивыми к действию растворов кислот, используемых для снятия Т4Т-защиты. Кэпирование проводится путем обработки твердофазного носителя растворами пропионового ангидрида и 1-метилимидазола в качестве катализатора. Полученная в результате конденсации межнуклеозидная трехкоординированная фосфитная группа обладает ограниченной стабильностью в условиях синтеза. Обработка носителя ДДТТ в пиридине окисляет фосфит в тιοфосфатную группу. Синтетический цикл, включающий описанные стадии, повторяется 57 раз для достижения требуемой длины олигонуклеотида. Синтез осуществляется в направлении от 3'-к 5'-концу.

После завершения всех циклов синтеза требуется снятие полученного целевого олигонуклеотида с твердофазного носителя, удаление защитных групп в течение ночи при 55°C в концентрированном растворе аммиака и последующая очистка при помощи вэжх.

Формула изобретения

Способ получения олигонуклеотидной вакцины против вируса SARS-Cov-2, включающий фосфорамидитный синтез тιοфосфатной олигонуклеотидной конструкции, содержащей антигенпрезентирующую часть и адьювантную часть, представленную CpG-островками внутри конструкции, длиной 57 нуклеотидов Lasso-1 5'-CCCCGGGGGGCAGAGACAGAAGAAACAGCAAACC CCCCCGGGGAACGCCAACGCCT-3', при этом в качестве сульфорирующего реагента используют 3-((N,N-диметиламинометилен)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-5-тион, защитная группа DMT удаляется раствором 3% трихлоруксусной кислоты в хлористом метиле, раствор нуклеозидного фосфорамидита в абсолютном ацетонитриле активируют 2-этилтиотетразолом в сухом ацетонитриле, кэпирование проводится путем обработки твердофазного носителя растворами пропионового ангидрида и 1-метилимидазола в качестве катализатора, после снятия полученного целевого олигонуклеотида с твердофазного носителя защитные группы удаляются в течение ночи при 55°C в концентрированном растворе аммиака, после синтеза осуществляют очистку при помощи ВЭЖХ.