

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991575 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(22) Дата подачи заявки
2017.12.20

(51) Int. Cl. *A61K 39/25* (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) ВАКЦИННАЯ КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВ ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА

(31) 10-2016-0178793; 10-2017-0176122

(32) 2016.12.26; 2017.12.20

(33) KR

(86) PCT/KR2017/015155

(87) WO 2018/124615 2018.07.05

(71) Заявитель:

МОГАМ ИНСТИТУТ ФОР
БАЙОМЕДИКАЛ РИСЕРЧ (KR);
ИНФЕКШЕС ДИЗИЗ РИСЕРЧ
ИНСТИТУТ (АйДиЭрАй) (US)

(72) Изобретатель:

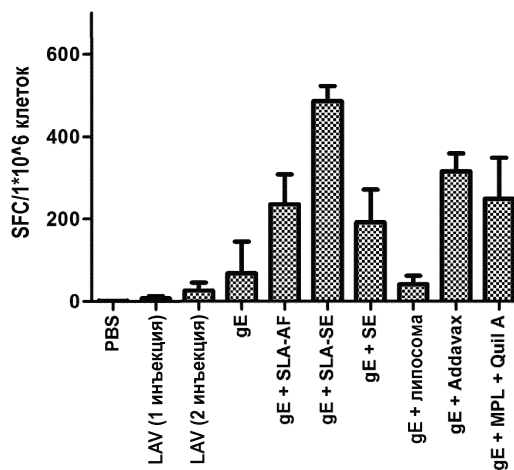
Нам Хио Дзунг, Ким Эюн Ми, Шин
Дук Хианг (KR), Рид Стивен Г. (US),
Йоо Канг Ил, Хонг Сунг Дзун (KR)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к вакцинной композиции против опоясывающего герпеса, которая содержит гликопротеин Е из вируса ветряной оспы, глюкopiранозильный липидный адъювант и поддающееся метаболизму масло и селективно увеличивает опосредованную клетками иммунную реакцию без наличия недостатков живых ослабленных вакцин, таким образом, имеет высокую безопасность и сильный профилактический эффект против опоясывающего герпеса.

Стимуляция белком gE



A1

201991575

201991575

A1

ВАКЦИННАЯ КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВ ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА**Область техники**

Настоящее изобретение относится к вакцинной композиции для профилактики опоясывающего герпеса.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Первичная инфекция вирусом ветряной оспы - опоясывающего герпеса (VZV) вызывает ветряную оспу, характеризующуюся высокозаразной кожной сыпью, в основном на лице и туловище. После первоначальной инфекции, вирусная ДНК может оставаться спящей в течение нескольких лет в цитоплазме нейрональной клетки хозяина. Вирус может быть реактивирован для вызова опоясывающего герпеса (зостер или опоясывающего лишая) у взрослых.

Опоясывающий герпес вызывает кожную сыпь, отличную от сыпи, образуемой в ходе первичной инфекции. Высыпания сопровождаются тяжелой болью и могут приводить к более тяжелым состояниям, таким как постгерпетическая невралгия (PHN).

Вирус ветряной оспы - опоясывающего герпеса (VZV), также известный как вирус герпеса 3 человека (HHV-3), является членом подсемейства альфавируса герпеса из семейства *Herpesviridae*. VZV представляет собой оболочечный вирус с двухцепочечным ДНК-геном из приблизительно 125000 нуклеотидов. Геном VZV заключен в икосаэдрический нуклеокапсид. Вирусный тегумент (покровный слой), локализованный в пространстве между нуклеокапсидом и вирусной оболочкой, представляет собой конструкцию, состоящую из кодируемых вирусом белков и ферментов. Вирусная оболочка происходит из мембран клетки-хозяина и содержит кодируемые вирусом гликопротеины.

Геном VZV кодирует семьдесят (70) или более открытых рамок считывания (ORF), девять (9) из которых кодируют гликопротеины (gE, gI, gB, gH, gK, gN, gL, gC и gM), которые считают функционирующими на различных стадиях цикла репликации вируса.

Гликопротеин Е (gE) является необходимым для репликации вируса (Mallory et al. (1997) *J. Virol.* 71: 8279-8288) и Mo et al. (2002) *Virology* 304: 176-186), и является наиболее

распространенным гликопротеином, обнаруженным в инфицированных клетках, так же как в зрелых вирионах (Grose, 2002, The predominant varicella-zoster virus gE and gI glycoprotein complex, In Structure-function relationships of human pathogenic viruses, Holzenburg and Bogner (eds.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY).

Гликопротеин I (gI) формирует комплекс с gE в инфицированных клетках, таким образом, стимулируя эндоцитоз обоих гликопротеинов, которые затем доставляются в транс-Гольджи, где образуется окончательная вирусная оболочка (Olson and Grose (1998) *J. Virol.* 72: 1542-1551).

Гликопротеин B (gB), который, как считается, играют важную роль в проникновении вируса, имеет эпитоп для нейтрализующего вирус антитела и является вторым из наиболее распространенных гликопротеинов на поверхности вириона (Arvin (1996) *Clin. Microbiol. Rev.* 9: 361-381).

Считается, что гликопротеин H (gH) выполняет функцию слияния, способствующую распространению вируса от клетки к клетке.

В настоящее время живые аттенуированные вакцины, общеупотребительные для профилактики ветряной оспы или опоясывающего герпеса, имеют несколько недостатков. Во-первых, существуют некоторые доказательства того, что иммунитет против инфекции VZV уменьшается с течением времени, и эффект вакцины исчезает (Chaves et al. (2007) *N. Engl. J. Med.* 356: 1121-1129). Таким образом, пациенты, вакцинированные с использованием вакцины, могут оставаться чувствительными к опоясывающему герпесу, который является более тяжелым состоянием, вызванным VZV. Кроме того, аттенуированные живые вакцины получают с использованием живых вирусов с ослабленной патогенностью, так что вакцинированные пациенты могут становиться чувствительными к ветряной оспе или опоясывающему герпесу из-за вакцинации. Фактически, существует несколько опубликованных случаев опоясывающего герпеса, вызванных штаммом вируса, использованным в вакцине (Matsubara et al. (1995) *Acta Paediatr Jpn* 37: 648-50; и Hammerschlag et al. (1989) *J Infect Dis.* 160: 535-7). Кроме

того, из-за живого ослабленного вируса, присутствующего в вакцине, использование вакцин может быть ограничено для пациентов, иммунная функция которых уменьшена.

Для увеличения эффекта профилактики опоясывающего герпеса, повторно возникающего в нейрональных клетках после спящего состояния вируса, является важным значительно усиливать активацию опосредованного клетками иммунитета (CMI) против антигена VZV вместо активации гуморального иммунитета против него. Для этого, является важным увеличивать соотношение Th1/Th2 посредством стимуляции активации Th1 среди Th1 и Th2, которые представляют собой Т-клетки (Т-клетки-помощники).

Таким образом, существует необходимость разработки новых вакцинных композиций против опоясывающего герпеса, которые могут селективно увеличивать опосредованный клетками иммунный ответ без наличия недостатков живых ослабленных вакцин.

Описание изобретения

Техническая задача

Целью настоящего изобретения является получение вакцинной композиции, имеющей высокую безопасность и отличный эффект профилактики опоясывающего герпеса, которая селективно увеличивает опосредованный клетками иммунный ответ без недостатков живых ослабленных вакцин.

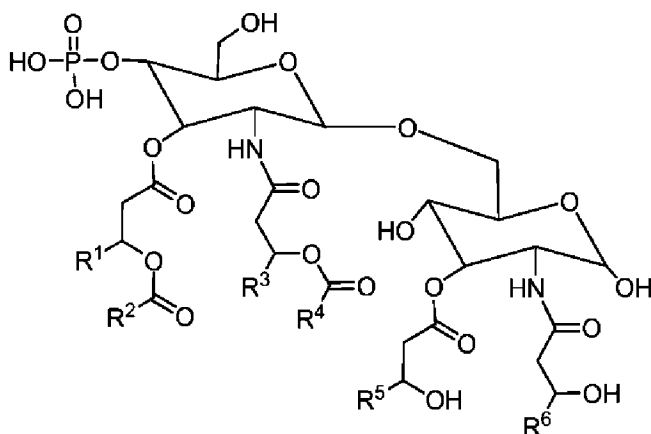
Решение задачи

1. Вакцинная композиция против ветряной оспы или опоясывающего герпеса, содержащая:

гликопротеин Е из вируса ветряной оспы - опоясывающего герпеса;

глюкопиранидозильный липидный адъювант следующей формулы 1; и поддающееся метаболизму масло:

[Формула 1]



, где каждый из R^1 , R^3 , R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{10} - C_{12} алкил; и каждый из R^2 и R^4 независимо представляют собой C_8 - C_{14} алкил.

2. Вакцинная композиция по вышеуказанному 1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант представляет собой адъювант формулы 1, где R^1 , R^3 , R^5 и R^6 представляют собой C_{11} алкил.

3. Вакцинная композиция по вышеуказанному 1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант представляет собой адъювант формулы 1, где R^2 и R^4 представляют собой C_{13} алкил.

4. Вакцинная композиция по вышеуказанному 1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант представляет собой адъювант формулы 1, где R^2 и R^4 представляют собой C_9 алкил.

5. Вакцинная композиция по вышеуказанному 1, в которой поддающееся метаболизму масло представляет собой сквален.

6. Вакцинная композиция по вышеуказанному 5, в которой сквален содержится в количестве 1% (об./об.) - 7% (об./об.) от всей вакцинной композиции.

7. Вакцинная композиция по вышеуказанному 6, в которой сквален содержится в количестве 1% (об./об.) - 4% (об./об.) от всей вакцинной композиции.

8. Вакцинная композиция по вышеуказанному 1, в которой гликопротеин Е содержится в количестве 5 мкг - 100 мкг в однократной дозе вакцинной композиции.

9. Вакцинная композиция по вышеуказанному 1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант содержится в количестве 7,5 мкг - 20 мкг в однократной дозе вакцинной композиции.

10. Вакцинная композиция по вышеуказанному 9, в которой

глюкопиранозильный липидный адъювант содержится в количестве 9 мкг – 18 мкг в однократной дозе вакцинной композиции.

11. Способ профилактики или лечения ветряной оспы или опоясывающего герпеса, включающий введение композиции по любому из вышеуказанных 1-10 пациенту.

Выгодные эффекты изобретения

Вакцинная композиция по настоящему изобретению отлично подходит для профилактики опоясывающего герпеса.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению значительно увеличивает опосредованный клетками иммунный ответ против антигена VZV по сравнению с гуморальным иммунным ответом против него.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению сильно увеличивает количество Th1-клеток, продуцирующих два или более специфических для Th1 цитокинов.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению сильно увеличивает продукцию IgG2с по сравнению с продукцией IgG1.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению не имеет возможности инфицировать пациента опоясывающим герпесом из-за вакцинации.

Вакцинную композицию по настоящему изобретению можно вводить пациентам, иммунная функция которых нарушена.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению имеет длительный профилактический эффект.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 проиллюстрирована продукция специфических для антигена gE IgG, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 3.

На фиг. 2 изображена продукция специфических для антигена gE IgG2с и IgG1, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 3.

На фиг. 3 показано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к белку gE образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 4.

На фиг. 4 показано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ

специфическим по отношению к перекрывающемуся с gE пептидом образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 4.

На фиг. 5 показано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к полноразмерному VZV образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 4.

На фиг. 6 представлено количество различных Th-цитокинов, секретируемых специфическим по отношению к антигену gE образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 5.

На фиг. 7 показано распределение специфических для антигена gE секретирующих цитокины клеток, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 6.

На фиг. 8 проиллюстрирована продукция специфических для антигена VZV IgG, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 7.

На фиг. 9 изображена продукция специфических для антигена VZV IgG2c и IgG1, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 7.

На фиг. 10 показано количество IFN- γ , секретированного специфическим по отношению к полноразмерному VZV образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 8.

На фиг. 11 показано распределение специфических для антигена VZV секретирующих цитокины клеток, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 9.

На фиг. 12 показана продукция специфических для антигена VZV IgG, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 10, и количество Т-клеток, специфических для gE или полноразмерного VZV, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 2-2.

На фиг. 13 представлена продукция специфических для антигена gE IgG, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 11.

На фиг. 14 показана продукция специфических для антигена gE IgG2c и IgG1, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 11.

На фиг. 15 проиллюстрировано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к белку gE образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 12.

На фиг. 16 показано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к перекрывающемуся с gE пептидом образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 12.

На фиг. 17 показано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к антигену VZV образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 12.

На фиг. 18 показано количество IFN- γ , секретированное в результате стимуляции белком gE, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 13.

На фиг. 19 показано количество IFN- γ , секретированное в результате стимуляции перекрывающимся с gE пептидом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 13.

На фиг. 20 представлено количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к белку gE образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 14.

На фиг. 21 показано количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ специфическим по отношению к полноразмерному VZV образом, в соответствии с экспериментом из экспериментального примера 14.

Наилучший способ осуществления изобретение

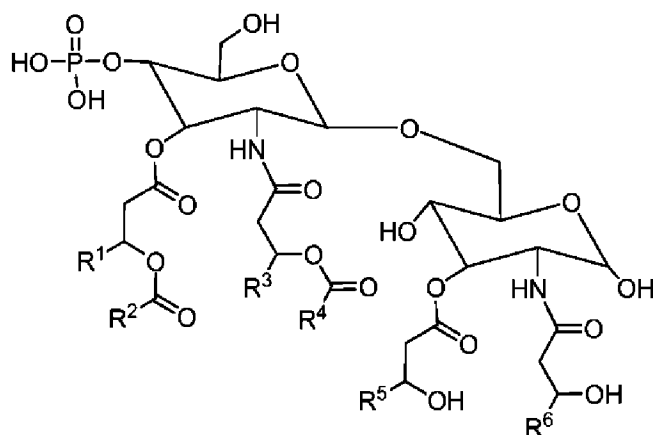
Настоящее изобретение относится к вакцинной композиции против опоясывающего герпеса, которая содержит гликопротеин Е из вируса ветряной оспы - опоясывающего герпеса, глюкопиранозильный липидный адъювант и поддающееся метаболизму масло, и имеет высокую безопасность и отличный эффект профилактики опоясывающего герпеса посредством селективного увеличения опосредованного клетками иммунного ответа без недостатков живых ослабленных вакцин.

Далее в настоящем описании настоящее изобретение описано подробно.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению содержит

гликопротеин Е из вируса ветряной оспы – опоясывающего герпеса (VZV), глюкопиранозильный липидный адъювант следующей формулы 1 и поддающееся метаболизму масло:

[Формула 1]

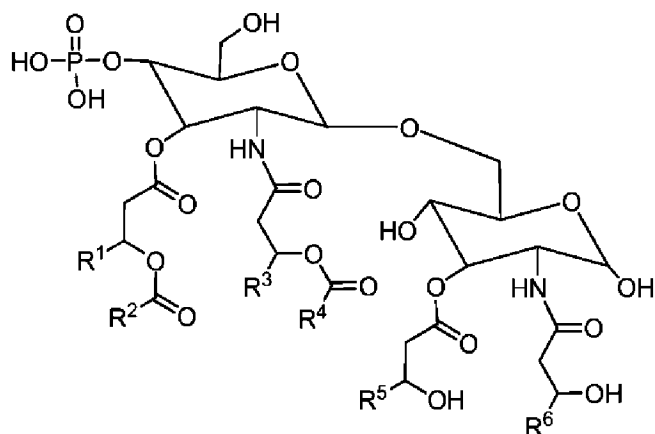


, где каждый из R^1 , R^3 , R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{10} - C_{12} алкил; и каждый из R^2 и R^4 независимо представляют собой C_8 - C_{14} алкил.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению содержит гликопротеин Е (gE) из VZV. Гликопротеин Е (gE) по настоящему изобретению обозначает гликопротеин Е из VZV или его иммуногенное производное. Иммуногенное производное по настоящему изобретению может представлять собой производное, где часть гликопротеина Е является модифицированной. Например, оно может представлять собой производное, где часть гликопротеина Е обрезана, одна или несколько аминокислот гликопротеина Е заменены на другие аминокислоты, одна или несколько аминокислот гликопротеина Е удалены, одна или несколько аминокислот добавлены к гликопротеину Е, или одна или несколько аминокислот гликопротеина Е химически модифицированы. Например, гликопротеин Е по настоящему изобретению может быть представлен последовательностью из SEQ ID NO: 1.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению содержит глюкопиранозильный липидный адъювант следующей формулы 1 и поддающееся метаболизму масло:

[Формула 1]



, где каждый из R¹, R³, R⁵ и независимо представляют собой C₁₀-C₁₂ алкил; и каждый из R² и R⁴ независимо представляют собой C₈-C₁₄ алкил. Например, R² и R⁴ могут представлять собой C₈ алкил, C₉ алкил, C₁₀ алкил, C₁₁ алкил, C₁₂ алкил, C₁₃ алкил, или C₁₄ алкил. В соответствии с более конкретным примером, R² и R⁴ могут представлять собой C₉ алкил или C₁₃ алкил. Например, R² и R⁴ могут представлять собой C₉ алкил.

Термин «поддающееся метаболизму масло», в рамках изобретения, обозначает масло, структура которого подвергается модификации посредством метаболизма, и включает растительные масла, рыбий жир, животные масла и синтетические масла, которые не имеют биологической токсичности и могут подвергаться структурным изменениям при прохождении метаболизма.

В соответствии с конкретным вариантом осуществления настоящего изобретения, поддающееся метаболизму масло по настоящему изобретению представляет собой сквален. Сквален представляет собой углеводород с тритерпеновым остовом, имеющим 30 атомов углерода. Множество скваленов являются общеизвестными в данной области для использования в качестве поддающихся метаболизму масел, или можно использовать эмульсии, например, сквалена из масла печени акулы. Иллюстративный состав сквалена описан в Fox CB *et al.* (2013) *Vaccine* 31 (49): 5848-55.

Для увеличения эффекта профилактики опоясывающего герпеса, является важным значительное увеличение активации опосредованного клетками иммунитета (CMI) против антигенов VZV, с минимизацией в то же время активации гуморального иммунитета против них.

Высокие уровни специфических для Th2-цитокинов благоприятствуют индукции гуморального иммунного ответа на представленный антиген, в то время как высокие уровни специфических для Th1-цитокинов проявляют тенденцию к предпочтительной индукции опосредованного клетками иммунного ответа (CMI) на представленный антиген. Таким образом, чем больше специфических для Th1-цитокинов образуется по сравнению с специфическими для Th2-цитокинами, тем более высокой становится степень активации опосредованного клетками иммунного ответа по сравнению с гуморальным иммунным ответом.

А также, чем больше количество клеток, одновременно продуцирующих два или более цитокинов из IFN- γ , TNF- α и IL-2, тем выше степень активации опосредованного клетками иммунного ответа.

Кроме того, по мере того как степень активации опосредованного клетками иммунного ответа становится выше по сравнению со степенью активации гуморального иммунного ответа, продукция антитела IgG2с сильно увеличивается по сравнению с продукцией антитела IgG1.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению может сильно увеличивать степень активации опосредованного клетками иммунного ответа вместо степени активации гуморального иммунного ответа в организме пациента.

Например, вакцинная композиция по настоящему изобретению может значительно увеличивать продукцию специфических для Th1 цитокинов (например, интерферона-гамма (IFN- γ), фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α) и интерлейкина-2 (IL-2)), по сравнению с продукцией специфических для Th2 цитокинов (например, интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-10 (IL-10) и т.п.), в организме пациента.

А также, например, вакцинная композиция по настоящему изобретению является способной сильно увеличивать количество клеток, одновременно продуцирующих два или более цитокинов из IFN- γ , TNF- α и IL-2, по сравнению с количеством клеток, продуцирующим только один цитокин из вышеуказанных цитокинов,

среди активированных Th1-клеток.

Кроме того, например, вакцинная композиция по настоящему изобретению может сильно увеличивать продукцию специфических для gE антител IgG в организме пациента, и в особенности, может сильно увеличивать продукцию специфических для gE антител IgG2c по сравнению с продукцией специфических для gE антител IgG1.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению может содержать 5 мкг - 100 мкг гликопротеина E в однократной дозе. Например, она может содержать 5 мкг - 80 мкг, конкретно, 5 мкг - 70 мкг, более конкретно, 5 мкг - 60 мкг, и наиболее конкретно, 5 мкг - 50 мкг гликопротеина E в однократной дозе.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению может содержать 7,5 мкг - 20 мкг, конкретно, 9 мкг - 18 мкг, более конкретно, 9 мкг - 16 мкг, и наиболее конкретно, 10 мкг - 15 мкг глюкопиранозильного липидного адъюванта в однократной дозе. В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения, вакцинная композиция по настоящему изобретению может содержать 13 мкг - 17 мкг глюкопиранозильного липидного адъюванта в однократной дозе. Когда глюкопиранозильный липидный адъювант включают в вышеуказанном диапазоне, опосредованный клетками иммунный ответ можно селективно максимизировать.

Вакцинная композиция по настоящему изобретению может содержать 1-7% (об./об.), более конкретно, 1-5% (об./об.), и наиболее конкретно, 1-4% (об./об.) поддающегося метаболизму масла в однократной дозе.

В дополнение к гликопротеину E, глюкопиранозильному липидному адъюванту и поддающемуся метаболизму маслу, вакцинная композиция по настоящему изобретению может включать фармацевтически приемлемые наполнители, носители и т.п. Например, вакцинная композиция по настоящему изобретению может содержать физиологический солевой раствор или PBS (фосфатно-солевой буфер).

Вакцинную композицию по настоящему изобретению можно составлять и упаковывать в различных формах. В соответствии с одним вариантом осуществления, первый флакон, содержащий гликопротеин E, но не содержащий глюкопиранозильный липидный

адъювант и поддающееся метаболизму масло, и второй флакон, содержащий глюкopiранозильный липидный адъювант и поддающееся метаболизму масло, но не содержащий гликопротеин E, можно упаковывать по отдельности и смешивать перед использованием (смешивание на месте). В соответствии с другим вариантом осуществления, вакцинную композицию, содержащую все из гликопротеина E, глюкopiранозильного липидного адъюванта и поддающегося метаболизму масла, можно упаковывать в флакон, шприц (предварительно заполненный шприц) или т.п.

Вариант осуществления изобретения

Далее в настоящем описании настоящее изобретение описано более подробно со ссылкой на экспериментальные примеры. Эти экспериментальные примеры предназначены только для иллюстрации настоящего изобретения, и объем настоящего изобретения не ограничен тем, что проиллюстрировано в этих экспериментальных примерах.

Экспериментальный пример 1: Иммунизация

Поскольку люди имеют историю инфекции ветряной оспы, для имитации инфекции ветряной оспы у мышей, живую ослабленную вакцину (LAV, 3000 БОЕ) подкожно инъецировали один раз самкам мышей C57BL/6 для проведения первичной иммунизации (примирование LAV). Через 28 суток после примирования LAV (сутки 0), различные вакцинные композиции VZV, в присутствии или в отсутствие белкового иммуногена VZV или адъюванта, вводили посредством внутримышечной инъекции для проведения вторичной иммунизации.

Для измерения гуморального иммунного ответа на VZV, образцы крови отбирали один раз в точке примирования LAV, и через 28 суток и 42 суток после этого (сутки 0, сутки 28 и сутки 42), соответственно, и лейкоциты собирали из образцов селезенки через 42 суток после примирования LAV (сутки 42) для измерения СМІ (опосредованного клетками иммунного ответа) против VZV.

Дизайн эксперимента для первичной иммунизации (примирования LAV), вторичной иммунизации (иммунизации) и измерения иммунного ответа обобщен, как показано в таблице 1 ниже. В таблице 1 ниже, gE обозначает гликопротеин E VZV из SEQ ID NO: 1, LAV обозначает живой ослабленный вирус, SLA обозначает глюкopiранозильный

липидный адъювант формулы 1, где R² и R⁴ представляют собой C₉ алкил, и SE обозначает сквален. SLA и сквален получены из Института исследования инфекционных заболеваний (Seattle, US) и Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), соответственно.

Алюм. гидроксид представляет собой гидроксид алюминия; Addavax® представляет собой наноэмульсию масло-в-воде на основе сквалена; Pam3CSK4 представляет собой агонист TLR 1/2, синтетический триацилированный липопротеин номера CAS 112208-00-1; поли-IC представляет собой полиинозиновую-полицитидиловую кислоту; MPL представляет собой монофосфорилипид A; и ODN1826 представляет собой CpG олигонуклеотид класса В – мышинный лиганд TLR9. Кроме того, сутки иммунизации, сбора образцов крови и сбора образцов селезенки подсчитывали от суток 0 как суток примирования LAV.

[Таблица 1]

Группа	Первичная иммунизация (примирование LAV*)	Вторичная иммунизация (иммунизация)		Сутки вторичной иммунизации	Сутки сбора образцов крови	Сутки сбора образцов селезенки
		Антиген	Адъювант			
PBS	только PBS	X	X	Сутки 28	Сутки 0, Сутки 28, Сутки 42	Сутки 42
LAV (1 инъекция)	LAV	только PBS	X			
LAV (2 инъекция)	LAV	LAV (15000 БОЕ)	X			
gE	LAV	gE (5 мкг)	X			
gE+SLA-AF	LAV	gE (5 мкг)	SLA (5 мкг) в водном составе			
gE+SLA-SE	LAV	gE (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)			
gE+SE	LAV	gE (5 мкг)	SE (2%)			
gE+липосома	LAV	gE (5 мкг)	только липосома			
gE+Addavax	LAV	gE (5 мкг)	Addavax (50%)			
gE+MPL+QuilA	LAV	gE (5 мкг)	MPL (5 мкг)+QuilA (5 мкг)			
gI+SLA-SE	LAV	gI (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)			
IE63+SLA-SE	LAV	IE63 (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)			
gB+SLA-SE	LAV	gB (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)			
gC+SLA-SE	LAV	gC (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)			
gL+SLA-SE	LAV	gL (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)			
gE+гидроксид алюминия	LAV	gE (5 мкг)	Гидроксид алюминия (0,5 мг)			

gE+Addavax	LAV	gE (5 мкг)	Addavax (50 мкл)			
gE+Pam3CSK4	LAV	gE (5 мкг)	Pam3CSK4 (11 мкг)			
gE+поли-IC	LAV	gE (5 мкг)	поли-IC (55 мкг)			
gE+MPL	LAV	gE (5 мкг)	MPL (11 мкг)			
gE+флагеллин	LAV	gE (5 мкг)	Флагеллин (5,5 мкг)			
gE+имиквимод	LAV	gE (5 мкг)	Имиквимод (55 мкг)			
gE+ODN1826	LAV	gE (5 мкг)	ODN1826 (35мкг)			
*Первичная иммунизация (примирование LAV): Доза 100 мкл/голову. 3000 БОЕ						
*Вторичная иммунизация (иммунизация): Доза 100 мкл/голову						

Экспериментальный пример 2: Экспериментальные способы

Экспериментальный пример 2-1: Способ измерения титра специфических для антигена VZV IgG (титра специфических для VZV IgG)

После проведения первичной иммунизации и вторичной иммунизации, проводили ELISA (твёрдофазный иммуноферментный анализ) для измерения титра специфических для антигена VZV IgG. Рекомбинантным белком gE или антигеном VZV (1 мкг/мл) покрывали планшет для ELISA и инкубировали в течение ночи при 4°C. Планшет для ELISA промывали три раза и проводили блокирование с использованием раствора PBS (фосфатно-солевого буфера), содержащего 2% BSA (бычий сывороточный альбумин), в течение 1 часа. После промывки планшета для ELISA, туда добавляли разведенные образцы сыворотки и инкубировали в течение 2 часов. Туда добавляли конъюгированные с HRP (пероксидазой хрена) антитела козы против IgG, IgG1 или IgG2c мыши и инкубировали в течение 1 часа. После конечной инкубации, планшет для ELISA промывали, и реакцию HRP индуцировали добавлением субстрата TMB (3,3',5,5'-тетраметилбензидина). Реакцию HRP останавливали добавлением останавливающего раствора для ELISA и оптическую плотность (OD) измеряли с использованием спектрометра при длине волны 450 нм.

Экспериментальный пример 2-2: Способ измерения специфического для антигена VZV опосредованного клетками иммунного ответа с использованием иммуноферментного спот-анализа (анализа анализ ELISPOT)

После проведения первичной иммунизации и вторичной

иммунизации, проводили анализ ELISPOT (иммуноферментный спот-анализ) мышинового IFN- γ для подтверждения специфического для антигена VZV опосредованного клетками иммунного ответа (CMI). Связывающим IFN- γ антителом (5 мкг/мл) покрывали планшет для ELISPOT и инкубировали в течение ночи при 4°C. Планшет для ELISPOT промывали 3 раза и проводили блокирование с использованием среды, содержащей 10% FBS (эмбриональную бычью сыворотку) в течение 1 часа. После промывки планшета для ELISPOT, туда добавляли лейкоциты, собранные от иммунизированных мышей, и белок gE, OLP gE (перекрывающийся пептид) или лизат VZV и инкубировали в течение 24 часов для стимуляции лейкоцитов. После завершения стимуляции лейкоцитов, планшет для ELISPOT промывали, и туда добавляли биотинилированное антитело для детекции мышинового IFN- γ (2 мкг/мл) и инкубировали. После промывки планшета, туда добавляли стрептавидин-HRP и снова инкубировали. Затем, после промывки планшета для ELISPOT, туда добавляли смесь субстрата АЕС для индукции реакции при комнатной температуре. Реакцию останавливали промывкой планшета для ELISPOT, и планшет сушили. Количество полученных в результате пятен подсчитывали с использованием устройства.

Экспериментальный пример 2-3: Способ идентификации цитокинов, секретированных в результате стимуляции антигеном (анализ СВА)

После проведения первичной иммунизации и вторичной иммунизации, анализ СВА (цитометрического массива бусин) проводили для идентификации типов цитокинов, секретированных Т-клетками в результате стимуляции антигеном. Лейкоциты, собранные от мышей, стимулировали с использованием белка gE или лизата VZV в течение 3 суток и центрифугировали для получения супернатанта, в котором затем анализировали цитокины с использованием набора для СВА Th1/Th2/Th17 мыши. Семи (7) видам связывающих цитокины бусин (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF и IL-17A), образцу супернатанта и бусинам для детекции цитокинов позволяли вступать в реакцию друг с другом в течение 2 часов, бусины промывали, и определяли количество цитокинов в супернатанте.

Экспериментальный пример 2-4: Способ определения распределения секретирующих цитокины клеток (анализ ICS)

После проведения первичной иммунизации и вторичной иммунизации, секрецию специфических для Th1 цитокинов измеряли посредством анализа ICS (внутриклеточного окрашивания цитокинов) для подтверждения антигенспецифического опосредованного клетками иммунного ответа. Лейкоциты, собранные от мышей, стимулировали в течение ночи с использованием белка gE и, в то же самое время, GolgiStop (BFA)/GolgiPlug (монензин) также добавляли для профилактики секреции цитокинов из клеток во внешнее пространство. После промывки стимулированных лейкоцитов, клеточную поверхность лейкоцитов метили с использованием антител (7-AAD, CD3-FITC, CD4-V500) для идентификации Т-клеток. После завершения реакции, лейкоциты промывали, пермеабилизовали, и подвергали реакции с антителами (TNF- α -PE, IFN- γ -APC, IL-2-V450), которые могут связываться с цитокинами, для подтверждения присутствия цитокинов в клетках. После реакции, лейкоциты промывали и фиксировали, и анализировали распределение клеток, секретирующих цитокины в результате стимуляции антигеном.

Экспериментальный пример 2-5: Способ определения цитокина IFN- γ , секретированного в результате стимуляции антигеном gE (ELISA IFN- γ)

После проведения первичной иммунизации и вторичной иммунизации, анализ ELISA IFN- γ проводили для определения уровня секреции IFN- γ , типичного эффекторного цитокина, секретированного Т-клетками в результате стимуляции антигеном. Лейкоциты, собранные от мышей, стимулировали с использованием белка gE или перекрывающегося с gE пептида в течение 3 суток и центрифугировали для получения супернатанта, который затем анализировали с использованием набора для ELISA мышинного IFN- γ . Связывающим IFN- γ антителом (4 мкг/мл) покрывали планшет для ELISA и инкубировали в течение ночи при комнатной температуре. Планшет для ELISA промывали три раза и проводили блокирование с использованием PBS, содержащего 1% бычий сывороточный альбумин (BSA), в течение 1 часа. После промывки планшета для ELISA, туда

добавляли супернатант, полученный в результате стимуляции лейкоцитов, и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов. После промывки планшета для ELISA, туда добавляли биотинилированное антитело для детекции мышиного IFN- γ (400 нг/мл) и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов. После промывки, туда добавляли стрептавидин-HRP и снова инкубировали в течение 20 минут. После инкубации, планшет для ELISA промывали и проводили реакцию с раствором субстрата при комнатной температуре в течение 20 минут. После остановки реакции с использованием останавливающего раствора, оптическую плотность измеряли с использованием устройства при 450 нм.

Экспериментальный пример 3: Измерение титра специфических для антигена gE IgG (титра специфических для gE IgG)

Титр специфических для антигена gE IgG измеряли в соответствии со способом из экспериментального примера 2-1, и результаты эксперимента обобщены на фиг. 1 и 2.

Как показано на фиг. 1, продукция специфических для антигена gE IgG была сильно увеличена в группе gE+SLA-SE.

Как показано на фиг. 2, продукция IgG2c была сильно увеличена в группе gE+SLA-SE и, в особенности, продукция IgG2c была сильно увеличена по сравнению с продукцией IgG1. На фиг. 2, столбчатые диаграммы на правой стороне от «0» на горизонтальной оси представляют продукцию IgG2c, и столбчатые диаграммы на левой стороне представляют продукцию IgG1.

Принимая во внимание результаты из фиг. 1 и 2, подтвердили, что использование композиции, содержащей gE, SLA и SE, значительно увеличивало общую продукцию IgG и продукцию IgG2c и, в особенности, сильно увеличивало продукцию IgG2c по сравнению с IgG1. Эти результаты означают, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, удовлетворяющая условиям как высокой продукции IgG2c, так и высокого соотношения IgG2c/IgG1, имеет наибольший эффект профилактики опоясывающего герпеса.

Экспериментальный пример 4: Измерение специфических для антигена gE или VZV опосредованных клетками иммунных ответов (анализ ELISPOT)

Специфические для белка gE, OLP gE или лизата VZV опосредованные клетками иммунные ответы измеряли в соответствии со способом из экспериментального примера 2-2 (анализ ELISPOT IFN- γ), и результаты экспериментов обобщены на фиг. 3, 4 и 5.

Как показано на фиг. 3, когда количество Т-клеток специфически вступающих в реакцию с белком gE после вторичной иммунизации, подтверждали посредством анализа ELISPOT, можно было видеть, что количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ , репрезентативный Th1-цитокин, увеличивалось, когда использовали комбинацию gE, SLA и SE (gE+SLA-SE).

Как показано на фиг. 4, когда количество Т-клеток, специфических для перекрывающегося с gE пептидом, после вторичной иммунизации, подтверждали посредством анализа ELISPOT, можно было видеть, что, подобно результатам из фиг. 3, для композиции, содержащей gE, SLA и SE, показан значимо увеличенный антигенспецифический CMI по сравнению с другими композициями.

Как показано на фиг. 5, когда количество Т-клеток, специфических для полноразмерного VZV, индуцированных посредством стимуляции лизатом VZV, после иммунизации антигеном gE, подтверждали посредством анализа ELISPOT, подтвердили, что количество Т-клеток, секретирующих эффекторные цитокины, специфических для полноразмерного VZV, также как для антигена gE, увеличивали посредством комбинации gE, SLA и SE.

Принимая во внимание результаты из фиг. 3, 4 и 5, подтвердили, что композиция, содержащая gE, SLA и SE (gE+SLA-SE), может максимально увеличивать специфический для антигена VZV CMI, так же как специфический для gE CMI. Это означает, что композиция gE+SLA-SE имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса, чем другие композиции.

Экспериментальный пример 5: Подтверждение количества цитокинов, секретированных в результате стимуляции антигеном (анализ СВА)

Подтверждение количества цитокинов, секретированных в результате стимуляции антигеном (анализ СВА) проводили в соответствии со способом из экспериментального примера 2-3, и

результаты экспериментов обобщены на фиг. 6. На фиг. 6, IFN- γ обозначает IFN- γ .

Как показано на фиг. 6, различные Th-цитокины секретировались посредством композиции, содержащей gE, SLA и SE, и секреция репрезентативного Th1-цитокина, IFN- γ (четвертого спереди), была сильно увеличена, в то время как секреция Th2-цитоксинов, IL-4 (второго спереди) и IL-6 (третьего спереди), или Th17-цитокина, IL-17A (шестого спереди), была минимальной. Это означает, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса, чем другие композиции.

Экспериментальный пример 6: Подтверждение распределения секретизирующих цитоксины клеток

Анализ для подтверждения распределения клеток, секретизирующих цитоксины в результате стимуляции антигеном (анализ ICS) проводили в соответствии со способом из экспериментального примера 2-4, и результаты эксперимента обобщены на фиг. 7.

Как показано на фиг. 7, в случае группы gE+SLA-SE, количество Т-клеток, одновременно секретизирующих два или более специфических для Th1 цитоксинов значительно увеличивалось (69%), показывая, что высокое количество антигенспецифических Т-клеток было индуцировано посредством иммунизации с использованием gE+SLA-SE. Это означает, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса чем другие композиции.

Экспериментальный пример 7: Измерение титров специфических для антигена VZV IgG (титра специфических IgG против гликопротеина VZV)

Титры различных специфических для антигена VZV IgG в зависимости от использования SLA-SE определяли таким же способом, как в экспериментальном примере 2-1, за исключением того, что любой из gE, gI, IE63, gB, gC и gL использовали в качестве антигена во вторичной иммунизации, и SLA-SE использовали в качестве адъюванта, и результаты обобщены на фиг. 8 и 9.

Как показано на фиг. 8, продукция специфических для антигена VZV IgG была значимо увеличена в группе gE+SLA-SE.

Как показано на фиг. 9, продукция IgG2c была сильно увеличена в группе gE+SLA-SE и, в особенности, продукция IgG2c была значимо увеличена по сравнению с продукцией IgG1. На фиг. 9, столбчатые диаграммы на правой стороне от «0» на горизонтальной оси представляют продукцию IgG2c, и столбчатые диаграммы на левой стороне представляют продукцию IgG1.

Принимая во внимание результаты из фиг. 8 и 9, подтвердили, что использование композиции, содержащей gE, SLA и SE, значимо увеличивало общую продукцию IgG и продукцию IgG2c, и, в особенности, сильно увеличивало продукцию IgG2c по сравнению с IgG1. Это означает, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, удовлетворяющая условиям как высокой продукции IgG2c, так и высокого соотношения IgG2c/IgG1, имеет наибольший эффект профилактики опоясывающего герпеса.

Экспериментальный пример 8: Подтверждение количества цитокинов, секретированных в результате стимуляции антигеном VZV

Эксперимент (анализ CBA) для подтверждения цитокинов, секретированных в результате стимуляции антигеном, после иммунизации, проводили таким же способом, как в экспериментальном примере 2-3, за исключением того, что любой из gE, gI, IE63, gB, gC и gL использовали в качестве антигена во вторичной иммунизации, и SLA-SE использовали в качестве адъюванта, и результаты обобщены на фиг. 10.

Как показано на фиг. 10, в случае группы gE+SLA-SE, количество секретированного IFN- γ , репрезентативного Th1-цитокина, была сильно увеличена. Это означает, что опосредованный клетками иммунный ответ (CMI) был сильно активирован, и что композиция, содержащая gE, SLA и SE, имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса, чем другие композиции.

Экспериментальный пример 9: Подтверждение распределения клеток, секретирующих специфических для антигена VZV цитокины

Эксперимент (анализ ICS) для подтверждения распределения T-

клеток, секретирующих эффекторные цитокины в результате стимуляции антигеном, после иммунизации, проводили таким же способом, как в экспериментальном примере 2-4, за исключением того, что любой из gE, gI, IE63, gB, gC и gL использовали в качестве антигена во вторичной иммунизации, и SLA-SE использовали в качестве адъюванта, и результаты обобщены на фиг. 11.

Как показано на фиг. 11, в случае группы gE+SLA-SE, доля CD4⁺ Т-клеток, секретирующих Th1-цитокины IFN- γ , IL-2 и TNF- α , была значимо увеличена. Это означает, что опосредованный клетками иммунный ответ (CMI) был сильно активирован, и что композиция, содержащая gE, SLA и SE, имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса чем другие композиции.

Экспериментальный пример 10: Идентификация специфической для VZV иммуногенности в зависимости от комбинации антигенов

Для идентификации специфической для VZV иммуногенности, индуцированной с использованием только антигена gE и с использованием антигена gE в комбинации с другим антигеном VZV во время вторичной иммунизации, титры специфических для антигена VZV IgG и иммунных ответов специфических для антигена VZV Т-клеток подтверждали в соответствии со способами из экспериментальных примеров 2-1 и 2-2, и результаты экспериментов обобщены на фиг. 12.

Как показано на фиг. 12, специфический для VZV ответ антител и ответ Т-клеток, индуцированные с использованием только антигена gE, статистически значимо не отличались от специфических для VZV иммунных ответов, индуцированных с использованием антигена gE вместе с антигеном gI или IE63. Это означает, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса чем другие композиции.

Экспериментальный пример 11: Измерение титров специфических для антигена gE IgG (титра специфических для gE IgG)

Титры специфических для антигена gE IgG в зависимости от использования различных адъювантов измеряли таким же способом, как в экспериментальном примере 2-1, за исключением того, что gE

использовали в качестве антигена, и любой из SLA-SE, гидроксида алюминия, Addavax, Pam3CSK4, поли-IC, MPL, флагеллина, имиквимода и ODN1826 использовали в качестве адъюванта во вторичной иммунизации, и результаты обобщены на фиг. 13 и 14.

Как показано на фиг. 13, продукция специфических для антигена gE IgG была сильно увеличена в группе gE+SLA-SE, по сравнению с группами других адъювантов.

Как показано на фиг. 14, продукция IgG2c была сильно увеличена в группе gE+SLA-SE по сравнению с группами других адъювантов и, в особенности, продукция IgG2c была значимо увеличена по сравнению с продукцией IgG1. На фиг. 14, столбчатые диаграммы на правой стороне от «0» на горизонтальной оси представляют продукцию IgG2c, и столбчатые диаграммы на левой стороне представляют продукцию IgG1.

Принимая во внимание результаты из фиг. 13 и 14, подтвердили, что использование композиции, содержащей gE, SLA и SE, значимо увеличивало общую продукцию IgG и продукцию IgG2c. Это означает, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, имеет наибольший эффект профилактики опоясывающего герпеса.

Экспериментальный пример 12: Измерение специфических для антигена gE или VZV опосредованных клетками иммунных ответов (анализ ELISPOT)

Специфические для белка gE, OLP gE или лизата VZV опосредованные клетками иммунные ответы измеряли в соответствии со способом из экспериментального примера 2-2 (анализ ELISPOT IFN- γ), и результаты экспериментов обобщены на фиг. 15, 16 и 17.

Как показано на фиг. 15, когда количество Т-клеток, специфически отвечающих на белок gE, после вторичной иммунизации подтверждали посредством анализа ELISPOT, можно было видеть, что количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ , репрезентативный Th1-цитокин, было значимо увеличенным в группе gE+SLA-SE, по сравнению с группами других адъювантов.

Как показано на фиг. 16, когда количество Т-клеток, специфических для перекрывающегося с gE пептида, после вторичной иммунизации, подтверждали посредством анализа ELISPOT, можно

было видеть, что, подобно результатам из фиг. 15, для композиции, содержащей gE, SLA и SE, показан значимо увеличенный антигенспецифический CMI по сравнению с другими композициями.

Как показано на фиг. 17, когда количество Т-клеток, специфических для полноразмерного VZV, индуцированных посредством стимуляции лизатом VZV, после иммунизации антигеном gE, подтверждали посредством анализа ELISPOT, подтвердили, что количество Т-клеток, секретирующих IFN- γ , специфических для полноразмерного VZV, было увеличенным посредством gE+SLA-SE.

Принимая во внимание результаты из фиг. 15, 16, и 17, подтвердили, что композиция, содержащая gE, SLA и SE, может максимально увеличивать специфический для антигена VZV CMI, так же как специфический для gE CMI, по сравнению с другими композициями. Это означает, что композиция gE+SLA-SE имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса, чем другие композиции.

Экспериментальный пример 13: Подтверждение секреции цитокина IFN- γ в результате стимуляции антигеном gE или антигеном VZV (анализ ELISA IFN- γ)

Эксперимент (анализ ELISA IFN- γ) для подтверждения секреции цитокина IFN- γ в результате стимуляции антигеном gE или антигеном OLP gE проводили в соответствии со способом из экспериментального примера 2-5, и результаты обобщены на фиг. 18 и 19.

Как показано на фиг. 18, при наблюдении количества цитокина IFN- γ , секретированного в результате стимуляции белком gE, после вторичной иммунизации, подтвердили, что количество секретированного IFN- γ , типичного эффекторного Th1-цитокина, в группе gE+SLA-SE было увеличено по сравнению с группами других адъювантов.

Как показано на фиг. 19, при наблюдении количества цитокина IFN- γ , секретированного в результате стимуляции перекрывающимся с gE пептидом, после вторичной иммунизации, подтвердили, что количество секретированного IFN- γ увеличивали посредством

комбинации gE, SLA и SE, по сравнению с группами других адъювантов.

Принимая во внимание результаты из фиг. 18 и 19, композиция, содержащая gE, SLA и SE, увеличивала количество секретированного репрезентативного эффекторного Th1-цитокина, по сравнению с содержащими другие адъюванты композициями, и это означает, что композиция gE+SLA-SE имеет больший эффект профилактики опоясывающего герпеса, чем другие композиции.

Экспериментальный пример 14: Определение оптимального количества SLA-SE, индуцирующего специфическую для VZV иммуногенность

В таблице 2 обобщен дизайн эксперимента для подтверждения оптимального количества SLA-SE, которое может наиболее эффективно индуцировать специфический для антигена VZV опосредованный клетками иммунный ответ (CMI). Живую ослабленную вакцину (LAV, 3000 БОЕ) подкожно инъецировали один раз самкам мышей C57BL/6 и, на сутки 28 после этого, проводили вторичную иммунизацию (иммунизацию). На сутки 56 после примирования LAV, лейкоциты собирали из образцов селезенки для подтверждения опосредованного клетками иммунного ответа (CMI), специфического для VZV.

[Таблица 2]

Группа	Первичная иммунизация (примирование LAV*)	Вторичная иммунизация (иммунизация)		Сутки вторичной иммунизации	Сутки сбора образцов селезенки
		Антиген	Адъювант		
PBS	только PBS	X	X	Сутки 28	Сутки 56
gE	LAV	gE (5 мкг)	X		
gE+SLA 0,2 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (0,2 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 1 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (1 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 2,5 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (2,5 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 5 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (5 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 7,5 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (7,5 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 10 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (10 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 15 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (15 мкг)+SE (2%)		

gE+SLA 20 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (20 мкг)+SE (2%)		
gE+SLA 22,5 мкг	LAV	gE (5 мкг)	SLA (22,5 мкг)+SE (2%)		
*Первичная иммунизация (примирование LAV): Доза 100 мкл/голову. 3000 БОЕ *Вторичная иммунизация (иммунизация): Доза 100 мкл/голову					

Специфический для антигена gE опосредованный клетками иммунный ответ (анализ ELISPOT IFN- γ) измеряли в соответствии со способом из экспериментального примера 2-2, и результаты эксперимента обобщены на фиг. 20.

Специфический для антигена VZV опосредованный клетками иммунный ответ (анализ ELISPOT IFN- γ) измеряли в соответствии со способом из экспериментального примера 2-2, и результаты эксперимента обобщены на фиг. 21.

Принимая во внимание результаты из фиг. 20 и 21, можно было видеть, что оптимальное количество SLA для индукции специфического для антигена VZV опосредованного клетками иммунного ответа лежит в диапазоне 7,5 мкг – 20 мкг.

<110> MOGAM BIOTECHNOLOGY INSTITUTE
 INFECTIOUS DISEASE RESEARCH INSTITUTE

<120> ВАКЦИННАЯ КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВ ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА

<130> 16P01064

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1
 <211> 537
 <212> белок
 <213> Вирус герпеса 3 человека

<400> 1

Met Gly Thr Val Asn Lys Pro Val Val Gly Val Leu Met Gly Phe Gly
 1 5 10 15

Ile Ile Thr Gly Thr Leu Arg Ile Thr Asn Pro Val Arg Ala Ser Val
 20 25 30

Leu Arg Tyr Asp Asp Phe His Thr Asp Glu Asp Lys Leu Asp Thr Asn
 35 40 45

Ser Val Tyr Glu Pro Tyr Tyr His Ser Asp His Ala Glu Ser Ser Trp
 50 55 60

Val Asn Arg Gly Glu Ser Ser Arg Lys Ala Tyr Asp His Asn Ser Pro
 65 70 75 80

Tyr Ile Trp Pro Arg Asn Asp Tyr Asp Gly Phe Leu Glu Asn Ala His
 85 90 95

Glu His His Gly Val Tyr Asn Gln Gly Arg Gly Ile Asp Ser Gly Glu
 100 105 110

Arg Leu Met Gln Pro Thr Gln Met Ser Ala Gln Glu Asp Leu Gly Asp
 115 120 125

Asp Thr Gly Ile His Val Ile Pro Thr Leu Asn Gly Asp Asp Arg His
 130 135 140

Lys Ile Val Asn Val Asp Gln Arg Gln Tyr Gly Asp Val Phe Lys Gly
 145 150 155 160

Asp Leu Asn Pro Lys Pro Gln Gly Gln Arg Leu Ile Glu Val Ser Val
 165 170 175

Glu Glu Asn His Pro Phe Thr Leu Arg Ala Pro Ile Gln Arg Ile Tyr
 180 185 190

Gly Val Arg Tyr Thr Glu Thr Trp Ser Phe Leu Pro Ser Leu Thr Cys
 195 200 205

Thr Gly Asp Ala Ala Pro Ala Ile Gln His Ile Cys Leu Lys His Thr
 210 215 220

Thr Cys Phe Gln Asp Val Val Val Asp Val Asp Cys Ala Glu Asn Thr
 225 230 235 240

Lys Glu Asp Gln Leu Ala Glu Ile Ser Tyr Arg Phe Gln Gly Lys Lys
 245 250 255

Glu	Ala	Asp	Gln	Pro	Trp	Ile	Val	Val	Asn	Thr	Ser	Thr	Leu	Phe	Asp	260	265	270
Glu	Leu	Glu	Leu	Asp	Pro	Pro	Glu	Ile	Glu	Pro	Gly	Val	Leu	Lys	Val	275	280	285
Leu	Arg	Thr	Glu	Lys	Gln	Tyr	Leu	Gly	Val	Tyr	Ile	Trp	Asn	Met	Arg	290	295	300
Gly	Ser	Asp	Gly	Thr	Ser	Thr	Tyr	Ala	Thr	Phe	Leu	Val	Thr	Trp	Lys	305	310	315
Gly	Asp	Glu	Lys	Thr	Arg	Asn	Pro	Thr	Pro	Ala	Val	Thr	Pro	Gln	Pro	325	330	335
Arg	Gly	Ala	Glu	Phe	His	Met	Trp	Asn	Tyr	His	Ser	His	Val	Phe	Ser	340	345	350
Val	Gly	Asp	Thr	Phe	Ser	Leu	Ala	Met	His	Leu	Gln	Tyr	Lys	Ile	His	355	360	365
Glu	Ala	Pro	Phe	Asp	Leu	Leu	Leu	Glu	Trp	Leu	Tyr	Val	Pro	Ile	Asp	370	375	380
Pro	Thr	Cys	Gln	Pro	Met	Arg	Leu	Tyr	Ser	Thr	Cys	Leu	Tyr	His	Pro	385	390	395
Asn	Ala	Pro	Gln	Cys	Leu	Ser	His	Met	Asn	Ser	Gly	Cys	Thr	Phe	Thr	405	410	415
Ser	Pro	His	Leu	Ala	Gln	Arg	Val	Ala	Ser	Thr	Val	Tyr	Gln	Asn	Cys	420	425	430
Glu	His	Ala	Asp	Asn	Tyr	Thr	Ala	Tyr	Cys	Leu	Gly	Ile	Ser	His	Met	435	440	445
Glu	Pro	Ser	Phe	Gly	Leu	Ile	Leu	His	Asp	Gly	Gly	Thr	Thr	Leu	Lys	450	455	460
Phe	Val	Asp	Thr	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Gly	Leu	Tyr	Val	Phe	Val	Val	465	470	475
Tyr	Phe	Asn	Gly	His	Val	Glu	Ala	Val	Ala	Tyr	Thr	Val	Val	Ser	Thr	485	490	495
Val	Asp	His	Phe	Val	Asn	Ala	Ile	Glu	Glu	Arg	Gly	Phe	Pro	Pro	Thr	500	505	510
Ala	Gly	Gln	Pro	Pro	Ala	Thr	Thr	Lys	Pro	Lys	Glu	Ile	Thr	Pro	Val	515	520	525
Asn	Pro	Gly	Thr	Ser	Pro	Leu	Leu	Arg								530	535	

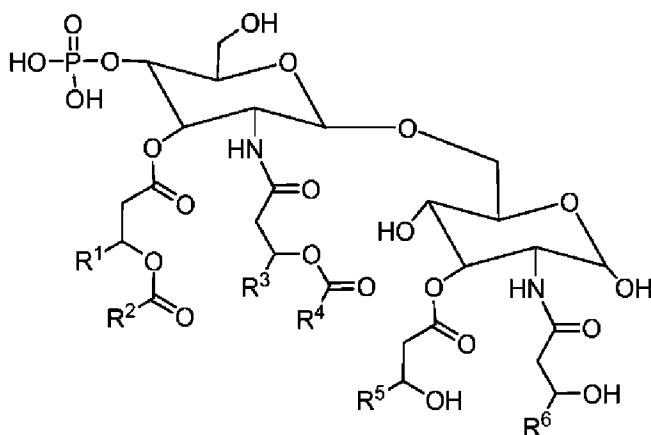
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вакцинная композиция против ветряной оспы или опоясывающего герпеса, содержащая:

гликопротеин Е из вируса ветряной оспы - опоясывающего герпеса;

глюкопиранозильный липидный адъювант следующей формулы 1; и поддающееся метаболизму масло:

[Формула 1]



, где

каждый из R^1 , R^3 , R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{10} - C_{12} алкил; и каждый из R^2 и R^4 независимо представляют собой C_8 - C_{14} алкил.

2. Вакцинная композиция по п.1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант представляет собой адъювант формулы 1, где R^1 , R^3 , R^5 и R^6 представляют собой C_{11} алкил.

3. Вакцинная композиция по п.1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант представляет собой адъювант формулы 1, где R^2 и R^4 представляют собой C_{13} алкил.

4. Вакцинная композиция по п.1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант представляет собой адъювант формулы 1, где R^2 и R^4 представляют собой C_9 алкил.

5. Вакцинная композиция по п.1, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант содержится в количестве 7,5 мкг - 20 мкг в однократной дозе вакцинной композиции.

6. Вакцинная композиция по п.5, в которой глюкопиранозильный липидный адъювант содержится в количестве 9 мкг - 18 мкг в однократной дозе вакцинной композиции.

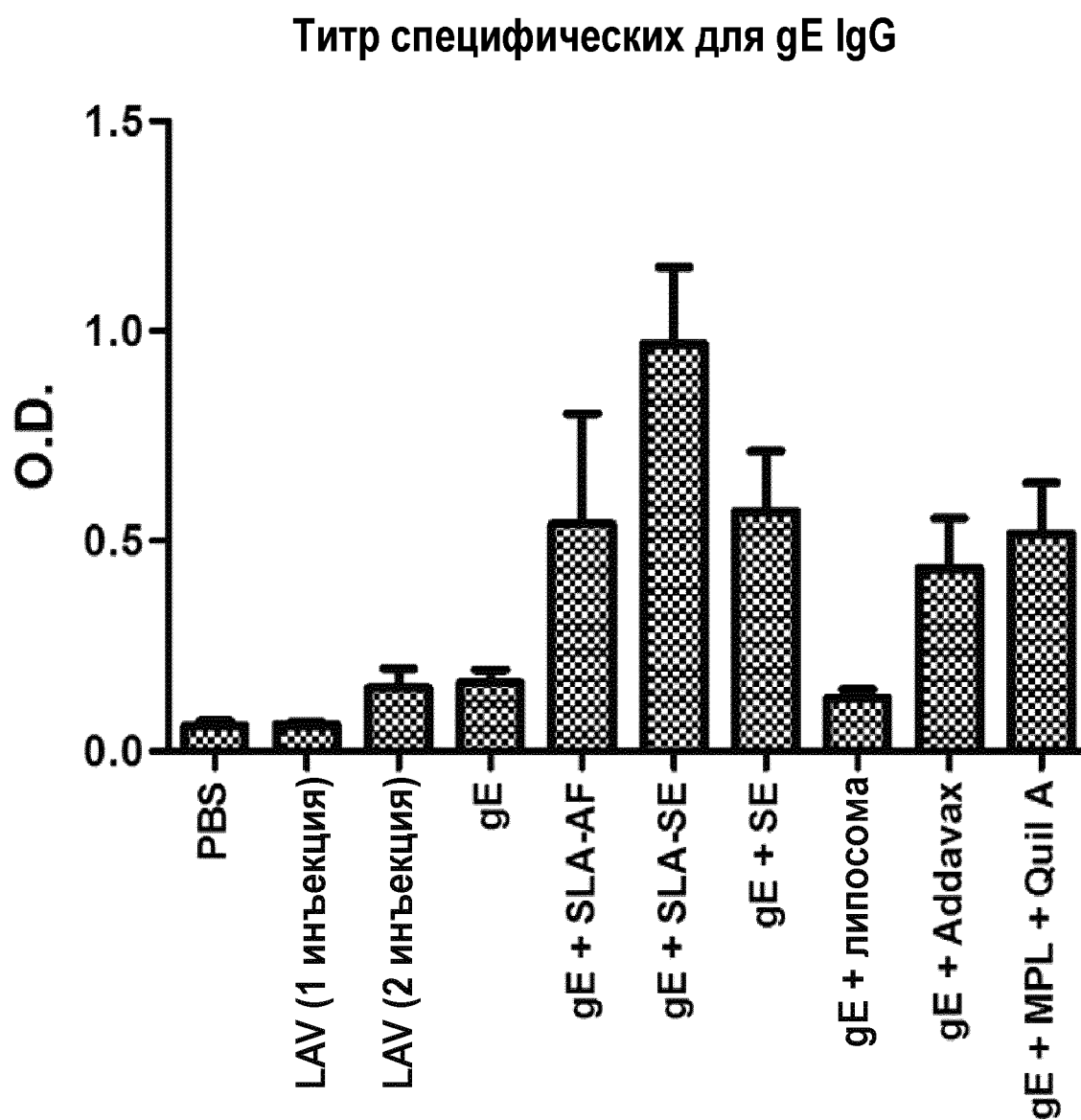
7. Вакцинная композиция по п.1, в которой поддающееся метаболизму масло представляет собой сквален.

8. Вакцинная композиция по п.7, в которой сквален содержится в количестве 1% (об./об.) - 7% (об./об.) от всей вакцинной композиции.

9. Вакцинная композиция по п.8, в которой сквален содержится в количестве 1% (об./об.) - 4% (об./об.) от всей вакцинной композиции.

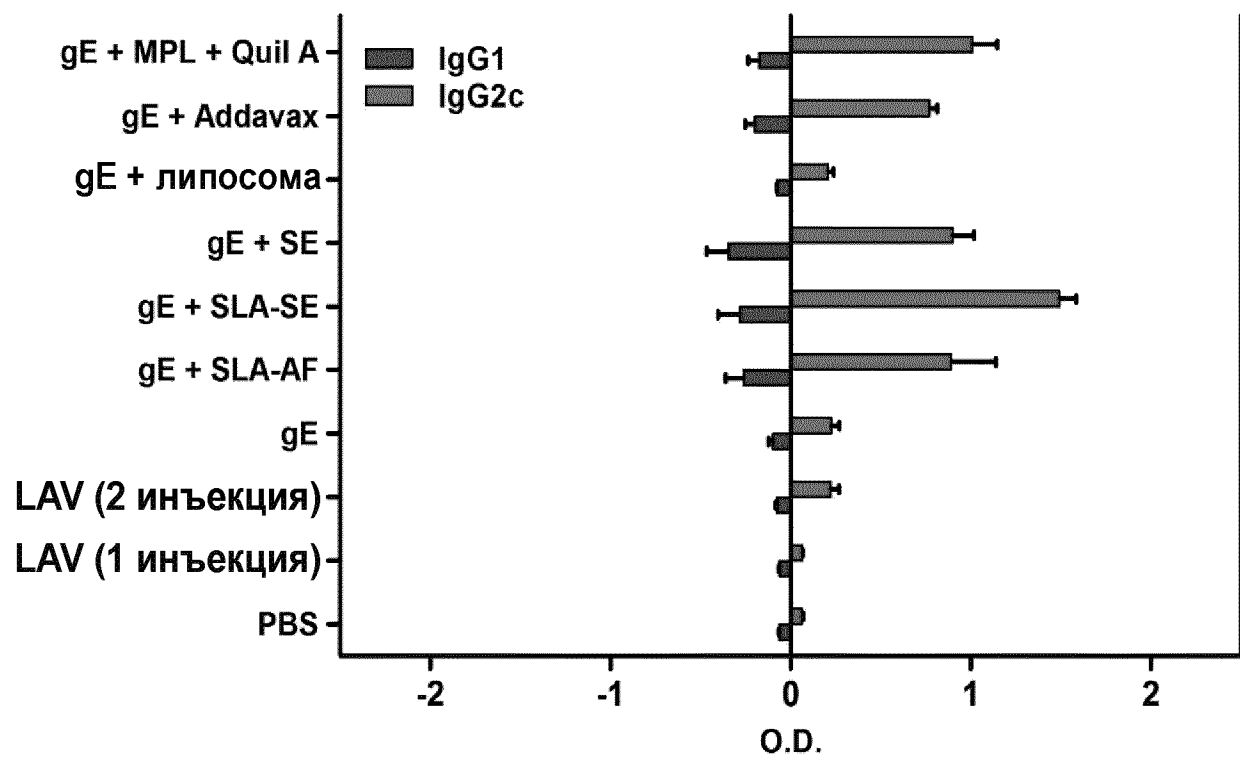
10. Вакцинная композиция по п.1, в которой гликопротеин Е содержится в количестве 5 мкг - 100 мкг в однократной дозе вакцинной композиции.

ФИГ.1



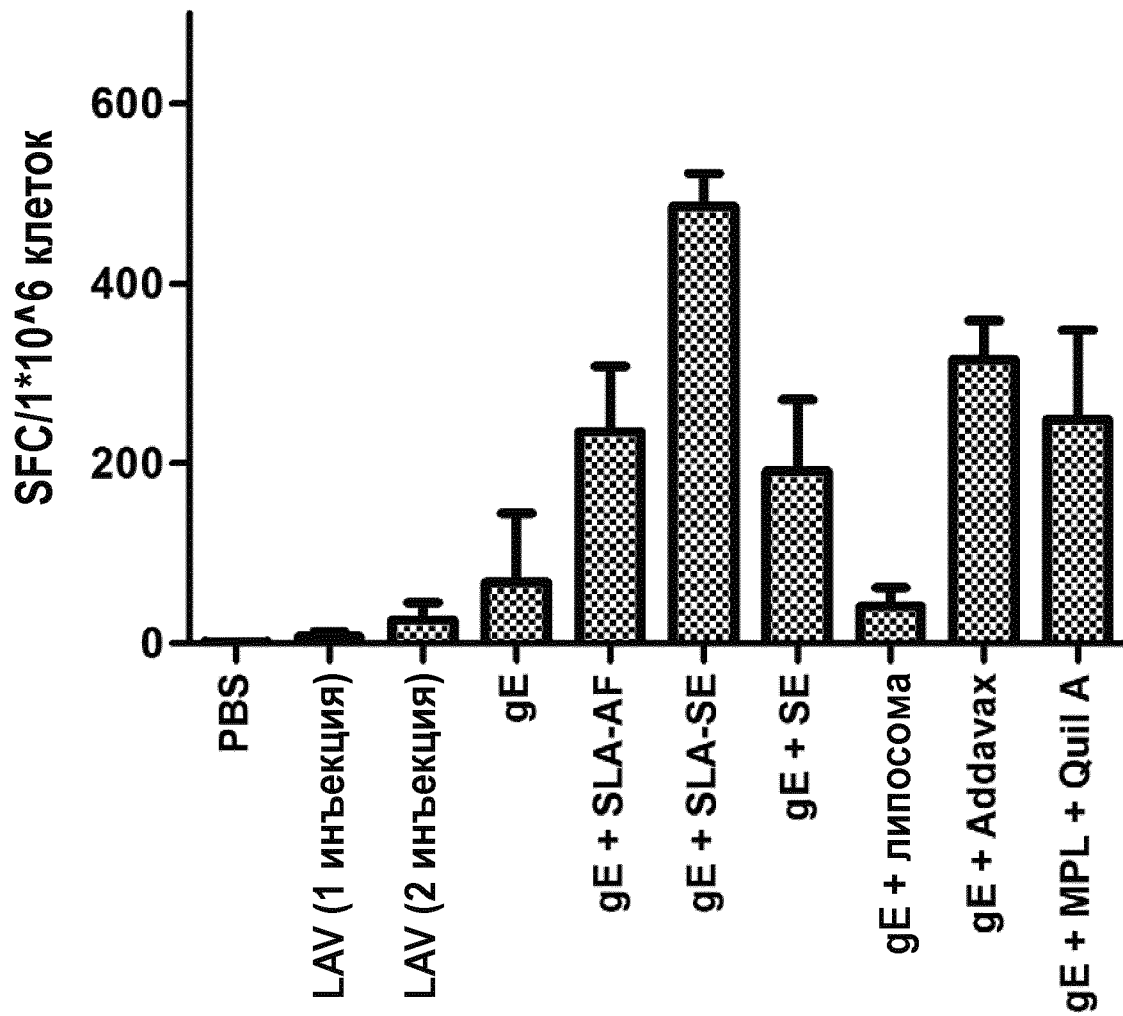
ФИГ.2

Титр специфических для gE IgG1/IgG2c



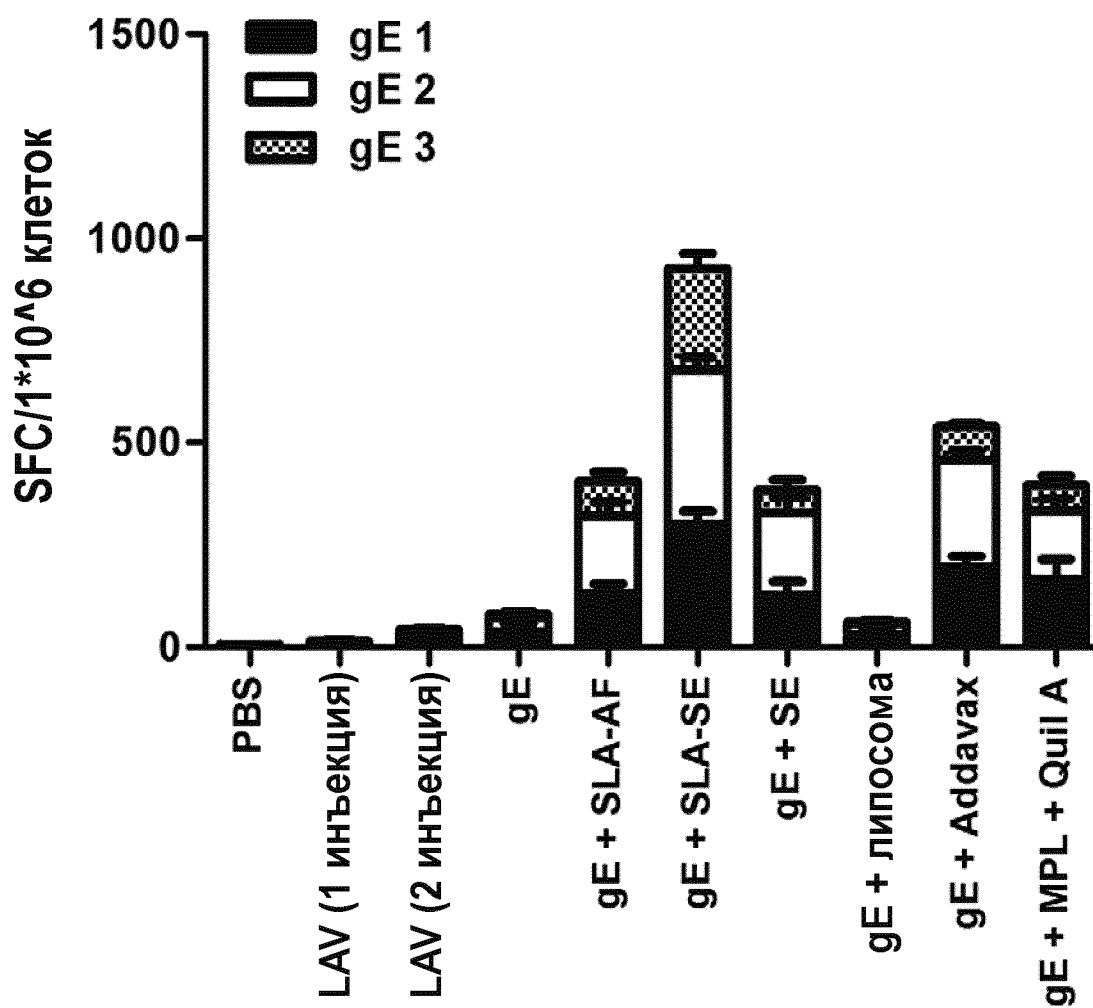
ФИГ.3

Стимуляция белком gE



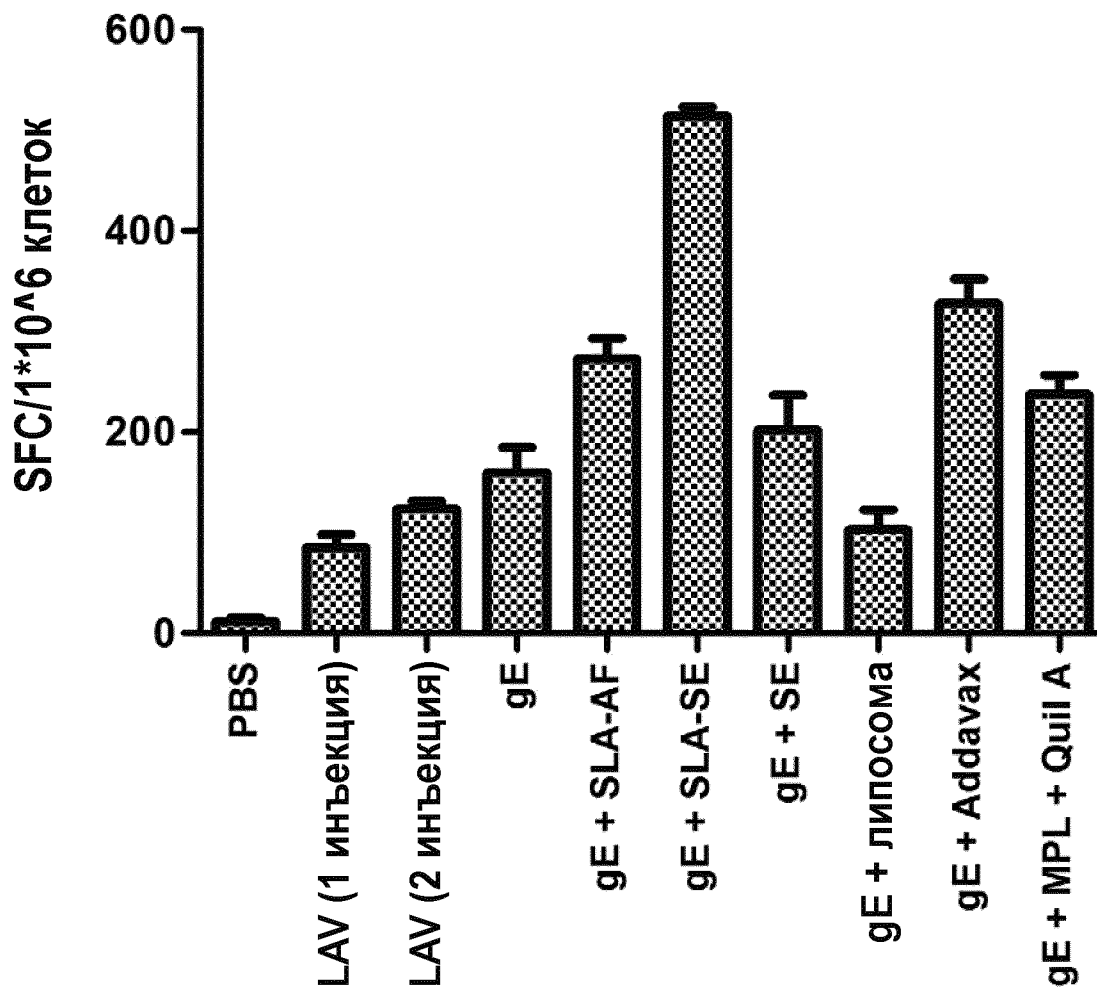
ФИГ.4

Стимуляция OLP gE

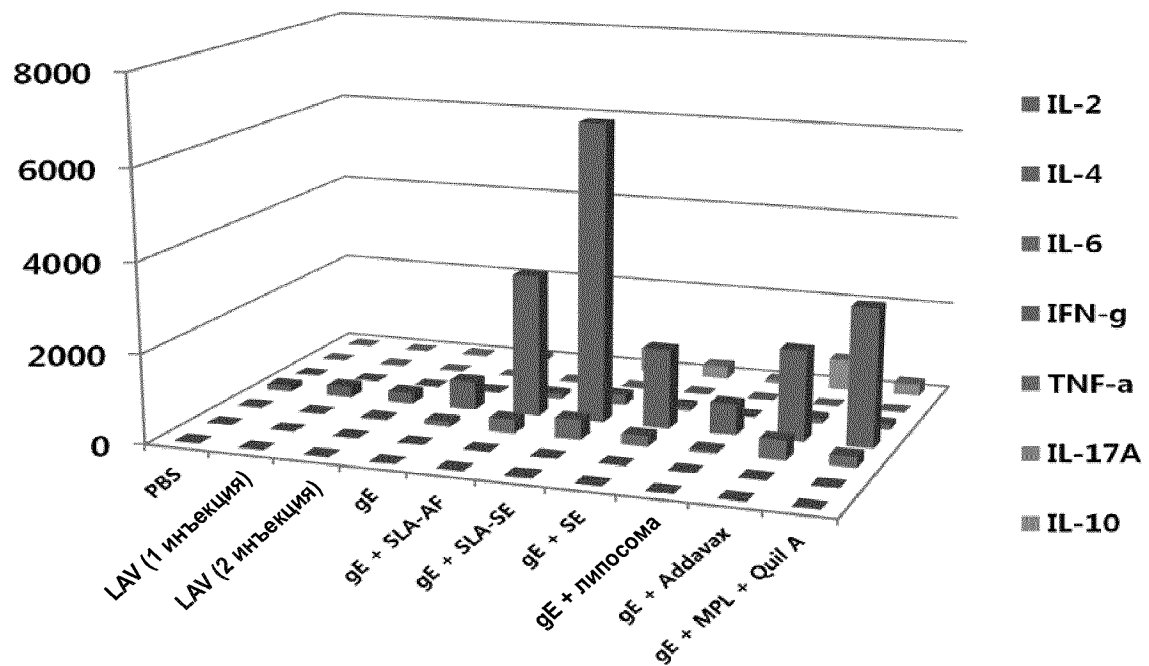


ФИГ.5

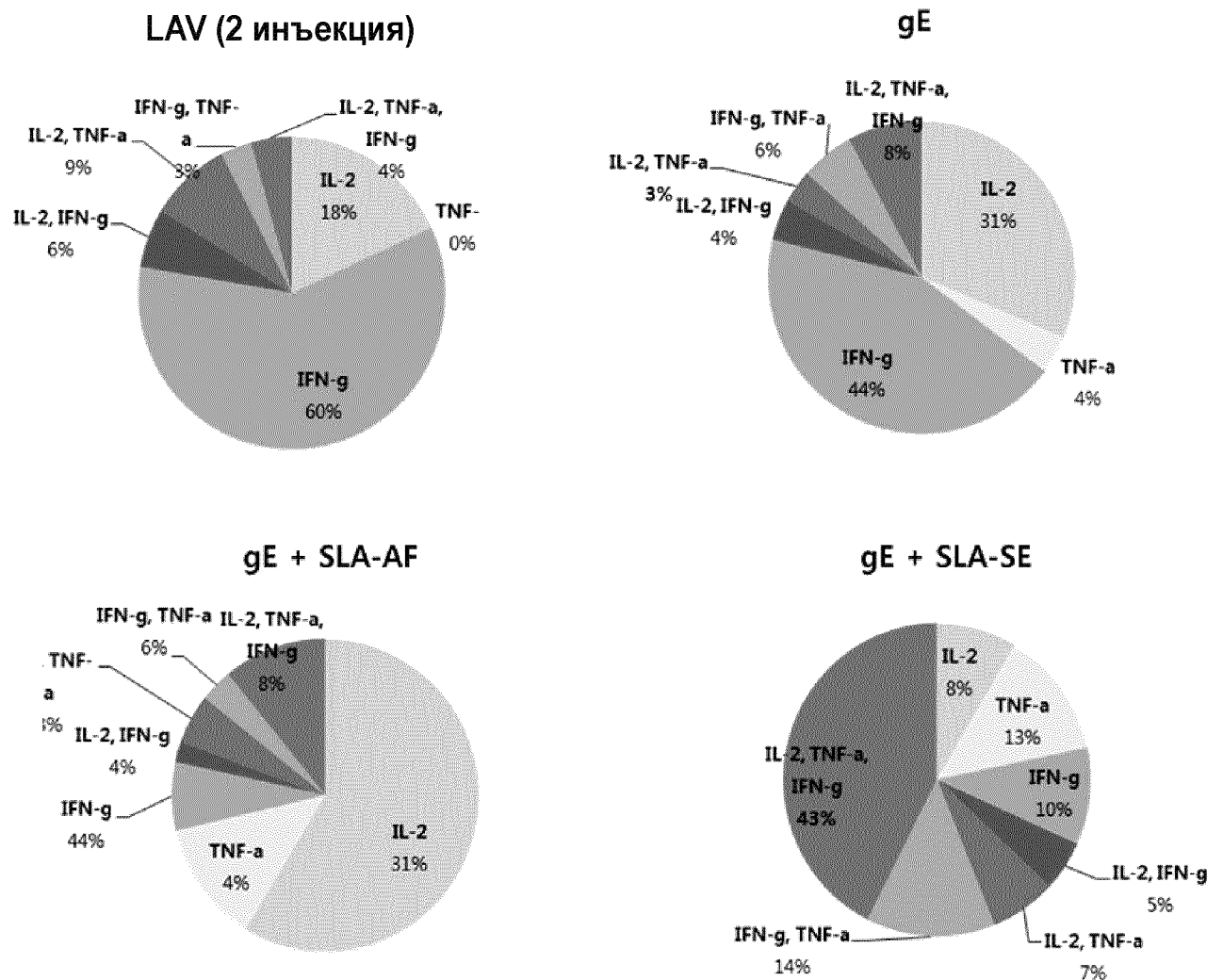
Стимуляция лизатом VZV



ФИГ.6

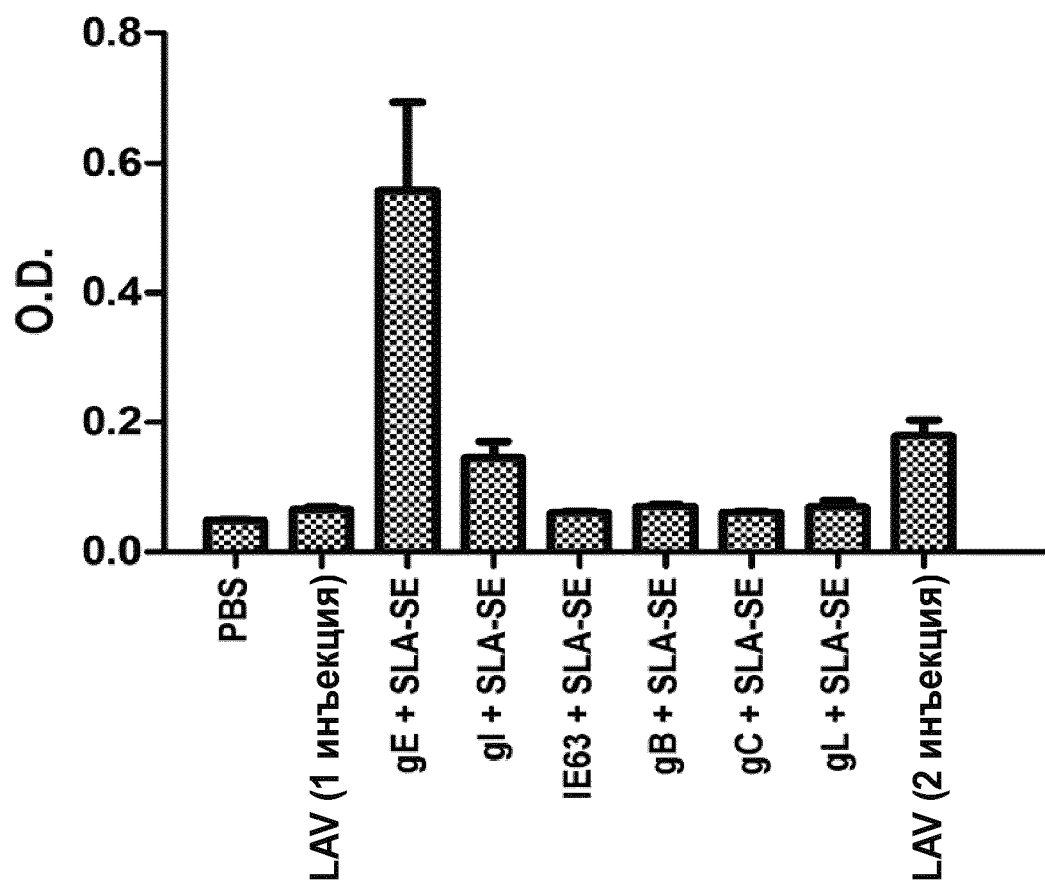


ФИГ.7



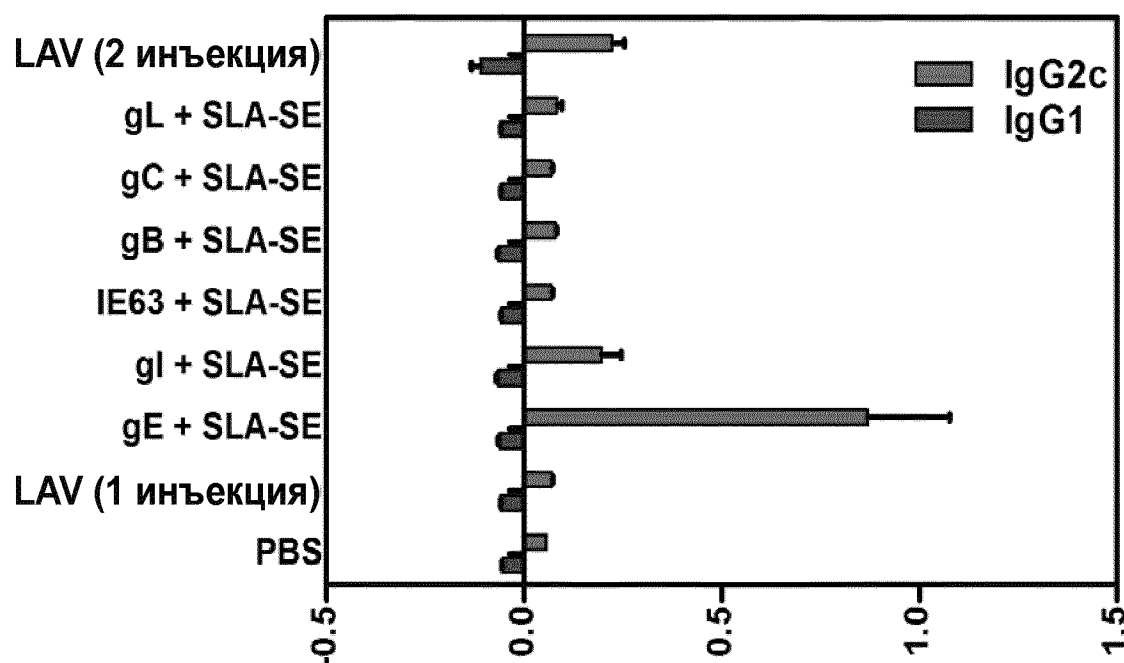
ФИГ.8

Титр специфических для VZV IgG

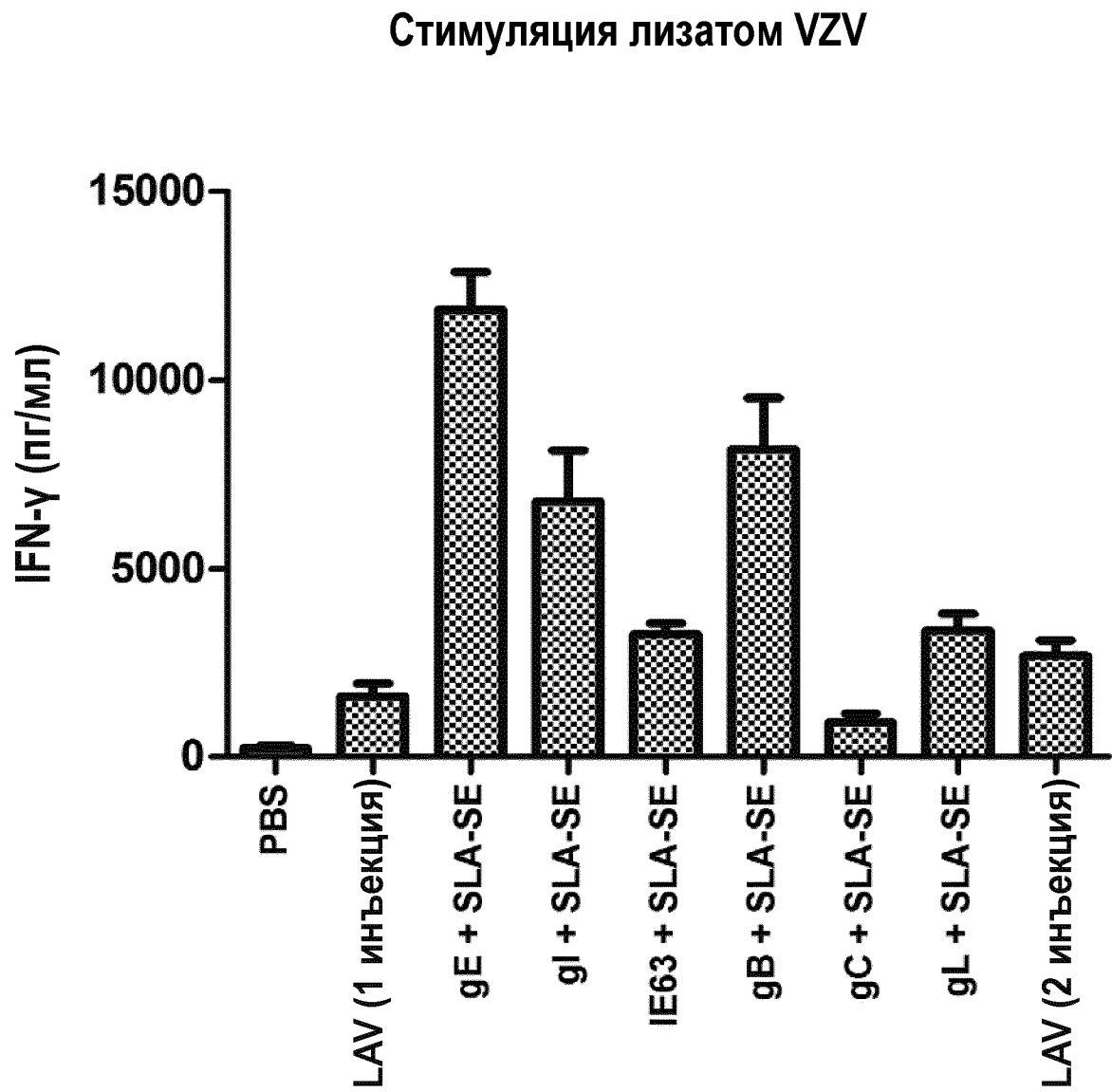


ФИГ.9

Титр специфических для VZV IgG1/IgG2c

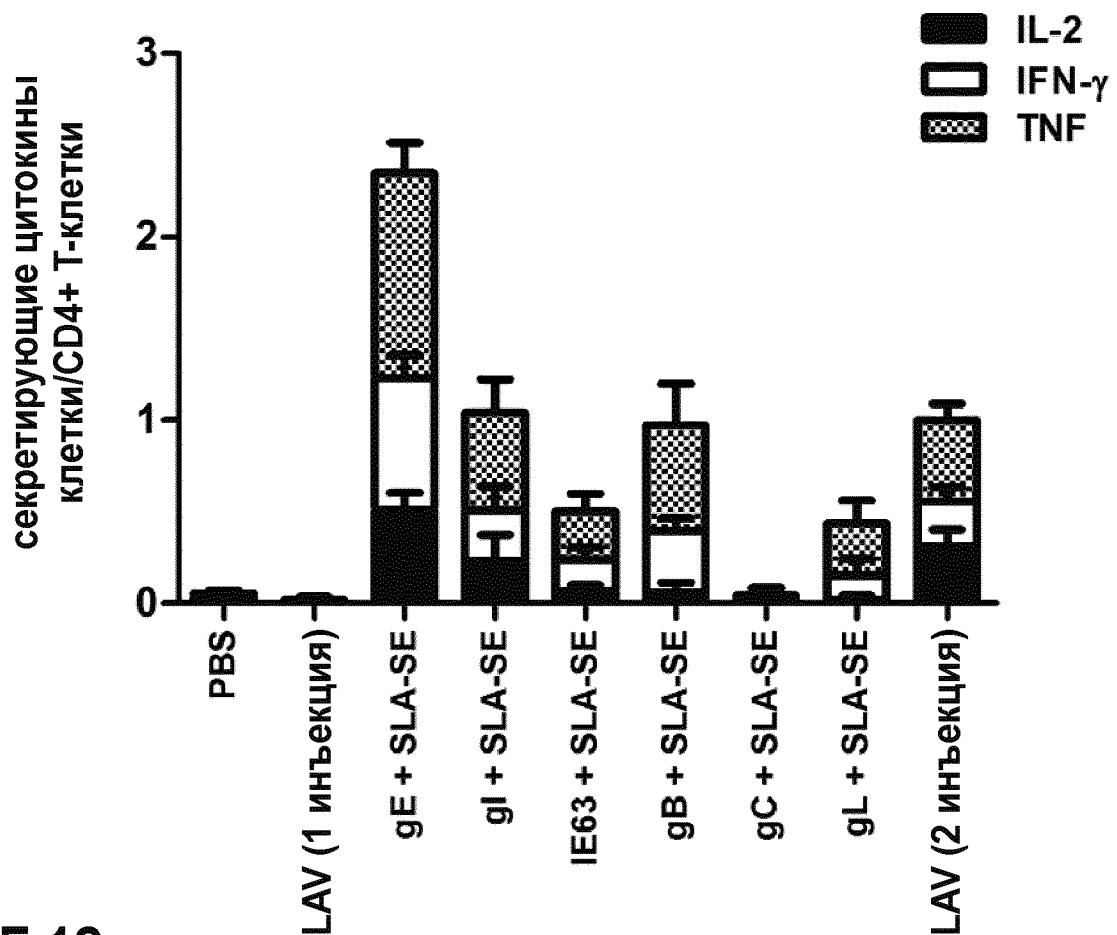


ФИГ.10



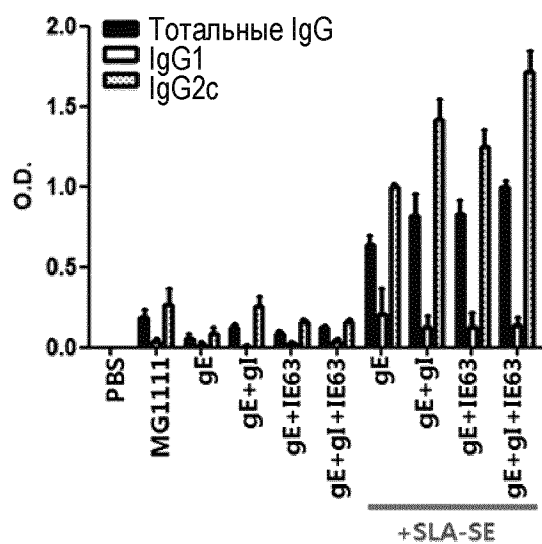
ФИГ.11

Стимуляция лизатом VZV

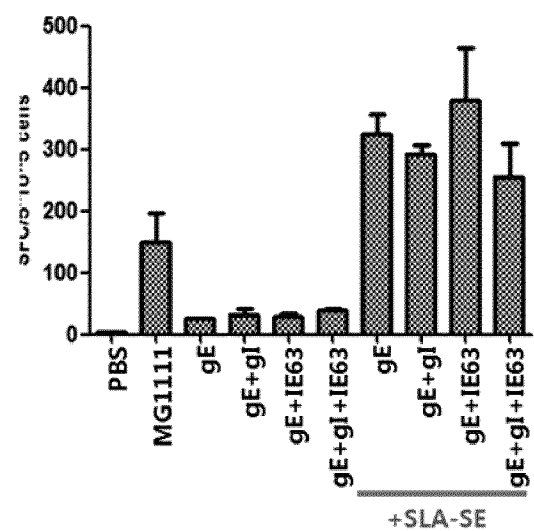


ФИГ.12

Титр специфических для VZV IgG

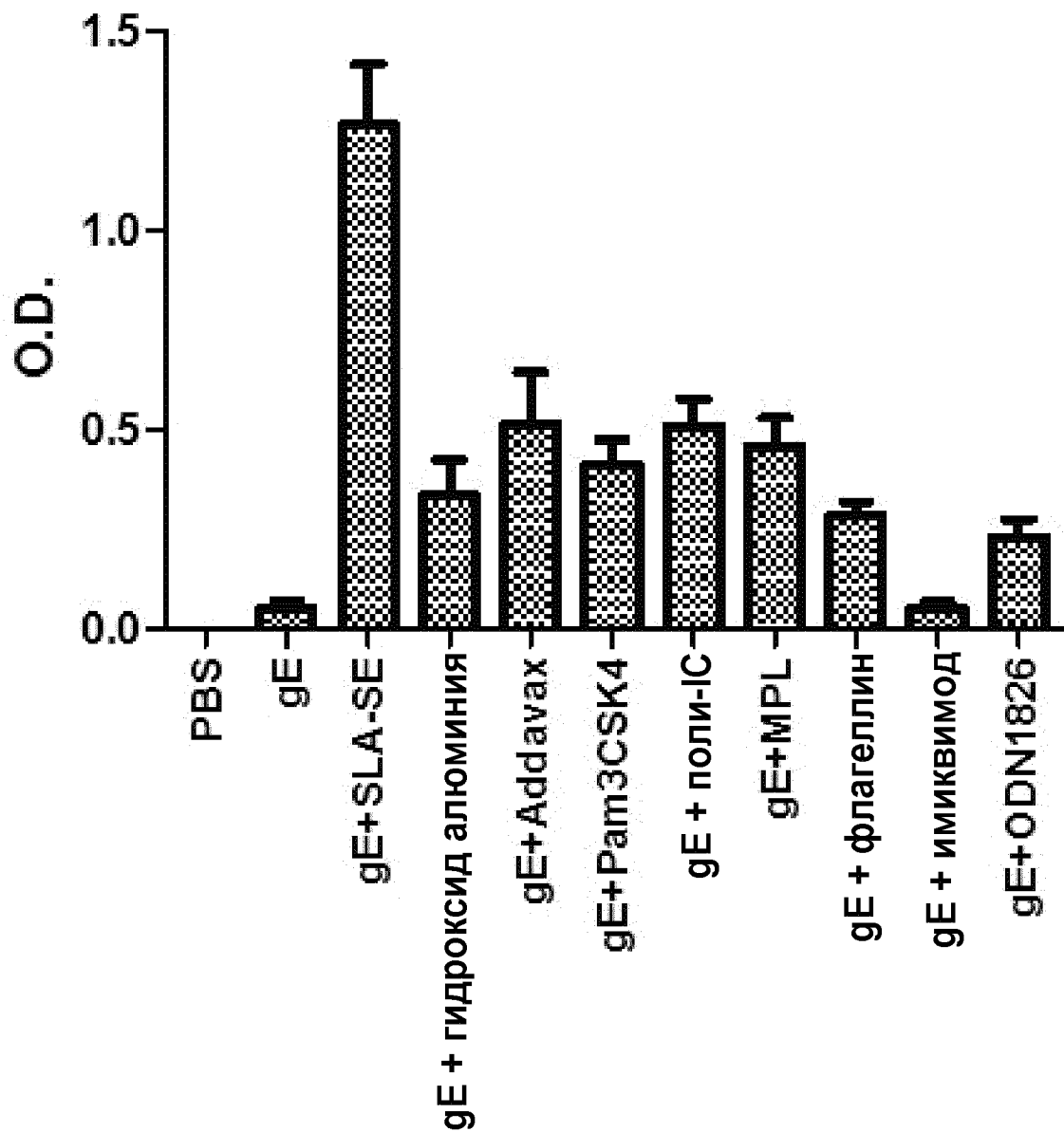


Стимуляция лизатом VZV

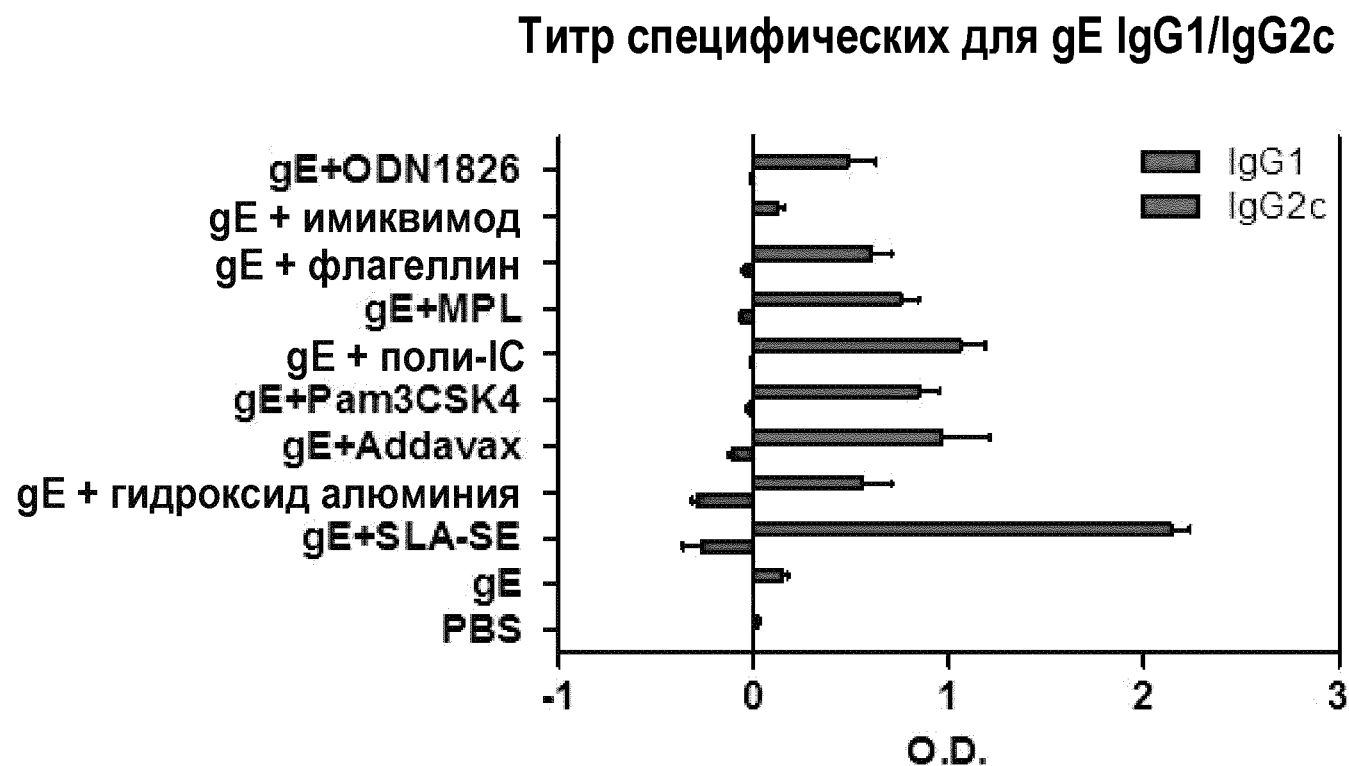


ФИГ.13

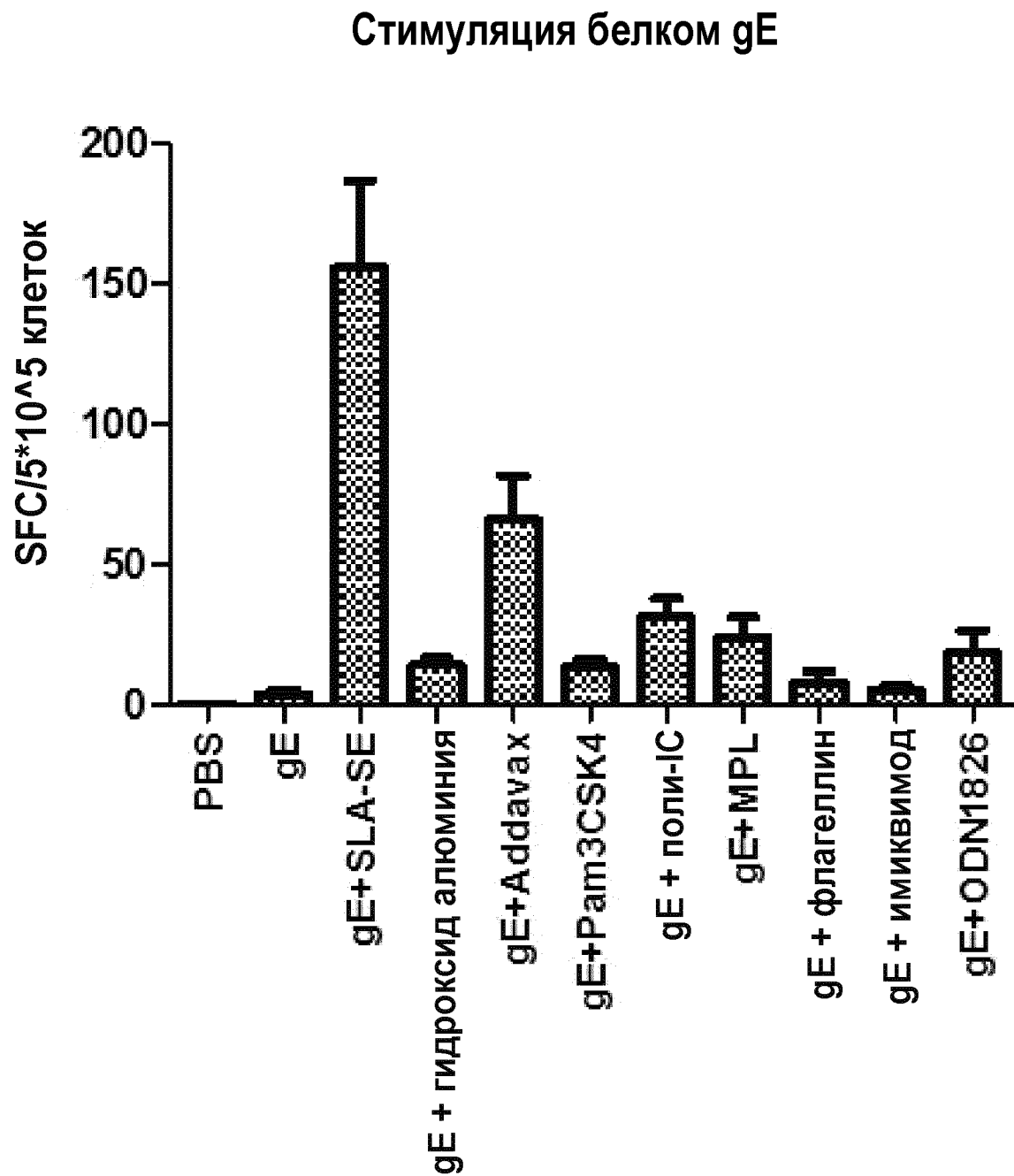
Титр специфических для gE IgG



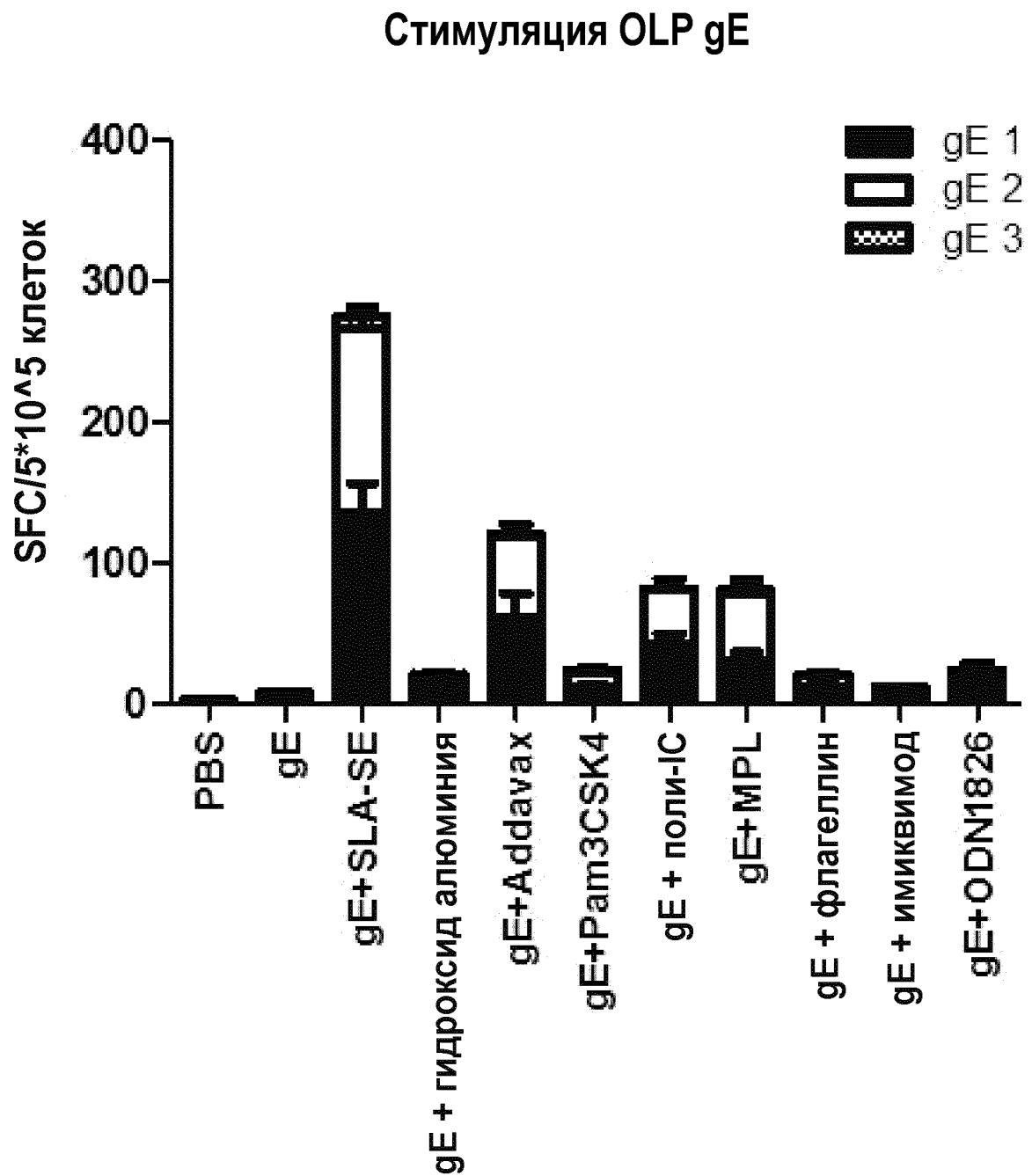
ФИГ.14



ФИГ.15

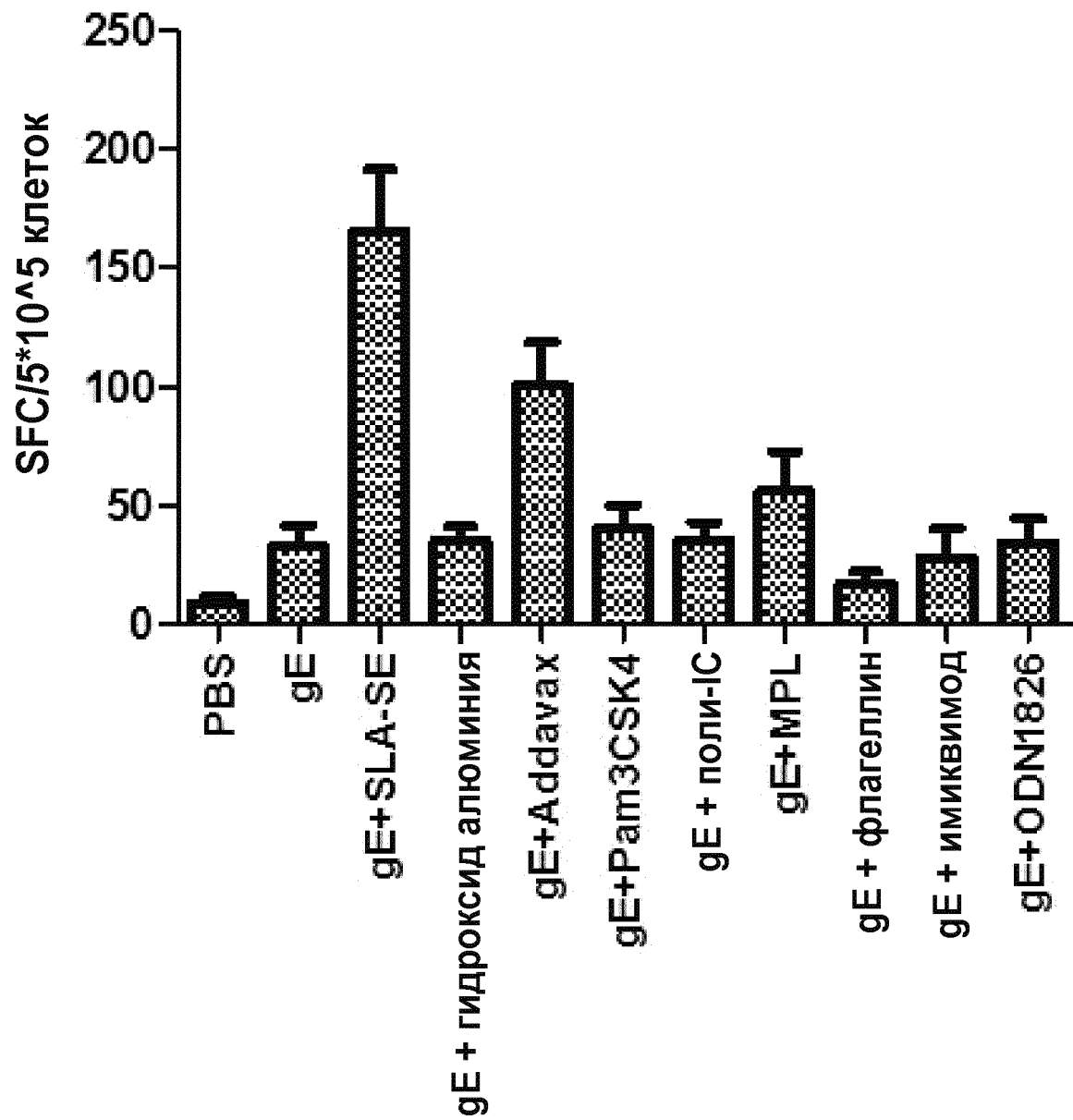


ФИГ.16



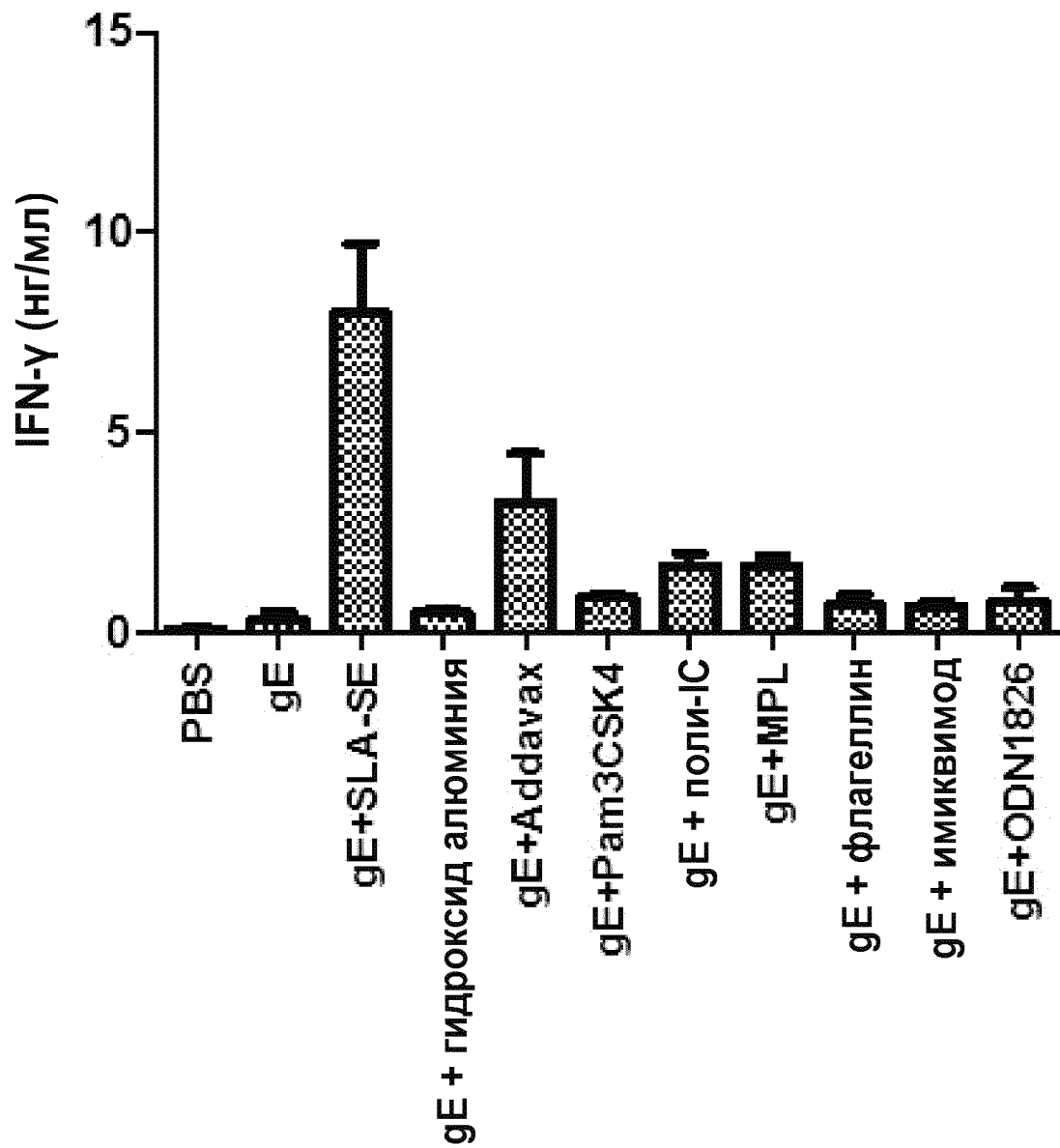
ФИГ.17

Стимуляция лизатом VZV

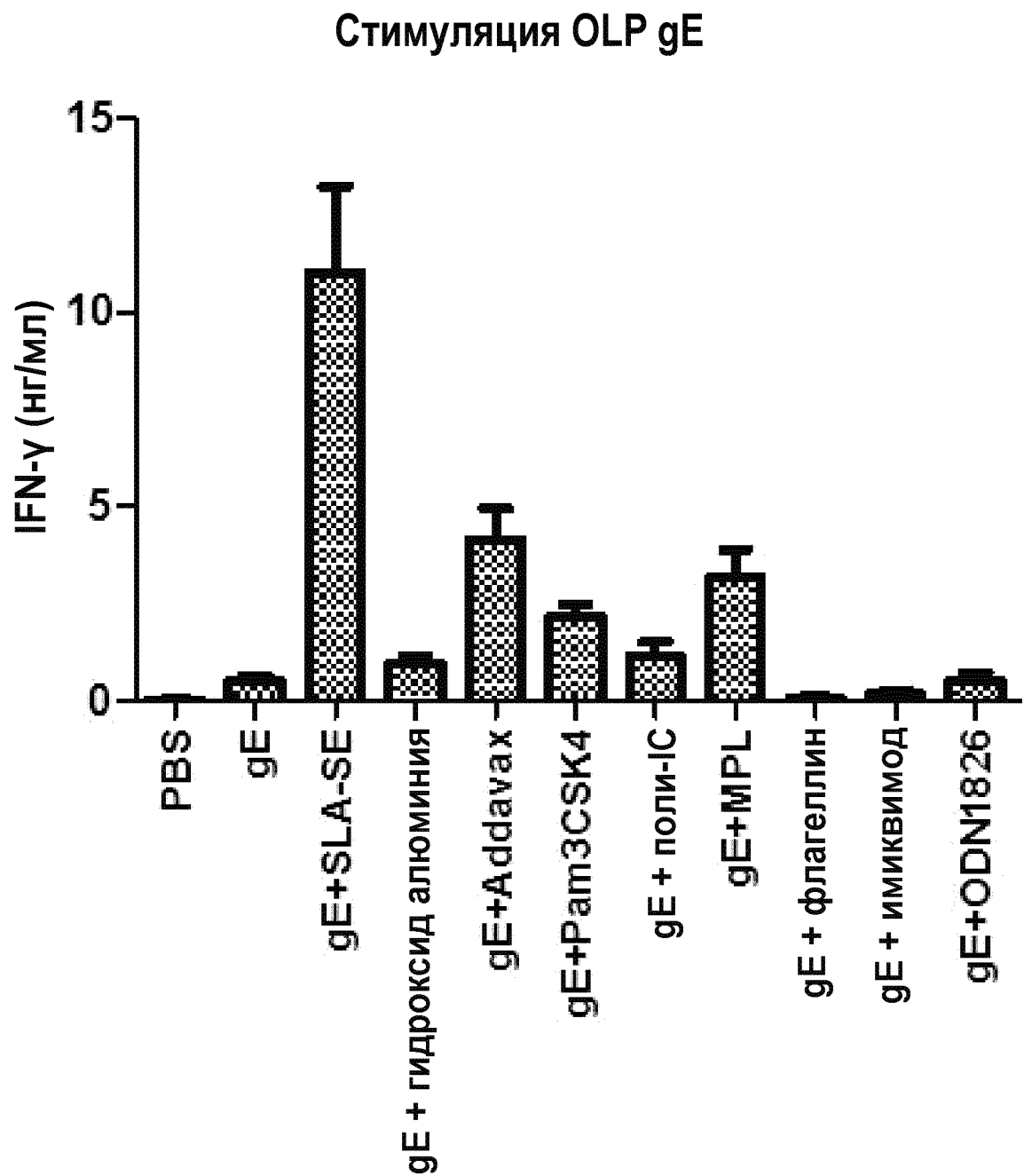


ФИГ.18

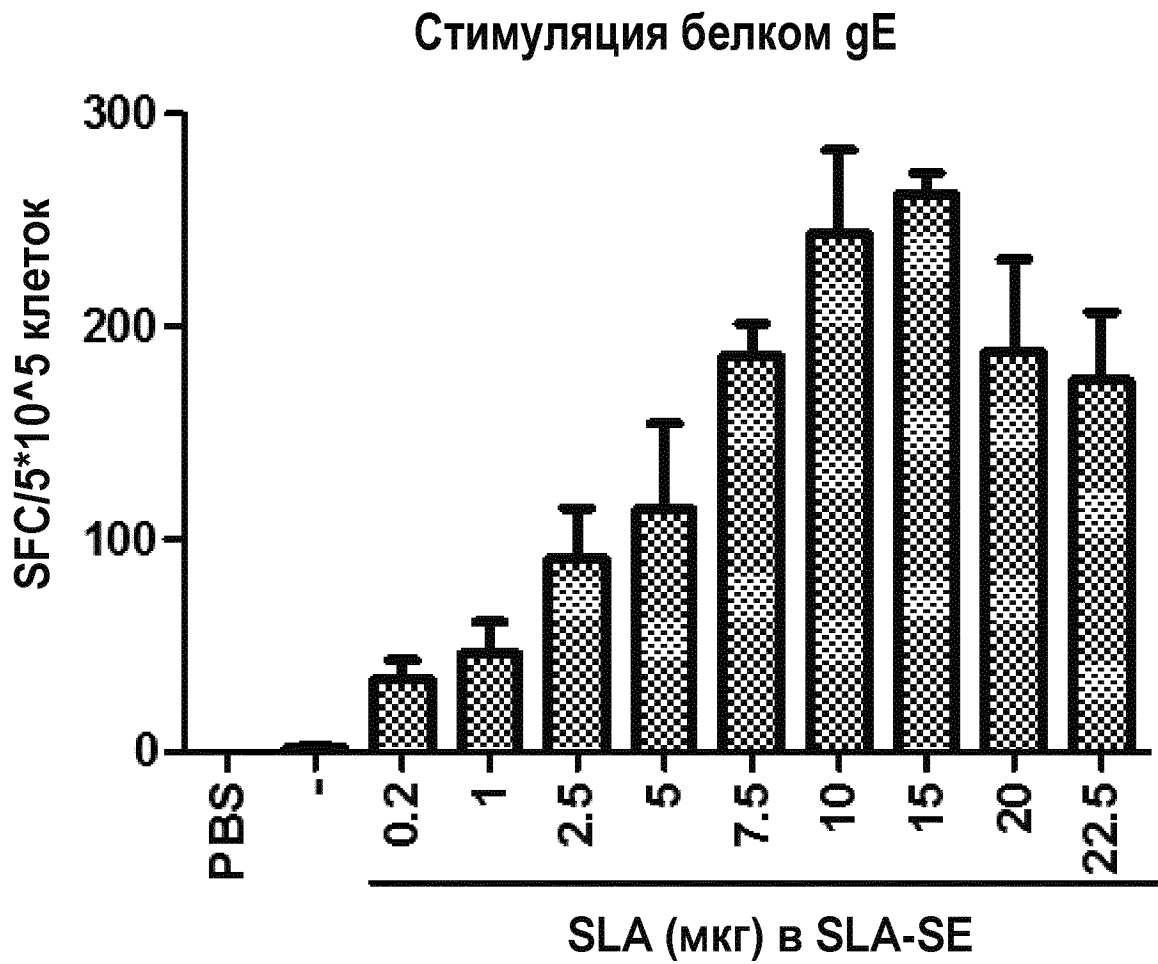
Стимуляция белком gE



ФИГ.19



ФИГ.20



ФИГ.21

