

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202091958** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2021.02.04

(51) Int. Cl. *C12N 15/863* (2006.01)  
*C12N 5/16* (2006.01)  
*A61K 39/155* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2019.02.20

---

(54) **РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ  
ЭКЗОГЕННЫЕ ГЕНЫ КОШАЧЬЕГО ПАРАМИКСОВИРУСА, И ВАКЦИНЫ,  
ПРИГОТОВЛЕННЫЕ ИЗ НИХ**

---

(31) 18158450.9

(32) 2018.02.23

(33) EP

(86) PCT/EP2019/054151

(87) WO 2019/162294 2019.08.29

(71) Заявитель:

**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ  
ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE);  
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ  
ЭНИМАЛ ХЕЛС Ю-ЭС-ЭЙ ИНК.  
(US)**

(72) Изобретатель:

**Пуле Эрве, Николин Велько (DE),  
Де Смит Абрахам Йоханнес (NL),  
Мебацион Тешоме (US)**

(74) Представитель:

**Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,  
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов  
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,  
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к экзогенным генам кошачьего парамиксовируса, которые экспрессируются из рекомбинантных вирусных векторных систем.

---

**A1**

**202091958**

**202091958**

**A1**

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ,  
ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ ЭКЗОГЕННЫЕ ГЕНЫ КОШАЧЬЕГО  
5 ПАРАМИКСОВИРУСА, И ВАКЦИНЫ, ПРИГОТОВЛЕННЫЕ ИЗ НИХ

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0001] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей в соответствии с 37 C.F.R. 1.821 – 1.825. Перечень последовательностей, сопровождающий настоящую заявку, таким образом полностью включен в нее путем ссылки.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

А. Область техники, к которой относится изобретение

15 [0002] Настоящее изобретение относится к области (векторных) вакцин, и специфически к экзогенным генам кошачьего парамиксовируса, которые экспрессируются из рекомбинантных вирусных векторных систем. Кроме того, настоящее изобретение относится к вакцинам кошачьего парамиксовируса на основе рекомбинантного вирусного вектора.

20 В. Предпосылки и описание предшествующего уровня техники

[0003] Кошачьи парамиксовирусы

[0004] Парамиксовирусы представляют собой оболочечные, отрицательно-полярные одноцепочечные РНК [(-)оцРНК] вирусы, связанные со многими инфекционными болезнями людей и животных. Существует два подсемейства парамиксовирусов, Paramyxovirinae и Pneumovirinae, и как минимум пять родов в пределах подсемейства Paramyxovirinae: Respirovirus, Rubulavirus, Morbillivirus, Henipavirus и Avulavirus. Примерами парамиксовирусов могут быть вирус собачьей чумки, вирус кори, вирус чумы, вирус свинки и вирусы парагриппа человека. Парамиксовирусы имеют линейный геном, кодирующий 30 семь вирусных полипептидов: нуклеокапсидный белок, фосфопротеин, матриксный белок, слитый белок, гемагглютининовый белок и полимеразы. Вирионы парамиксовируса являются оболочечными и могут быть сферическими, филаментными или плейоморфными, с диаметром около 150 нм. Слитые белки и

стыковочные белки (гемагглютинин, “Н”) выглядят как зубцы на поверхности вириона. Матриксные белки (“М”) внутри оболочки стабилизируют структуру вируса. Нуклеокапсидное ядро состоит из геномной РНК, нуклеокапсидных белков (“N”), фосфопротеинов (“Р”) и полимеразных белков (“L” для “большого белка”). Слитый белок (“F”) выступает от поверхности оболочки как тример и опосредует проникновение в клетку путем вызывания слияния между вирусной оболочкой и клеточной мембраной.

**[0005]** Парамиксовирусы, например, были выделены из организма диких или домашних животных, включая кошек, грызунов и летучих мышей, а также человека. Парамиксовирусные инфекции, в частности, вызванные представителями подсемейства *Paramyxovirinae*, связаны с заболеваниями почек из-за повреждения почечной ткани, демонстрируемого у разных видов. Заболевание почек, в частности, хроническое заболевание почек (CKD), например, относится к наиболее распространенным заболеваниям и является одной из наиболее частых причин смерти у домашних кошек, в особенности у старших особей. Авторы публикации Lulich и др. (*Compendium on continuing education for the practicing veterinarian* (1992) 14(2): 127 - 152) сообщают о распространенности хронического заболевания почек приблизительно 1,5 % среди общей популяции домашних кошек и приблизительно 7,5 % среди домашних кошек старше 10 лет. Причины этих заболеваний могут быть очень различными. Во многих случаях точная этиология не поддается определению. С другой стороны, известно, что хроническое заболевание почек часто случается в результате воспаления почечных канальцев и почечной интерстициальной ткани. Оно называется идиопатическим тубулоинтерстициальным нефритом (TIN).

**[0006]** В публикациях существующего уровня техники было описано несколько кошачьих парамиксовирусов. В публикациях US 2013/0230529 A1 (WO 2013/107290 A1) и Woo и др. (*Proc. Nat. Acad. Sci.* (2012) 109(14): 5435 - 5440) описывается выделенный в Гонконге кошачий морбилливирус (FmоPV), связанный с TIN у домашних кошек. Другие исследовательские группы из Японии (Sakaguchi и др. (2014) *General Virology*, 95(7), 1464 - 1468; Furuya и др. (2014) *Archives of virology*, 159(2), 371 - 373), Italy (Lorusso и др. (2013) *Vet Ital.* 51(3): 235 - 237) и США (Sharp и др. (2016) *Emerging Infectious Diseases* 22(4): 760) также обнаружили парамиксовирусы в образцах мочи кошек. В публикации

Sieg и др. (*Virus Genes* (2015) 51(2): 294 - 297) описывается обнаружение кошачьих парамиксовирусов у домашних кошек с хроническим заболеванием почек.

5 [0007] Дальнейшим уровнем техники в этом отношении являются следующие источники: JP 2015 198654 А относится к средствам выделения / идентификации нового штамма кошачьего морбилливируса и эффективного профилактического средства против инфекции, вызванной кошачьим морбилливирусом. Marcacci M и др. (*Journal of Virological Methods* 2016, 234: 160-163) описали характеристику генома кошачьего морбилливируса из  
10 Италии.

[0008] Вирусные векторные системы

[0009] Вирусные векторные системы поксвируса птиц основаны на поксвирусах птиц, которые представляют собой встречающиеся в природе ограниченные хозяевами поксвирусы. Среди этих поксвирусов птиц был  
15 сконструирован вирус оспы канареек (CPV) для экспрессии чужеродных, гетерологичных, внешних, экзогенных генных продуктов (Taylor J и др., *Vaccine* 1991, 9(3): 190-193; Taylor J и др., *Virology* 1992, 187(1): 321-328; Taylor J и др., *Dev Biol Stand* 1994, 82: 131-135).

[0010] Рекомбинантные поксвирусы могут быть сконструированы за два  
20 этапа, как известно в данной области техники, и аналогично способам создания синтетических рекомбинантов поксвирусов, таких как вирус осповакцины и поксвирус птиц, описанные в патентах US №№ 4,769,330; 4,722,848; 4,603,112; 5,110,587; 5,174,993; 5,494,807; и 5,505,941, раскрытие которых включено в настоящую заявку путем ссылки.

25 [0011] Специфически, ALVAC представляет собой сконструированный поксвирусный вектор, имеющий происхождение из вируса оспы канареек (например, US 5,756,103). ALVAC представляет собой вектор на основе аттенуированного вируса оспы канареек, который представляет собой клонированное у бактерий производное человеческой вакцины оспы  
30 канареек, Канарох. Также было показано, что ALVAC-основанные рекомбинантные вирусы, экспрессирующие внешние иммуногены, являются эффективными в качестве вакцинных векторы (см., например, Tartaglia J и др., *J Virology* 1993, 67(4): 2370-2375). Этот вектор оспы птиц ограничен

видами птиц для продуктивной репликации и не реплицируется продуктивно у хозяев, отличающихся от птиц, характеристика, которая, как полагают, улучшает его профиль безопасности. На культурах клеток человека, репликация вируса оспы канареек прекращается рано в цикле репликации вируса перед синтезом вирусной ДНК. Несмотря на это, при конструировании для экспрессии внешних иммуногенов, наблюдается аутентичная экспрессия и процессинг *in vitro* в клетках млекопитающих и инокуляция в различных видах млекопитающих индуцирует гуморальный и клеточный иммунные ответы на внешний иммуноген и обеспечивает защиту от заражения когнатным патогеном (Taylor J и др., Vaccine 1991, 9(3): 190-193; Taylor J и др., Virology 1992, 187(1): 321-328). ALVAC был задепонирован на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа VR-2547 (US 5,756,103, раскрытие которого включено в настоящую заявку путем ссылки).

[0012] TROVAC относится к аттенуированному вирусному вектору оспы, который представляет собой клонированный в бактериях изолят, имеющий происхождение из FP1-вакцинного штамма вируса оспы кур, который лицензирован для вакцинации цыплят в возрасте 1 День (например, US 5,766,599). Родительский штамм вируса Duvette был получен во Франции в виде корок оспы кур от цыплят. Вирус был аттенуирован путем приблизительно 50 серийных пассажей в эмбрионах кур с последующими 25 пассажами на клетках фибробластов куриных эмбрионов. Вирус подвергался четырем последовательным очисткам методом бляшек. Затем один бляшковый изолят был амплифицирован в первичных CEF клетках и был разработан маточный вирус, обозначенный как TROVAC. TROVAC был задепонирован на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа VR-2553 (US 5,766,599, раскрытие которого включено в настоящую заявку путем ссылки).

[0013] Специфическое применение подходов вакцинации на основе ALVAC и TROVAC векторов описано, например, в WO 2006/073431, WO 2006/115843, и WO 2013/123242, раскрытие которых включено в настоящую заявку путем ссылки.

5 [0014] Другими источниками из уровня техники являются следующие: Weli SC и др. (*Virology J.* 2011, 8 (1): 49) описали поксвирусы птиц: инфекционную биологию и их применение в качестве вакцинных векторов. WO 2005/013918 относится к поксвирусной вакцине, содержащей растворимый усеченный оболочечный белок поксвируса. De Vries P и др. (*J. Gen. Virol.* 1988, 69: 2071-2083) описали иммуностимулирующие комплексы вируса собачьей чумы (CDV) (Iscoms), но iscoms вируса кори не защищают собак от инфицирования CDV. Marciani DJ и др. (*Vaccine* 1991, 9(2): 89-96) описали защитный иммунный ответ генетически сконструированной  
10 субъединичной вакцины к вирусу лейкоза кошачьих у кошек. McEachern JA и др. (*Vaccine* 2008, 26(31): 3842-3852) описали, что препарат на основе рекомбинантной субъединичной вакцины защищает от заражения летальным вирусом Нипах у кошек.

[0015] Большинство доступных парамиксовирусных вакцин и, в частности, морбилливирусных, представляют собой модифицированные живые  
20 вирусные вакцины. Обычно они являются безопасными и эффективными. Тем не менее, как и с некоторыми классическими модифицированными живыми вирусами, случайно может происходить реверсия вирулентности. В качестве примера, были описаны несколько случаев реверсии вирулентности некоторых вакцинных штаммов чумы. Следовательно, существует  
25 неудовлетворенная потребность в безопасных векторах для преодоления потенциальных проблем с безопасностью классических аттенуированных штаммов.

#### КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

30 [0016] Для преодоления недостатков из известного уровня техники, изобретение обеспечивает новые целевые антигены, которые экспрессируются из вирусных векторных вакцин и вакцин кошачьего парамиксовируса / кошачьего морбилливируса.

- [0017] Настоящее изобретение обеспечивает, в частности, разработку эффективных вирусных векторных вакцин, которые иммунизируют кошачьих против кошачьего парамиксовируса (инфекции), предпочтительно с помощью вирусного вектора поксвируса птиц, такого как аттенуированный вектор оспы канареек или аттенуированный вектор оспы кур, например, ALVAC или TROVAC. Такие аттенуированные векторы кодируют по меньшей мере один антиген кошачьего парамиксовируса таким образом, что может осуществляться экспрессия гетерологичных белков с ограниченной или без продуктивной репликации.
- 10 [0018] Настоящее изобретение обеспечивает вирусный вектор, предпочтительно рекомбинантный и/или не встречающийся в природе вирусный вектор, включающий по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность, относящуюся к по меньшей мере одному патогену, инфицирующему кошачьих, где по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляет собой кошачий парамиксовирус. Предпочтительно, вирусный вектор выбирают из группы, включающей: вирусный вектор поксвируса птиц, вирусный вектор морбилливируса собак, вирусный вектор вирус герпеса, вирусный вектор вируса ветряной оспы.
- 15 [0019] Настоящее изобретение обеспечивает клетку-хозяина млекопитающего, отличающуюся тем, что она включает вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке.
- 20 [0020] Настоящее изобретение обеспечивает применение вирусного вектора, как описано и заявлено в настоящей заявке, или клетки-хозяина млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, для приготовления иммуногенной композиции или вакцины.
- 25 [0021] Настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, включающую
- (а) вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, или клетку-хозяин млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке,
- 30 и/или

(б) полипептид, кодируемый вирусным вектором, как описано и заявлено в настоящей заявке, таким как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и

5 (в) необязательно фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения;

где предпочтительно указанная иммуногенная композиция включает вирус, такой как патогенный вирус.

10

**[0022]** Настоящее изобретение обеспечивает вакцину или фармацевтическую композицию, содержащую

(а) вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, или клетку-хозяин млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, и/или

15

(б) полипептид, кодируемый вирусным вектором, как описано и заявлено в настоящей заявке, таким как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и

20 (в) фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения,

20

(г) необязательно указанная вакцина или фармацевтическая композиция дополнительно содержит адъювант.

25

**[0023]** Настоящее изобретение обеспечивает способ приготовления иммуногенной композиции или вакцины для уменьшения частоты и/или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, включающий следующие стадии:

30

(а) инфицирование клетки-хозяина млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, вирусным вектором, как описано и заявлено в настоящей заявке,

- (б) культивирование инфицированных клеток в подходящих условиях,
- (в) сбор инфицированных клеточных культур,
- (г) необязательно очистку собранных инфицированных клеточных культур со стадии (в),
- 5 (д) необязательно смешивание указанных собранных инфицированных клеточных культур с фармацевтически приемлемым носителем.

[0024] Настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, как описано и заявлено в настоящей заявке, или вакцину, как описано и  
 10 заявлено в настоящей заявке, для применения в способе уменьшения или предотвращения клинических симптомов или заболевания, вызываемого инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом или для применения в способе лечения и/или предотвращения инфицирования по  
 15 меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, где предпочтительно указанный представитель семейства кошачьих представляет собой кошку, более предпочтительно домашнюю кошку, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанные клинические  
 20 симптомы или заболевание, вызываемое инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, или указанное инфицирование по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление  
 25 почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

[0025] Настоящее изобретение обеспечивает способ иммунизации кошачьего, такого как кошка, более предпочтительно домашняя кошка, от  
 30 клинического заболевания, вызываемого по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом в указанного кошачьего, где указанный способ включает этап введения кошачьему иммуногенной композиции, как описано и заявлено в настоящей заявке, или вакцины, как описано и заявлено в настоящей заявке, где указанная иммуногенная композиция или вакцина не способна вызывать

клинические симптомы инфицирования, но способна индуцировать  
иммунный ответ, который иммунизирует кошачьего от патогенных форм  
указанного по меньшей мере одного парамиксовируса, где предпочтительно  
по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по  
5 меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно  
указанное клиническое заболевание или указанные клинические симптомы  
инфицирования выбирают из группы, включающей: вирусемию, лихорадку,  
выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы,  
инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое  
10 заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и  
интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный  
нефрит (ТИН).

**[0026]** Настоящее изобретение обеспечивает набор для вакцинации  
кошачьего, предпочтительно кошки, более предпочтительно домашней  
15 кошки, от заболевания, связанного с и/или уменьшения частоты или тяжести  
одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или  
вызываемых по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом у  
кошачьего, включающий:  
(а) диспенсер, способный вводить вакцину указанному кошачьему; и  
20 (б) иммуногенную композицию, как описано и заявлено в настоящей заявке,  
или вакцину, как описано и заявлено в настоящей заявке, и  
(в) необязательно листок-вкладыш с инструкцией;  
где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус  
представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где  
25 предпочтительно указанное заболевание или указанные клинические  
симптомы выбирают из группы, включающей: вирусемию, лихорадку,  
выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы,  
инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое  
заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и  
30 интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный  
нефрит (ТИН).

**[0027]** В частности, преимуществами заявляемого изобретения является  
следующие:

- (1) Увеличенная безопасность векторных вакцин по сравнению с аттенуированными живыми вакцинами
- (2) Целенаправленная иммунизация на данный (иммунодоминантный) антиген, избегая экспрессии потенциальных иммуносупрессивных белков кошачьих парамиксовирусов
- (3) Способность выращивать векторные вакцины до высоких титров, сопоставимых с продукцией коммерчески доступной вакцины

**[0028]** Следовательно, решение вышеуказанной технической задачи достигается с помощью описания изобретения и вариантов осуществления, охарактеризованных в пунктах формулы изобретения, и изобретение в его различных аспектах реализуется в соответствии с пунктами формулы изобретения.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

**[0029]** Последующие фигуры составляют часть настоящего описания и включены для дальнейшей демонстрации определенных аспектов настоящего изобретения. Изобретение может лучше пониматься со ссылкой на одну или более из этих фигур в комбинации с подробным описанием специфических вариантов осуществления, представленных в настоящей заявке.

**[0030]** На Фигуре 1А и Фигуре 1В представлен схематический план рекомбинации *in vitro* (IVR) с двумя донорными плазмидами pC3 42тпн Gordon M (опт) и pC5 Н6р Gordon H (опт) и полученные две конструкции vCP3025 и vCP3029.

**[0031]** На Фигуре 2 представлено vCP3025 клонированный локус инсерции C5 и его подтвержденная нуклеотидная последовательность от пары оснований 304701 до 308870, включая правую фланкирующую последовательность локуса инсерции C5, Н6 промотор, Gordon H (опт) и левую фланкирующую последовательность локуса инсерции C5.

**[0032]** На Фигуре 3 представлено vCP3029 клонированный локус инсерции C5 и его подтвержденная нуклеотидная последовательность от пары оснований 304166 до 308380, включая правую фланкирующую последовательность локуса инсерции C5, Н6 промотор, Gordon H (опт) и левую фланкирующую последовательность локуса инсерции C5.

5 [0033] На Фигуре 4 представлено vCP3029 клонированный локус инсерции С3 и его подтвержденная нуклеотидная последовательность от пары оснований 38608 до 42807, включая правую фланкирующую последовательность локуса инсерции С3, 42тпн промотор, Gordon M (опт) и левую фланкирующую последовательность локуса инсерции С3.

[0034] На Фигуре 5 представлено графический план эксперимента и осуществления клинического исследования на модели заражения (Пример 4).

10 [0035] На Фигуре 6 представлено схематический план рекомбинации *in vitro* (IVR) с родительским ALVAC вектором vCP3025 и донорской плазмидой pC3 длиной 42 тпн Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента) и полученная конструкция vCP3041.

15 [0036] На Фигуре 7 представлено vCP3041 клонированный локус инсерции С3 и его теоретическая нуклеотидная последовательность от пары оснований 38619 до 43588, включая правую фланкирующую последовательность локуса инсерции С3, промотор длиной 42 тпн, Larön H (дт; нет сайта BamH I рестрикционного фермента) и левую фланкирующую последовательность локуса инсерции С3.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

20 [0037] Настоящее изобретение решает проблемы, присутствующие в известном уровне техники, и обеспечивает значительное усовершенствование в известный уровень техники.

25 [0038] В целом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный вектор, включающий по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность, относящуюся к по меньшей мере одному патогену, инфицирующему кошачьих, где по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляет собой кошачий парамиксовирус.

30 [0039] В специфическом аспекте, такой вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, выбирают из группы, включающей: вирусный вектор поксвируса птиц, вирусный вектор морбилливируса собак, вирусный вектор вирус герпеса, вирусный вектор вируса ветряной оспы.

[0040] В другом специфическом аспекте, по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляющий собой кошачий парамиксовирус,

как описано и заявлено в настоящей заявке, выбирают из группы, включающей:

(а) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2);

(б) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:

(I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 1,

(II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:1;

(в) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), как задепонировано в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под номером доступа CNCM I-5123;

(г) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:

(I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 2,

(II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 91%

идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:2;

5 (д) кошачий морбилливирус (FeMoV);

(е) кошачий морбилливирус (FeMoV), геном которого включает  
10 рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:

(I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 3,

(II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:3.

25 [0041] В другом специфическом аспекте, по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляющий собой кошачий парамиксовирус, как описано и заявлено в настоящей заявке, выбирают из группы, включающей:

30 (б) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:

- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 1,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:1;
- (в) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), как задепонировано в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под номером доступа CNCM I-5123;
- (г) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 2,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:2.

[0042] В другом специфическом аспекте, вирусный вектор является рекомбинантным и/или не встречающимся в природе.

[0043] В другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой вектор оспы канареек, предпочтительно аттенуированный вектор оспы канареек, более предпочтительно ALVAC, еще более предпочтительно ALVAC-1 или ALVAC-2, наиболее предпочтительно ALVAC, как задепонировано на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2547.

[0044] В другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой вектор оспы кур, предпочтительно аттенуированный вектор оспы кур, более предпочтительно TROVAC, наиболее предпочтительно TROVAC, как задепонировано на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2553.

[0045] В другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, выбирают из группы, включающей: vCP3025, vCP3029, vCP3041.

[0046] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, выбирают из группы, включающей: последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), последовательность, кодирующую фосфопротеин ("P"), последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы ("L"), и более предпочтительно представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый

белок (“Н”), и/или последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и/или последовательность, кодирующую слитый белок (“F”).

**[0047]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

5 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую  
гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая  
гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой  
кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:4, по  
меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 80% идентична  
10 SEQ ID NO:4, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей  
мере 90% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID  
NO:4, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 93%  
идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:4, по  
меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 96% идентична  
15 SEQ ID NO:4, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей  
мере 98% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID  
NO:4, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:4,  
SEQ ID NO:5.

**[0048]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

20 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую  
гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая  
гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой  
кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную  
25 последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID  
NO:6, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 80%  
идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:6, по  
меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 91% идентична  
SEQ ID NO:6, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей  
30 мере 93% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID  
NO:6, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 96%  
идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:6, по  
меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 99% идентична

SEQ ID NO:6, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:6.

**[0049]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("M"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:7, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8.

**[0050]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("M"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:9, и

предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:9.

**[0051]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:10, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11.

**[0052]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 99%

идентична SEQ ID NO:12, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:12.

**[0053]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), и последовательность, кодирующая нуклеокапсидный белок ("N"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:13, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:13.

**[0054]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), и последовательность, кодирующая нуклеокапсидный белок ("N"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID

NO:14, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:14, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:14.

**[0055]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

5 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующая фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:15, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:15.

**[0056]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

20 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующая фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 99%

идентична SEQ ID NO:16, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:16.

**[0057]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующая белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:17, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:17.

**[0058]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующая белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере

98% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:18, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:18.

5 [0059] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок ("H"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:19, по 10 меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:19, по 15 меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:19, по 20 меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:19, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:19.

25 [0060] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок ("H"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную 30 последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере

97% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:20, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:20.

5 [0061] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("M"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по  
10 меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 93%  
15 идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:21, и предпочтительно выбрана из группы,  
20 включающей: SEQ ID NO:21.

[0062] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующая матриксный  
25 белок ("M"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере  
30 90% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере

96% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:22, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:22.

- 5 **[0063]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей
- 10 мере на 70% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID
- 15 NO:23, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:23, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:23.
- 20 **[0064]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую
- 25 полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 90%
- 30 идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:24, по

меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:24, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:24.

**[0065]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

5 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), и последовательность, кодирующая нуклеокапсидный белок ("N"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:25, по 10 меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:25, по 15 меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:25, по 20 меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:25, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:25.

**[0066]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

25 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), и последовательность, кодирующая нуклеокапсидный белок ("N"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную 30 последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере

97% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:26, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:26.

- 5 **[0067]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующая фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:27, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:27.
- 10
- 15
- 20 **[0068]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующая фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:28, по
- 25
- 30

меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:28, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:28.

**[0069]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

5 экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы ("L"), и последовательность, кодирующая белок РНК-зависимой РНК-полимеразы ("L"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70%  
10 идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:29, по  
15 меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:29, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:29.

20 **[0070]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна

экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы ("L"), и последовательность, кодирующая белок РНК-зависимой РНК-полимеразы ("L"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид,  
25 имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере  
30 92% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID

NO:30, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:30, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:30.

5 **[0071]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“H”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“H”), включает последовательность нуклеиновой  
10 кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:31, по  
15 меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:31, и предпочтительно выбрана из  
20 группы, включающей: SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32.

**[0072]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“H”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“H”), включает последовательность нуклеиновой  
25 кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID  
30 NO:33, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID

NO:33, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:33, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:33.

**[0073]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("M"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:34, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35.

**[0074]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("M"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID

NO:36, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:36, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:36.

5 [0075] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"),  
10 включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID  
15 NO:37, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:37.  
20

[0076] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"),  
25 включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 96%  
30

идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:38, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:38.

5 **[0077]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), и последовательность, кодирующая нуклеокапсидный белок ("N"), включает последовательность нуклеиновой  
10 кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:39, по  
15 меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:39, и предпочтительно выбрана из  
20 группы, включающей: SEQ ID NO:39.

**[0078]** В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), и последовательность, кодирующая нуклеокапсидный белок ("N"), включает последовательность нуклеиновой  
25 кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID  
30 NO:40, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID

5 NO:40, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:40, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:40.

[0079] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин ("P"), и последовательность, кодирующая фосфопротеин ("P"),  
10 включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID  
15 NO:41, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:41.  
20

[0080] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин ("P"), и последовательность, кодирующая фосфопротеин ("P"),  
25 включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 96%  
30

идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:42, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:42.

5 [0081] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующая белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает  
10 последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 92%  
15 идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:43, и  
20 предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:43.

[0082] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующая белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает  
25 последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере  
30

95% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:44, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:44.

**[0083]** В еще другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, включает две или больше экзогенные антигенкодирующие последовательности, предпочтительно последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), или последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующую слитый белок (“F”), или последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и последовательность, кодирующую слитый белок (“F”), или последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и последовательность, кодирующую слитый белок (“F”).

**[0084]** В еще другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, включает две или больше экзогенные антигенкодирующие последовательности, предпочтительно одинаковые две экзогенные антигенкодирующие последовательности (то есть Н + Н, F + F, М + М, Р + Р, L + L, N + N), но из двух различных штаммов, такую как одна экзогенная антигенкодирующая последовательность из штамма кошачьего парамиксовируса тип 2 (FPaV-2), более предпочтительно штамм “Gordon” или штамм “TV25”, а другая экзогенная антигенкодирующая последовательность из штамма кошачьего морбилливируса, более предпочтительно штамм “Larön” – например, последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), из одного штамма и последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), из другого штамма. Предпочтительно, один штамм “последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок (“Н”), из одного штамма” представляет собой штамм кошачьего парамиксовируса тип 2 (FPaV-2), более предпочтительно штамм “Gordon” или штамм “TV25”, а другой штамм

“последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок (“Н”), из другого штамма” представляет собой штамм кошачьего морбилливируса, более предпочтительно штамм “Larön”. Наиболее предпочтительно, один штамм “последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок (“Н”), из одного штамма” представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:4 или 19, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:19; а другой штамм “последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок (“Н”), из другого штамма” представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID

NO:31 или 94, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:31 или 94, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:94.

- 5 [0085] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, инсертирована в по меньшей мере один локус инсерции, предпочтительно в несущественный участок генома вирусного вектора.
- 10 [0086] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, инсертирована в два или больше локусов инсерции.
- [0087] В еще другом специфическом аспекте, локус инсерции, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой локус инсерции C3.
- 15 [0088] В еще другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, включает фланкирующие последовательности локуса инсерции C3, предпочтительно в соответствии с SEQ ID NO:45 (левое плечо фланкирующего участка C3) и SEQ ID NO:46 (правое плечо фланкирующего участка C3).
- [0089] В еще другом специфическом аспекте, локус инсерции, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой локус инсерции C5.
- 20 [0090] В еще другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, включает фланкирующие последовательности локуса инсерции C5, предпочтительно в соответствии с SEQ ID NO:47 (левое плечо фланкирующего участка C5) и SEQ ID NO:48 (правое плечо фланкирующего участка C5).
- 25 [0091] В еще другом специфическом аспекте, локус инсерции, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой локус инсерции C6.
- [0092] В еще другом специфическом аспекте, по меньшей мере одну экзогенная антигенкодирующая последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, функционально связана с по меньшей мере одной
- 30 промоторной последовательностью, предпочтительно по меньшей мере одной слабой промоторной последовательностью.

- [0093] В еще другом специфическом аспекте, промоторная последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой H6 промотор осповакцины.
- 5 [0094] В еще другом специфическом аспекте, промоторная последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой I3L промотор осповакцины.
- [0095] В еще другом специфическом аспекте, промоторная последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой поксвирусный промотор 42тпн (длина).
- 10 [0096] В еще другом специфическом аспекте, промоторная последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой промотор осповакцины 7,5тпн.
- [0097] В еще другом специфическом аспекте, промоторная последовательность, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой Pi промотор осповакцины.
- 15 [0098] В еще другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, дополнительно включает дополнительные регуляторные последовательности, такие как стоп-кодон и/или последовательность полиаденилирования.
- 20 [0099] В еще другом специфическом аспекте, вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентична последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, и предпочтительно представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей: SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51.
- 25 [00100] В еще другом специфическом аспекте, представитель семейства кошачьих, как описано и заявлено в настоящей заявке, представляет собой кошку, предпочтительно домашнюю кошку.
- 30 [00101] Настоящее изобретение обеспечивает клетку-хозяин млекопитающего, отличающуюся тем, что она включает вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке.

[00102] Настоящее изобретение обеспечивает применение вирусного вектора, как описано и заявлено в настоящей заявке, или клетки-хозяина млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, для приготовления иммуногенной композиции или вакцины.

5 [00103] Настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, включающую

(а) вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, или клетку-хозяин млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, и/или

10 (б) полипептид, кодируемый вирусным вектором, как описано и заявлено в настоящей заявке, таким как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и

(в) необязательно фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является  
15 подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения;

где предпочтительно указанная иммуногенная композиция включает вирус, такой как патогенный вирус.

20 [00104] Настоящее изобретение обеспечивает вакцину или фармацевтическую композицию, содержащую

(а) вирусный вектор, как описано и заявлено в настоящей заявке, или клетку-хозяин млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, и/или

25 (б) полипептид, кодируемый вирусным вектором, как описано и заявлено в настоящей заявке, таким как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и

(в) фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является  
30 подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения,

(г) необязательно указанная вакцина или фармацевтическая композиция дополнительно содержит адъювант.

[00105] Настоящее изобретение обеспечивает способ приготовления иммуногенной композиции или вакцины для уменьшения частоты и/или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, включающий следующие стадии:

(а) инфицирование клетки-хозяина млекопитающего, как описано и заявлено в настоящей заявке, вирусным вектором, как описано и заявлено в настоящей заявке,

(б) культивирование инфицированных клеток в подходящих условиях,

(в) сбор инфицированных клеточных культур,

(г) необязательно очистку собранных инфицированных клеточных культур со стадии (в),

(д) необязательно смешивание указанных собранных инфицированных клеточных культур с фармацевтически приемлемым носителем.

[00106] Настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, как описано и заявлено в настоящей заявке, или вакцину, как описано и заявлено в настоящей заявке, для применения в способе уменьшения или предотвращения клинических симптомов или заболевания, вызываемого инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом или для применения в способе лечения и/или предотвращения инфицирования по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, где предпочтительно указанный представитель семейства кошачьих представляет собой кошку, более предпочтительно домашнюю кошку, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанные клинические симптомы или заболевание, вызываемое инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, или указанное инфицирование по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (TIN).

**[00107]** Настоящее изобретение обеспечивает способ иммунизации кошачьего, такого как кошка, более предпочтительно домашняя кошка, от клинического заболевания, вызываемого по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом в указанного кошачьего, где указанный способ включает этап введения кошачьему иммуногенной композиции, как описано и заявлено в настоящей заявке, или вакцины, как описано и заявлено в настоящей заявке, где указанная иммуногенная композиция или вакцина не способна вызывать клинические симптомы инфицирования, но способна индуцировать иммунный ответ, который иммунизирует кошачьего от патогенных форм указанного по меньшей мере одного парамиксовируса, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанное клиническое заболевание или указанные клинические симптомы инфицирования выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

**[00108]** Настоящее изобретение обеспечивает набор для вакцинации кошачьего, предпочтительно кошки, более предпочтительно домашней кошки, от заболевания, связанного с и/или уменьшения частоты или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом у кошачьего, включающий:

- (а) диспенсер, способный вводить вакцину указанному кошачьему; и
- (б) иммуногенную композицию, как описано и заявлено в настоящей заявке, или вакцину, как описано и заявлено в настоящей заявке, и
- (в) необязательно листок-вкладыш с инструкцией;

где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанное заболевание или указанные клинические симптомы выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку,

выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

#### ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[00109] Если не указано иное, то все технические и научные термины, используемые в данной заявке, имеют то же значение, как обычно это понимается специалистом в данной области техники, к которой относится это изобретение, на момент подачи заявки. Смысл и объем терминов должен быть ясен; однако, в случае какой-либо скрытой двусмысленности, определения, представленные в данной заявке, главенствуют над любым словарем или внешним определением. Кроме того, если иное не предусмотрено контекстом, то особые условия должны включать множества, а множественные термины будут включать единственное число. При этом использование союза "или" означает "и/или", если не указано иное. Кроме того, использование термина "включающий", а также других форм, таких как "включает" и "включенный", не является ограничивающим. Все патенты и публикации, упомянутые в настоящем документе, являются введенными в данную заявку в качестве ссылки.

[00110] При осуществлении настоящего изобретения будут использоваться, если не указано иное, традиционные методики вирусологии, молекулярной биологии, микробиологии, рекомбинантной ДНК, химии белка и иммунологии, которые являются известными специалистам в данной области техники. Такие методики являются подробно описанными в литературе. Смотри, например, Sambrook, Fritsch & Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, тома I, II и III, 2-ое изд. (1989); *DNA Cloning*, тома I и II (D. N. Glover ред. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ред. 1984); *Нуклеиновая кислота Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins ред. 1984); *Animal Cell Culture* (R. K. ред., 1986); *Immobilized Cells and Enzymes* (IRL изд., 1986); Perbal, B., *A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984); серии, *Methods In Enzymology* (S. Colowick и N. Kaplan ред., Academic Press, Inc.); *Protein purification methods – a practical approach* (E.L.V. Harris и S. Angal

ред., IRL Press at Oxford University Press); и Handbook of Experimental Immunology, тома I-IV (D. M. Weir и C. C. Blackwell ред., 1986, Blackwell Scientific Publications).

5 [00111] Перед описанием настоящего изобретения более подробно следует  
понимать, что данное изобретение не ограничивается конкретной ДНК,  
полипептидом или последовательностями или параметрами процессов,  
которые, конечно, могут варьировать. Также следует понимать, что  
используемая в данной заявке терминология предназначена только для цели  
10 описания конкретных вариантов осуществления изобретения и не  
предназначена для ограничения. Следует отметить, что, как используется в  
данном описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного  
числа "любой" или "этот" включают ссылки на множественное число, если из  
содержания явно не следует иное. Так, например, ссылка на "любой антиген"  
включает в себя смесь двух или более антигенов, ссылка на "любой  
15 наполнитель" включает смеси двух или более наполнителей и тому подобное.

[00112] Термин "вектор", как он известен в данной области техники,  
относится к полинуклеотидной конструкции, типично плазмиде или  
бактериальной искусственной хромосоме, используемой для передачи  
генетического материала в клетку-хозяин. Векторы могут представлять  
20 собой, например, бактерии, вирусы, фаги, бактериальные искусственные  
хромосомы, космиды или плазмиды. Вектор, как используется в настоящей  
заявке, может состоять из или содержать либо ДНК или РНК. В некоторых  
вариантах осуществления, вектор состоит из ДНК. В некоторых вариантах  
осуществления вектор представляет собой патогенный вирус. Такой  
25 вирусный вектор содержит вирусный геном, который обрабатывают таким  
образом, что он несет чужеродный ген, который не принимает участие ни в  
репликации вирусного вектора, ни в клеточной культуре, ни в животном-  
хозяине. В соответствии со специфическими аспектами настоящего  
раскрытия, вектор можно использовать в различных аспектах, таких как  
30 только передача генетического материала, для трансфекции клеток-хозяев  
или организмов, для применения в качестве вакцины, например, ДНК вакцин  
или для экспрессии генов. Экспрессия гена представляет собой термин,  
описывающий биосинтез белка в клетке, которая управляется специфической

полинуклеотидной последовательностью, называемую геном. В специфическом аспекте вектор может представлять собой "экспрессионный вектор", который представляет собой вектор, способный управлять экспрессией белка, кодируемого одним или несколькими генами, которые несет вектор, если он находится в подходящей окружающей среде.

[00113] Векторы и способы получения и/или использования векторов (или рекомбинантов) для экспрессии могут представлять собой или являются аналогичными способам, описанным, в частности, в: патенты США №№ 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, РСТ публикации WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018; Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update," PNAS USA 93: 11349-11353, октябрь 1996 г.; Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," PNAS USA 93: 11341-11348, октябрь 1996 г.; Smith и др., патент США № 4,745,051 (рекомбинантный бакуловирус); Richardson, C. D. (ред.), Methods in Molecular Biology 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.); Smith и др., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector", Molecular and Cellular Biology, December, 1983, том 3, № 12, сс. 2156-2165; Pennock и др., "Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus Vector," Molecular and Cellular Biology март 1984 г., том 4, № 3, с. 406; EPA 0 370 573; опубликованная заявка на патент США № 920,197, поданная 16 октября 1986 г.; опубликованная заявка на патент EP № 0 265 785; патент США № 4,769,331 (рекомбинантный герпесвирус); Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A праймер for genetic engineering of novel vectors," PNAS USA 93:11307-11312, октябрь 1996 г.; Andreansky и др., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," PNAS USA 93: 11313-11318, октябрь 1996 г.; Robertson и др., "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", PNAS USA 93: 11334-11340, October 1996; Frolov и др., "Alphavirus-based Expression Vectors: Strategies and applications," PNAS USA 93: 11371-11377, октябрь 1996 г.; Kitson и др., J. Virol. 65, 3068-3075, 1991; патенты США №№ 5,591,439,

5,552,143; WO 98/00166; принятые к рассмотрению заявки на патент США сер. №№ 08/675,556, и 08/675,566 обе поданные 3 июля 1996 г. (рекомбинантный аденовирус); Grunhaus и др., 1992, "Adenovirus as cloning vectors," *Seminars in Virology* (том 3) сс. 237-52, 1993; Ballay и др. *EMBO Journal*, том 4, сс. 3861-65, *Graham, Tibtech* 8, 85-87, апрель 1990 г.; Prevec и др., *J. Gen Virol.* 70, 42434; PCT WO 91/11525; Felgner и др. (1994), *J. Biol. Chem.* 269, 2550-2561, *Science*, 259: 1745-49, 1993; и McClements и др., "Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease", *PNAS USA* 93: 11414-11420, октябрь 1996; и патенты США №№ 5,591,639, 5,589,466, и 5,580,859, а также WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307, WO95/20660; Tang и др., *Nature*, и Furth и др., *Analytical Biochemistry*, relating to DNA Expression Vectors. См. также WO 98/33510; Ju и др., *Diabetologia*, 41: 736-739, 1998 (лентивирусная экспрессионная система); Sanford и др., патент США № 4,945,050; Fischbachet и др. (Intracel); WO 90/01543; Robinson и др., *Seminars in Immunology* том 9, сс. 271-283 (1997), (ДНК векторные системы); Szoka и др., патент США № 4,394,448 (способ инсерции ДНК в живые клетки); McCormick и др., патент США № 5,677,178 (применение цитопатических вирусов); и патент США № 5,928,913 (векторы для доставки генов); а также другие документы, процитированные в настоящей заявке.

[00114] Термин "вирусный вектор" описывает генетически модифицированный вирус, с которым можно манипулировать с помощью методик рекомбинантной ДНК таким образом, что его вход в клетку-хозяин приводит к специфической биологической активности, например, экспрессии трансгена, который переносится вектором. В специфическом аспекте, трансген представляет собой антиген. Вирусный вектор может быть способным реплицироваться или неспособным реплицироваться в целевой клетке, ткани или организме.

[00115] Создание вирусного вектора можно осуществлять, используя любые подходящие методы генетической инженерии, известные в данной области техники, включая, но не ограничиваясь только ими, стандартные методы расщепления рестрикционной эндонуклеазой, лигирования, трансформации,

очистки плазмид, секвенирования ДНК, трансфекции в клеточных культурах, например, как описано в Sambrook и др. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)) или К. Maramorosch и Н. Koprowski (Methods in Virology том VIII, Academic Press Inc. London, UK (2014)).

5 [00116] Вирусный вектор может включать последовательности из генома любого известного организма. Последовательности могут быть инсертированы в их нативной форме или могут быть модифицированы любым образом для получения желательной активности. Например, последовательности могут содержать инсерции, делеции или замещения.

10 [00117] Вирусный вектор может включать кодирующие участки для двух или более белков, представляющих интерес. Например, вирусный вектор может включать кодирующий участок для первого представляющего интерес белка и кодирующий участок для второго представляющего интерес белка. Первый представляющий интерес белок и второй представляющий интерес белок могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления, вирусный вектор может включать кодирующий (е) участок (и) для третьего или четвертого представляющего интерес белка. Третий или четвертый представляющий интерес белок могут быть одинаковыми или разными. Общая длина двух или более представляющих интерес белков, кодируемых вирусным вектором, может изменяться. Например, общая длина двух или более белков может составлять по меньшей мере приблизительно 200 аминокислот. По меньшей мере приблизительно 250 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 300 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 350 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 400 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 450 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 500 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 550 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 600 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 650 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 700 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 750 аминокислот, по меньшей мере приблизительно 800 аминокислот, или больше.

[00118] Предпочтительные вирусные векторы включают вирусный вектор поксвируса птиц, вирусный вектор морбилливируса собак, вирусный вектор вирус герпеса и вирусный вектор вируса ветряной оспы.

5 [00119] В соответствии со специфическими аспектами настоящего изобретения, термин “вирусный вектор” или альтернативно “вирусная конструкция” относится к рекомбинантной вирусной конструкции, имеющей происхождение из вируса, которую выбирают из вирусного вектора поксвируса птиц, вирусного вектора морбилливируса собак, вирусного вектора вирус герпеса и вирусного вектора вируса ветряной оспы.

10 Предпочтительные вирусные векторы включают вирусный вектор поксвируса птицы, такой как ALVAC и TROVAC.

[00120] В соответствии со специфическими аспектами настоящего изобретения, термин “вирусный вектор поксвируса птиц” или альтернативно “авипокс вирусный вектор” относится к векторным системам, основанных на поксвирусах птиц, которые представляют собой природные ограниченные хозяевами поксвирусы. Из таких поксвирусов птиц, был сконструирован вирус оспы канареек (CPV) для экспрессии чужеродных, гетерологичных, внешних, экзогенных генных продуктов. Специфически, ALVAC представляет собой сконструированный поксвирусный вектор, имеющий происхождение из вируса оспы канареек (US 5,756,103, раскрытие которого включено в настоящую заявку путем ссылки). ALVAC представляет собой вектор на основе аттенуированного вируса оспы канареек, который представляет собой клонированное у бактерий производное человеческой вакцины оспы канареек, Канарох. Этот вектор оспы птиц ограничен видами птиц для продуктивной репликации и не реплицируется продуктивно у хозяев, отличающихся от птиц, характеристика, которая, как полагают, улучшает его профиль безопасности. На культурах клеток человека, репликация вируса оспы канареек прекращается рано в цикле репликации вируса перед синтезом вирусной ДНК. Несмотря на это, при конструировании для экспрессии внешних иммуногенов, наблюдается аутентичная экспрессия и процессинг *in vitro* в клетках млекопитающих и инокуляция в различных видах млекопитающих индуцирует гуморальный и клеточный иммунные ответы на внешний иммуноген и обеспечивает защиту

15

20

25

30

от заражения когнатным патогеном. ALVAC был депонирован на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2547 (US 5,756,103, раскрытие которого включено в настоящую заявку путем ссылки). ALVAC ATCC VR-2547 депонированные производные ALVAC векторы в соответствии с настоящим изобретением включают vCP3025 и vCP3029, которые включают C3 и C5 локусы инсерции в качестве родительского депонированного ALVAC ATCC VR-2547 вектора. TROVAC относится к аттенуированному вирусному вектору оспы кур, который представляет собой клонированный в бактериях изолят, имеющий происхождение из FP1-вакцинного штамма вектора оспы кур, который лицензирован для вакцинации цыплят в возрасте 1 День (US 5,766,599, раскрытие которого включено в настоящую заявку путем ссылки). Родительский штамм вируса Duvette был получен во Франции в виде корок оспы кур от цыплят. Вирус был аттенуирован путем приблизительно 50 серийных пассажей в эмбрионах кур с последующими 25 пассажами на клетках фибробластов куриных эмбрионов. Вирус подвергался четырем последовательным очисткам методом бляшек. Затем один бляшковый изолят был амплифицирован в первичных CEF клетках и был разработан маточный вирус, обозначенный как TROVAC. TROVAC был депонирован на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2553 (US 5,766,599, раскрытие которого включено в настоящую заявку путем ссылки).

[00121] Термины “вирусный вектор” и “вирусная конструкция” могут использоваться взаимозаменяемо.

[00122] Термин "конструкция", как используется в настоящей заявке, относится к рекомбинантной нуклеиновой кислоте, такой как плазида, ВАС или рекомбинантный вирус, которые были созданы искусственно.

[00123] Термин “плазида” относится к цитоплазматической ДНК, которая реплицируется независимо от бактериальной хромосомы в бактериальной клетке-хозяине. В специфическом аспекте настоящего изобретения термин

“плазмида” и/ или “трансферная плазмида” относится к элементу технологии рекомбинантной ДНК, используемой для конструирования, например, экспрессионной кассеты для инсерции в вирусный вектор. В другом специфическом аспекте термин “плазмида” может использоваться для указания плазмиды, пригодной для ДНК вакцинации.

**[00124]** Как используется в настоящей заявке, термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" являются взаимозаменяемыми и относятся к любой нуклеиновой кислоте.

**[00125]** Термин “нуклеиновая кислота”, “нуклеотидная последовательность”, “нуклеотидная последовательность”, “полинуклеотид”, “полинуклеотидная последовательность”, “РНК последовательность”, “кДНК последовательности” или “ДНК последовательность”, как используется в настоящей заявке, относится к олигонуклеотиду, нуклеотиду или полинуклеотиду и их фрагментам и частям и к ДНК или РНК геномного или синтетического происхождения, которые могут быть одноцепочечными или двухцепочечными и представлять собой смысловую или антисмысловую цепь. Последовательность может представлять собой некодирующую последовательность, кодирующую последовательность или смесь обоих. Нуклеотидные последовательности согласно настоящему изобретению могут быть получены, используя стандартные техники, хорошо известные квалифицированному специалисту в данной области техники.

**[00126]** Термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" также специфически охватывают нуклеиновые кислоты, состоящие из оснований, отличающихся от пяти биологически встречающихся оснований (аденин, гуанин, тимин, цитозин и урацил).

**[00127]** Термины “регуляторная нуклеиновая кислота”, "регуляторный элемент" и "элемент контроля экспрессии" используются взаимозаменяемо и относятся к молекулам нуклеиновых кислот, которые могут оказывать влияние на экспрессию функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Эти термины используются в более широком значении и охватывают все элементы, которые промотируют или регулируют транскрипцию, включая промоторы, промоторные последовательности, ядерные элементы, необходимые для

основного взаимодействия РНК-полимераза и транскрипционные факторы, элементы, расположенные против хода транскрипции, энхансеры и элементы ответа. Типичные регуляторные элементы у прокариот включают промоторы, операторные последовательности и сайты связывания рибосом. Регуляторные  
5 элементы, которые используются в эукариотических клетках, могут включать, не ограничиваясь только ими, последовательности, контролирующие транскрипцию и трансляцию, такие как промоторы, энхансеры, сигналы сплайсинга, сигналы полиаденилирования, терминаторы, сигналы распада белка, внутренний участок посадки рибосомы (IRES),  
10 пикорнавирусные 2A последовательности, и другие, которые обеспечивают для и/или регулируют экспрессию кодирующей последовательности и/или продукцию кодируемого полипептида в клетке-хозяине.

[00128] “Внутренний участок посадки рибосомы” или “IRES” описывает последовательность, которая функционально способствует инициации  
15 трансляции, независимой от гена 5' IRES и предоставляет возможность трансляции двух цистронов (открытие рамки считывания) из единичного транскрипта в животной клетке. IRES обеспечивает независимый сайт посадки рибосомы для трансляции открытой рамки считывания, расположенный по ходу транскрипции сразу после нее. В отличие от  
20 бактериальной мРНК, которая может быть полицистронной, то есть кодировать несколько различных полипептидов, которые могут транслироваться последовательно из мРНК, большинство мРНК клеток животных являются моноцистронными и кодируют синтез только одного полипептида. С полицистронным транскриптом в эукариотической клетке,  
25 трансляция будет инициироваться с 5' крайнего сайта инициации трансляции, терминируясь на первом стоп-кодоне, и транскрипт будет высвобождаться с рибосомы, что будет приводить к трансляции только первого кодируемого полипептида в мРНК. В эукариотической клетке, полицистронный  
30 транскрипт, имеющий IRES, функционально связанный со второй или последующей открытой рамкой считывания в транскрипте, предоставляет возможность последовательной трансляции открытой рамки считывания, которая расположена по ходу транскрипции, для получения двух или более полипептидов, кодируемых тем же самым транскриптом. IRES может быть

различной длины и из различных источников, например, вируса энцефаломиокардита (EMCV), пикорнавирусов (например, вируса ящура, FMDV или полиовируса (PV), или вируса гепатита С (HCV). Были описаны различные IRES последовательности и их применение в векторных

5 конструкциях и они хорошо известны в данной области техники. Кодирующая последовательность по ходу транскрипции функционально связана с 3' концом IRES на любом расстоянии, которое не оказывает отрицательного влияния на экспрессию расположенного по ходу транскрипции гена. Оптимальное или допустимое расстояние между IRES и

10 началом расположенного по ходу транскрипции гена легко может быть определено путем изменения расстояния и измерения экспрессии в зависимости от расстояния.

[00129] Термин "2a" или "2a пептид" обозначает короткие олигопептидные последовательности, описанные как 2a и '2a-подобные', которые служат в

15 качестве линкеров, способные опосредовать котрансляционное расщепление между белками с помощью процесса, определенного как уход с рибосомы. Такие 2a и '2a-подобные' последовательности (из Picornaviridae и других вирусов или клеточных последовательностей) можно использовать для соединения в цепь последовательностей множественных генов в

20 единственный ген, обеспечивая их ко-экспрессию в одной и той же клетке (см. Luke и Ryan, 2013).

[00130] Как используется в настоящей заявке, термин "промотор" или "промоторная последовательность" обозначает нуклеотидную последовательность, которая разрешает связывание РНК-полимеразы и

25 управляет транскрипцией гена. Типично, промотор расположен на 5' не-кодирующем участке гена, проксимально к сайту инициации транскрипции гена. Элементы последовательностей в пределах промоторов, которые функционируют для инициации транскрипции, часто характеризуются консенсусными нуклеотидными последовательностями. Примеры промоторов

30 включают, но не ограничиваясь только ими, промоторы из бактерий, дрожжей, растений, вирусов и животных, таких как млекопитающие (включая лошадей, свиней, крупный рогатый скот и людей), птиц или насекомых. Промотор может быть индуцибельным, репрессуемым и/или

конститутивным. Индуцибельные промоторы инициируют повышенные уровни транскрипции с ДНК под их контролем в ответ на определенное изменение в условиях культивирования, такое как изменение температуры (Ptashne, 2014). Примерами промоторов, хорошо известных

5 квалифицированному специалисту в данной области техники, являются например, SV40 большой Т, HCMV и MCMV немедленно-ранний ген 1, промотор фактора элонгации альфа человека, бакуловирусный промотор полиэдрина.

[00131] Как используется в настоящей заявке в контексте настоящего  
10 изобретения, термин промотор относится, в частности, к слабому промотору (последовательности), предпочтительно H6 промотору осповакцины, I3L промотору осповакцины, поксвирусному промотору 42тпн (длина), промотору осповакцины 7,5тпн и/или P1 промотору осповакцины, или его комплементарной нуклеотидной последовательности, предпочтительно  
15 идентичность последовательностей составляет (по меньшей мере) 72% для всей длины (или больше).

[00132] Термин “энхансер” обозначает полинуклеотидную последовательность, которая в *цис* локализации оказывает влияние на  
20 активность промотора и, следовательно, стимулирует транскрипцию гена или кодирующей последовательности, функционально связанной с этим промотором. В отличие от промоторов, влияние энхансеров является независимым от положения и ориентации и, следовательно, они могут быть расположены впереди или за транскрипционной единицей, в пределах интрона или даже в пределах кодирующего участка. Энхансер может быть  
25 расположен как в непосредственной близости к транскрипционной единице, так и на значительном расстоянии от промотора. Также представляется возможным иметь физическое и функциональное перекрытие с промотором. Квалифицированный специалист в данной области техники владеет информацией относительно разных энхансеров из различных источников (и  
30 задепонированные в банках данных, таких как GenBank, например, SV40 энхансеры, CMV энхансеры, энхансеры полиомы, энхансеры аденовирусов), которые доступны в качестве независимых элементов или элементов, клонированных в пределах полинуклеотидных последовательностей

(например, задепонированных в АТСС или из коммерческих и индивидуальных источников). Различные промоторные последовательности также содержат энхансерные последовательности, такие как часто используемый CMV промотор. CMV энхансер человека представляет собой один из наиболее сильных энхансеров, идентифицированных до настоящего времени. Одним из примеров индуцибельного энхансера является металлотионеиновый энхансер, которые может стимулироваться глюкокортикоидами или тяжелыми металлами.

**[00133]** Термин “комплементарные нуклеотидные последовательности”

описывает одну цепь из двух спаренных цепей полинуклеотидов, таких как ДНК или РНК. Нуклеотидная последовательность комплементарной цепи является зеркальным отображением нуклеотидной последовательности ее спаренной цепи таким образом, что для каждого аденозина она содержит тимин (или урацил для РНК), для каждого гуанина - цитозин, и наоборот.

Комплементарная нуклеотидная последовательность, например, 5'-GCATAC-3' представляет собой 3'-CGTATG-5' или для РНК 3'-CGUAUG-5'.

**[00134]** Термины “ген”, “представляющий интерес ген”, как используется в настоящей заявке, имеют одинаковые значения и относятся к

полинуклеотидной последовательности любой длины, которая кодирует представляющий интерес продукт. Ген может дополнительно содержать регуляторные последовательности, расположенные перед (5' не кодирующие или нетранслируемые последовательности) и после (3' не кодирующие или нетранслируемые последовательности) кодирующей последовательности.

Выбранная последовательность может иметь полную длину или быть усеченной, слитой или меченой геном, и может представлять собой кДНК, геномную ДНК или ДНК фрагмент. В общих чертах подразумевается, что геномная ДНК, кодирующая полипептид, или РНК могут включать не-кодирующие участки (то есть интроны), которые сплайсированы от зрелой матричной РНК (мРНК) и, следовательно, не присутствуют в кДНК,

кодирующей тот же самый полипептид или РНК. Она может представлять собой нативную последовательность, то есть встречающуюся (иесь) в природе форму (ы), или может быть мутирована, или включать

последовательности, имеющие происхождение из различных источников, или

модифицирована другим образом, если это является желательным. Эти модификации включают оптимизации кодонов для оптимизации частоты использования кодонов в выбранной клетке-хозяине или мечения. Кроме того, они могут включать удаления или добавления *цис*-действующих сайтов, таких как (криптический) донор сплайсинга, акцепторные сайты и точки ветвления, сигналы полиаденилирования, ТАТА-боксы, *chi*-сайты, участки посадки рибосом, последовательности повтора, вторичные структуры (например, «петли-на-стебле»), связывающие сайты для транскрипционных факторов или других регуляторных факторов, сайты рестрикционных ферментов и т.д., для представления только некоторых, но не ограничивающих примеров. Выбранная последовательность может кодировать секретлируемый, цитоплазматический, ядерный, мембранно-связанный полипептид или полипептид клеточной поверхности.

[00135] Термин “представляющая интерес нуклеотидная последовательность”, как используется в настоящей заявке, представляет собой более общий термин, чем представляющий интерес ген, поскольку она не обязательно содержит ген, но может содержать элементы или части гена или другую генетическую информацию, например, *ori* (начало репликации). Представляющая интерес нуклеотидная последовательность может представлять собой любую ДНК или РНК последовательность, независимо от того, будет ли она включать кодирующую последовательность или нет.

[00136] “Открытая рамка считывания” или “ORF” относится к отрезку нуклеотидной последовательности, либо ДНК или РНК, который включает сигнал начала трансляции или иницирующий кодон, такой как ATG или AUG, и терминирующий кодон и потенциально может транслироваться в полипептидную последовательность.

[00137] Термин “транскрипция” описывает биосинтез мРНК в клетке.

[00138] Термин “экспрессия”, как используется в настоящей заявке, относится к транскрипции и/или трансляции нуклеотидной последовательности в клетке-хозяине. В соответствии со специфическими аспектами настоящего изобретения термин “экспрессия” относится к транскрипции и/или трансляции гетерологичной и/или экзогенной нуклеотидной последовательности в клетке-хозяине. Уровень экспрессии

желательного продукта в клетке-хозяине может определяться на основании либо количества соответствующей РНК или мРНК, которая присутствует в клетке, или количества желательного полипептида, кодируемого выбранной последовательностью. Например, мРНК, транскрибируемая с выбранной последовательности, может быть количественно определена с помощью нозерн-блот гибридизации, защиты РНК рибонуклеазы, *in situ* гибридизации с клеточной РНК или с помощью RTqPCR (обратная транскрипция с последующей количественной ПЦР). Белки, экспрессируемые с выбранной последовательности, могут быть количественно определены с помощью различных методов, например, путем ELISA, вестерн-блотинга, радиоиммуноанализов, путем иммунопреципитации, путем исследования биологической активности белка или путем иммуноокрашивания белка с последующим FACS анализом.

**[00139]** Термин “экспрессионная кассета” или “транскрипционная единица” или “экспрессионная единица” определяется как участок в векторе, конструкции или полинуклеотидной последовательности, который содержит один или больше транскрибируемых генов, где нуклеотидные последовательности, кодируемые транскрибируемый (е) ген (ы), а также полинуклеотидные последовательности, включающие регуляторные элементы, содержащиеся в экспрессионной кассете, функционально связаны с друг с другом. Они транскрибируются из промотора и транскрипция терминируется на по меньшей мере одном сигнале полиаденилирования. В одном специфическом аспекте, они транскрибируются из одного единичного промотора. В результате этого, различные гены являются по меньшей мере транскрипционно связанными. Может быть транскрибировано более одного белка или продукта и экспрессировано из каждой транскрипционной единицы (мультицистронная транскрипционная единица). Каждая транскрипционная единица будет содержать регуляторные элементы, необходимые для транскрипции и трансляции любой из выбранных последовательностей, которые содержатся в этой единице. И каждая транскрипционная единица может содержать одинаковые или различные регуляторные элементы. Например, каждая транскрипционная единица может такой же терминатор, IRES элемент или интроны могут использоваться для функционального

связывания генов в транскрипционной единице. Вектор или полинуклеотидная последовательность могут содержать больше одной транскрипционной единицы.

[00140] Термин “повышенная экспрессия”, “повышенный титр или продуктивность” или “улучшенная экспрессия или продуктивность” обозначает повышение экспрессии, синтеза или секреции гетерологичной и/или экзогенной последовательности, интродуцированной в клетку-хозяин, например, гена, кодирующего терапевтический белок, путем сравнения с подходящим контролем, например, белок, кодируемый кДНК относительно белка, кодируемого интрон-содержащим геном. Присутствует повышенный титр или продуктивность, если клетку согласно изобретению культивируют согласно способу по изобретению, описанном в настоящей заявке, и если клетка имеет по меньшей мере 1,2-кратное, 1,5-кратное, двукратное, трехкратное, четырехкратное или пятикратное повышение специфической продуктивности или титра. Также присутствует повышенный титр или продуктивность если клетку согласно изобретению культивируют согласно способу по изобретению, описанном в настоящей заявке, и если клетка имеет по меньшей мере 1,2-кратное или по меньшей мере 1,5-кратное или по меньшей мере двукратное или по меньшей мере трехкратное повышение специфической продуктивности или титра. Также присутствует, в частности, повышенный титр или продуктивность если клетку согласно изобретению культивируют согласно способу по изобретению, описанном в настоящей заявке, и если клетка имеет по меньшей мере 1,2-кратное - пятикратное, предпочтительно 1,5-кратное - пятикратное, более предпочтительно - двукратное - пятикратное, особенно предпочтительно трехкратное - пятикратное повышение специфической продуктивности или титра. “Повышенная экспрессия” также может обозначать, что большее количество клеток действительно экспрессируют представляющий интерес ген/ последовательность. Например, повышенная экспрессия может обозначать, что промоторы согласно настоящему изобретению являются активными в течение более продолжительного периода времени в течение цикла репликации вируса по сравнению с другими промоторами.

[00141] Повышенная экспрессия, титр или продуктивность могут быть получены путем использования гетерологичного вектора в соответствии с изобретением. Это можно комбинировать с другими подходами, такими как FACS-вспомогательная селекция рекомбинантных клеток-хозяев, которые содержат, в качестве дополнительного селектируемого маркера, один или несколько флуоресцентных белков (например, GFP) или маркер клеточной поверхности. Также можно использовать другие методы получения повышенной экспрессии, и комбинацию различных методов, на основании, например, применения *цис*-активных элементов для манипуляциями со структурой хроматина (например, LCR, UCOE, EASE, изоляторы, S/MAR, STAR элементы), применения (искусственных) транскрипционных факторов, обработки клеток природным или синтетическими агентами для активации экспрессии эндогенных или гетерологичных и/или экзогенных генов, улучшая стабильность (период полужизни) мРНК или белка, улучшая инициацию трансляции мРНК, увеличивая дозу гена путем применения эписомальных плазмид (на основании применения вирусных последовательностей в качестве точек начала репликации, например, SV40, полиома, аденовирус, EBV или BPV), применения последовательностей, способствующих амплификации, или систем амплификации *in vitro* на основании ДНК конкатемеров.

[00142] Исследование для измерения “повышенной экспрессии” представляет собой определения белка на основании ЖХ-МС /МС, такие как мониторинг множественных реакций (MRM); методы обнаружения на основании антител, такие как вестерн-блоттинг, дот-блоттинг, или иммунодиффузия, и проточная цитометрия; и измерения биологической активности путем исследования гемагглютинации.

[00143] “Активность промотора” измеряют опосредованно путем количественного определения мРНК, транскрибируемого под контролем соответствующего промотора. мРНК количественно определяют с помощью RTqPCR относительно эндогенного стандарта.

[00144] Термин “вирусная нагрузка” хорошо известен квалифицированному специалисту в данной области техники. Термин вирусная нагрузка в настоящей заявке используется взаимозаменяемо с термином “вирусный

титр". Вирусная нагрузка или титр вируса является показателем тяжести острой вирусной инфекции, и может быть определен с помощью методов, известных квалифицированному специалисту в данной области техники. Определение может быть основано на обнаружении вирусных белков, например, путем связывания антитела с вирусными белками и дальнейшего обнаружения или, альтернативно, путем обнаружения вирусных нуклеиновых кислот с помощью методов амплификации, таких как ОТ-ПЦР. Мониторинг вирион-ассоциированной вирусной РНК в плазме с помощью методов амплификации нуклеиновых кислот является широко используемым параметром для оценки статуса и прогрессирования ретровирусного заболевания, и для оценки эффективности профилактических и терапевтических вмешательств. В качестве примера, вирусная нагрузка или титр вируса могут быть рассчитаны путем оценки живого количества вируса в задействованной жидкости организма, например, количество копий РНК на миллилитр плазмы крови. Предпочтительно, термин "вирусная нагрузка" или "титр вируса" является показателем инфекционных единиц на объем вирусного препарата. Титр вируса является конечной точкой биологической процедуры и определяется как разведение, при котором определенная порция тестов, осуществляемых параллельно, проявляет эффект (Reed и Muench, 1938). Специфически, полуинфицирующая доза культуры ткани на миллилитр (TCID<sub>50</sub>/мл) обеспечивает разведение вирусного препарата, при котором 50% количества клеточных культур, инокулируемые параллельно таким разведением, являются инфицированными.

[00145] "Элементы, регулирующие транскрипцию" нормально содержат промотор, расположенный против хода транскрипции последовательности экспрессируемого гена, сайтов инициации и терминации транскрипции и сигнала полиаденилирования.

[00146] Термин "сайт инициации транскрипции" относится к нуклеиновой кислоте в конструкции, соответствующей первой нуклеиновой кислоты, инкорпорированной в первичный транскрипт, то есть предшественнику мРНК. Сайт инициации транскрипции может перекрываться с промоторными последовательностями.

- [00147] “Терминирующий кодон” или “терминатор” или “сигнал полиаденилирования” или “polyA” или сайт терминации транскрипции” или “элемент терминации транскрипции” представляет собой сигнальную последовательность, которая вызывает расщепление в специфическом сайте на 3' конце эукариотической мРНК и пост-транскрипционную инкорпорацию последовательности из приблизительно 100 - 200 адениновых нуклеотидов (polyA хвост) на отщепленном 3' конце, и, следовательно, вызывает терминацию транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой. Сигнал полиаденилирования включает последовательность ААТААА приблизительно 10-30 нуклеотидов против хода транскрипции сайта рестрикции и последовательность, расположенную по ходу транскрипции. Известны различные элементы полиаденилирования, такие tk polyA, SV40 поздний и ранний polyA, BGH polyA (описанные, например, в патент США № 5,122,458) или polyA гормона роста хомячка (WO2010/010107).
- [00148] “Регуляторные элементы трансляции” содержат сайт инициации трансляции (AUG), стоп-кодон и polyA сигнал для каждого индивидуального экспрессируемого полипептида. В некоторые конструкции может быть включен внутренний участок посадки рибосомы (IRES). Для оптимизации экспрессии может быть желательным удалять, добавлять или изменять 5'- и/или 3'-нетранслируемые участки экспрессируемой нуклеотидной последовательности для элиминации любых потенциальных дополнительных неподходящих альтернативных кодонов инициации трансляции, или другие последовательности, которые могут препятствовать или уменьшать экспрессию, либо на уровне транскрипции или трансляции. Консенсусные сайты связывания рибосом (последовательность Козак) могут быть встроены сразу против хода транскрипции старт-кодона для усиления трансляции и, следовательно, экспрессии. Повышенное содержание А/У вокруг этого сайта связывания рибосомы дополнительно влияет на более эффективное связывание рибосомы.
- [00149] Согласно определению, каждая полинуклеотидная последовательность или каждый ген, инсертированный в клетку-хозяин, и соответствующий белок или РНК, кодируемая таким образом, обозначается как “экзогенная”, “экзогенная последовательность”, “экзогенный ген”,

“экзогенная кодирующая последовательность”, “экзогенная антигенкодирующая последовательность” по отношению к клетке-хозяину, когда она имеет происхождение из отличающихся видов (вируса). Таким образом, антигены кошачьего парамиксовируса согласно настоящему изобретению являются экзогенными по отношению к вирусному вектору поксвируса птиц, такому как ALVAC. Как используется в настоящей заявке по отношению к представляющей (ему) интерес последовательности или гену, такой (му) как антиген, термин “экзогенная” или “экзогенная антигенкодирующая последовательность” обозначает, что указанная (ый) представляющая (ий) интерес последовательность или ген, специфически указанный антиген экспрессируется за пределами окружения его природных видов. Таким образом, Н антиген из FPaV-2 штамма “Gordon” является одним из примеров экзогенного антигена по отношению к вирусному вектору поксвируса птиц, такому как ALVAC. Следовательно, любая представляющая (ий) интерес последовательность или ген кошачьего парамиксовируса, такой как антиген кошачьего парамиксовируса, представляет собой экзогенную (ый) представляющую (ий) интерес последовательность или ген или антиген в соответствии со специфическим аспектом настоящего изобретения.

**[00150]** Согласно определению, каждая полинуклеотидная последовательность или каждый ген, инсертированный в клетку-хозяин, и соответствующий белок или РНК, кодируемая таким образом, обозначается как “гетерологичный”, “гетерологичная последовательность”, “гетерологичный ген”, “гетерологичная кодирующая последовательность”, “трансген” или “гетерологичный белок” по отношению к клетке-хозяину. Это применяется даже в том случае, если последовательность для интродукции или ген для интродукции является идентичной (ым) эндогенной последовательности или эндогенному гену клетки-хозяина. Например, ALVAC промоторная последовательность, интродуцированная в ALVAC вирусный вектор в другой сайт или в модифицированной форме, отличающейся от вируса ALVAC дикого типа, является согласно определению гетерологичной последовательности. Как используется в настоящей заявке по отношению к последовательности или гену, представляющей (му) интерес, такому как антиген, термин “гетерологичный”

обозначает, что указанная последовательность или ген, представляющая (ий) интерес, специфически указанный антиген, экспрессируется за пределами окружения его встречающихся в природе подвидов.

5 [00151] Таким образом, любая (ой) специфическая (ой) представляющая (ой) интерес последовательность или ген кошачьего парамиксовируса, такая (ой) как антиген, например, Н антиген из FPaV-2 штамма "Gordon", по отношению к другому (кошачьему) вирусному вектору парамиксовируса, является, следовательно, гетерологичной (ым) представляющей (им) интерес последовательностью или геном или антигеном в соответствии со  
10 специфическим аспектом настоящего изобретения.

[00152] Термин "не встречающийся в природе" обозначает любую (ой) представляющую (ий) интерес последовательность или ген, такой как антиген, которая (ый) не встречается в этом окружении природно, такая как гибридная последовательность или представляющая (ий) интерес  
15 последовательность или ген, такой как антиген из различных видов, или представляющая (ий) интерес последовательность или ген, такой как антиген, который не является природным продуктом вследствие искусственной мутации, инсерции, делеции или подобных.

[00153] Термин "рекомбинантный" используется взаимозаменяемо с терминами "не встречающийся в природе", "гетерологичный" и "экзогенный" в описании настоящего изобретения. Таким образом, "рекомбинантный" белок представляет собой белок, экспрессируемый либо из гетерологичной или экзогенной полинуклеотидной последовательности. Термин  
20 рекомбинантный, как используется по отношению к вирусу, обозначает вирус, продуцируемый путем искусственной манипуляции вирусного генома. Вирус, включающий гетерологичную или экзогенную последовательность, такую как экзогенная антиген-кодирующая последовательность, представляет собой рекомбинантный вирус. Термин рекомбинантный вирус и термин не встречающийся в природе вирус используются взаимозаменяемо.

30 [00154] Таким образом, термин "гетерологичный вектор" обозначает вектор, который включает гетерологичную или экзогенную полинуклеотидную последовательность. Термин "рекомбинантный вектор" обозначает вектор,

который включает гетерологичную или рекомбинантную полинуклеотидную последовательность.

[00155] Как используется в настоящей заявке, термин "функционально  
связанный" используется для описания связи между регуляторными  
5 элементами и геном или его кодирующим участком. Типично, генная  
экспрессия помещается под контроль одного или нескольких регуляторных  
элементов, например, не ограничиваясь только ими, конститутивные или  
индуцибельные промоторы, тканеспецифические регуляторные элементы и  
энхансеры. Когда указано, что ген или кодирующий участок является  
10 "функционально связанным с" или "оперативно связан с" или  
"функционально ассоциирован с" регуляторными элементами, то это  
обозначает, что или кодирующий участок управляется или находится под  
воздействием регуляторного элемента. Например, промотор функционально  
связан с кодирующей последовательностью, если промотор оказывает  
15 влияние на транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности.

[00156] Кроме того, в объеме настоящего описания термины  
"функциональное связывание", "функционально связан" или "функционально  
связанный" обозначают, что две или более нуклеотидных  
последовательностей или элементов последовательностей расположены  
20 таким образом, что разрешают им функционировать их надлежащим образом.  
Например, промотор/энхансер или терминатор функционально связан с  
кодирующей генной последовательностью, если он способен контролировать  
или модулировать транскрипцию связанной генной последовательности в *цис*  
положении. В общих чертах, но не обязательно необходимо, ДНК  
25 последовательности, которые функционально связаны, являются смежными  
и, если необходимо для соединения двух полипептидных кодирующих  
участков или в случае секреции сигнального пептида, смежными и в рамке  
считывания. Тем не менее, несмотря на то, что функционально связанный  
промотор обычно расположен против хода транскрипции или функционально  
30 связанный терминатор обычно расположен по ходу транскрипции  
кодирующей последовательности, он не всегда является смежным с ними.  
Энхансеры не должны быть смежными, поскольку они повышают  
транскрипцию кодирующей последовательности. Для этого они могут быть

расположены против хода транскрипции или по ходу транскрипции кодирующей последовательности и даже на некотором расстоянии. Сайт полиаденилирования функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен на 3' конце кодирующей последовательности таким образом, что транскрипция осуществляется через кодирующую последовательность на сигнал полиаденилирования. Связывание осуществляется с помощью рекомбинантных методов, хорошо известных в данной области техники, например, путем лигирования в подходящих рестрикционных сайтах или «тупых» концов или путем использования методики ПЦР с перекрывающимися праймерами. Можно использовать синтетические олигонуклеотидные линкеры или адаптеры в соответствии с общепринятой практикой, если не присутствуют подходящие рестрикционные сайты.

[00157] Таким образом, термин “функциональный фрагмент или производное“ промоторной последовательности обозначает, что фрагмент или производное все еще имеет активность промотора. Функциональные исследования для оценки активности промотора хорошо известны квалифицированному специалисту в данной области техники (Bustin 2000, Nolan и др. 2006). Примерный вариант осуществления такого функционального исследования включает, например, эксперимент кинетики промотора. Клетки, инфицированные векторными вирусами, несущими экспрессионные кассеты, где промотор или его фрагмент направляют транскрипцию репортерного трансгена, инкубируют в течение различных промежутков времени. Общую РНК, полученную из образцов, собирают в различные промежутки времени после инфицирования. После разрушения загрязняющей ДНК с помощью расщепления ДНКазой I, обратно транскрибируют РНК. Один реплицированный образец процессируют при добавлении обратной транскриптазы (RT), второй репликат процессируют без добавления RT для демонстрации успешного удаления загрязняющей ДНК из препарата РНК. Полученную кДНК очищают и используют в качестве матрицы в общепринятой ПЦР. Только образцы, процессированные с добавлением RT, будут продуцировать ПЦР продукт. Затем эти кДНК используют для количественной ПЦР с праймерами для репортерного

трансгена и параллельно с праймерами для основного гена вирусного вектора (внутренний стандартный ген), транскрипция которого обеспечивает внутренний стандарт для эффективности инфицирования и репликации. Значения количественной ПЦР репортера нормализуют между различными конструкциями и временем после инфицирования, используя значения количественной ПЦР внутреннего стандартного гена. Это предоставляет возможность интерпретировать активности различных промоторов и их фрагментов.

**[00158]** “Гомология последовательностей”, как используется в настоящей заявке, относится к способу определения родства двух последовательностей. Для определения гомологии последовательностей, две или больше последовательностей оптимально выравнивают, и интродуцируют гэпы, если это необходимо. Тем не менее, в отличие от “идентичности последовательностей”, консервативные аминокислотные замены считают как совпадение при определении гомологии последовательностей. Другими словами, для получения полипептида или полинуклеотида, имеющего 95% гомологию последовательностей с последовательностью сравнения, 85%, предпочтительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, даже более предпочтительно 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% аминокислотных остатков или нуклеотидов в последовательности сравнения должны совпадать или содержать консервативную замену на другую аминокислоту или нуклеотид или количество аминокислот или нуклеотидов вплоть до 15%, предпочтительно вплоть до 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, даже более предпочтительно вплоть до 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,1% общих аминокислотных остатков или нуклеотидов, не включая консервативные замены, с последовательности сравнения могут быть инсертированы в последовательность сравнения. Предпочтительно гомологичная последовательность включает по меньшей мере протяженность 50, еще более предпочтительно 100, еще более предпочтительно 250, еще более предпочтительно 500 нуклеотидов.

**[00159]** “Идентичность последовательностей”, как он известен в данной области техники, относится к взаимосвязи двух или более полипептидных последовательностей или двух или более полинуклеотидных последовательностей, а именно последовательностью сравнения и данной

последовательностью, которую сравнивают с последовательностью сравнения. Идентичность последовательностей определяют путем сравнения данной последовательности с последовательностью сравнения после оптимального выравнивания последовательностей для получения наибольшей степени сходства последовательностей, как определяется путем совпадения между 5 полосками таких последовательностей. При таком выравнивании, идентичность последовательностей устанавливают на основании сравнения по положениям, например, последовательности являются “идентичными” в конкретном положении, если в этом положении, нуклеотиды или 10 аминокислотные остатки являются идентичными. После этого общее число таких идентичных положений разделяют на общее количество нуклеотидов или остатков в последовательности сравнения, получая % идентичности последовательностей. Идентичность последовательностей легко может быть рассчитана с помощью известных методов, включая, но не ограничиваясь 15 только ими, те, которые описаны в Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ред., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ред., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., и Griffin, H. G., ред., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von 20 Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Праймер, Gribskov, M. и Devereux, J., ред., M. Stockton Press, New York (1991); и Carillo, H., и Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), сведения из которых включены в настоящую заявку путем ссылки. Создаются предпочтительные способы 25 определения идентичности последовательностей для получения наибольшего совпадения между тестируемыми последовательностями. Способы определения идентичности последовательностей систематизированы в общедоступных компьютерных программах, которые определяют идентичность последовательностей между данными последовательностями. Примеры таких включают, но не ограничиваясь только ими, пакет программ 30 GCG (Devereux, J., и др., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984)), BLASTP, BLASTN и FASTA (Altschul, S. F. и др., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)). BLASTX программа является общедоступной из NCBI и других источников (BLAST Manual, Altschul, S. и др., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894,

Altschul, S. F. и др., *J. Molec. Biol.*, 215:403-410 (1990), сведения из которых включены в настоящую заявку путем ссылки). Эти программы оптимально выравнивают последовательности, используя штрафы за открытие гэпа по умолчанию для получения наивысшего уровня идентичности

5 последовательностей между данной и сравнительной последовательностями. В качестве иллюстрации, под полинуклеотидом, имеющим нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере, например, 85%, предпочтительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, даже более предпочтительно 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% “идентичность последовательностей” к

10 сравниваемой нуклеотидной последовательности, понимают, что нуклеотидная последовательность данного полинуклеотида является идентичной последовательности сравнения за исключением того, что данная полинуклеотидная последовательность может включать вплоть до 15, предпочтительно вплоть до 10, даже более предпочтительно вплоть до 5

15 точечных мутаций на каждые 100 нуклеотидов нуклеотидной последовательности сравнения. Другими словами, в полинуклеотиде, имеющем нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, предпочтительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, даже более предпочтительно 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% идентичность по

20 отношению к нуклеотидной последовательности сравнения, вплоть до 15%, предпочтительно 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, даже более предпочтительно 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,1% нуклеотидов в последовательности сравнения могут быть делетированы или заменены на другой нуклеотид, или количество нуклеотидов вплоть до 15%, предпочтительно 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, даже

25 более предпочтительно 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,1% общих нуклеотидов в последовательности сравнения могут быть инсертированы в последовательность сравнения. Эти мутации последовательности сравнения могут происходить на 5' или 3' концевых положениях нуклеотидной последовательности сравнения или в любом другом месте между этими

30 концевыми положениями, рассеянные либо индивидуально между нуклеотидами в последовательности сравнения или в одной или нескольких смежных групп в последовательности сравнения. Аналогично этому, под полипептидом, имеющим данную аминокислотную последовательность,

имеющую по меньшей мере, например, 85%, предпочтительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, даже более предпочтительно 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичность последовательностей к аминокислотной последовательности сравнения, подразумевается, что данная аминокислотная последовательность полипептида является идентичной последовательности сравнения, за исключением того, что данная полипептидная последовательность может включать вплоть до 15, предпочтительно вплоть до 10, 9, 8, 7, 6, даже более предпочтительно вплоть до 5, 4, 3, 2, 1 аминокислотных изменений на каждые 100 аминокислот аминокислотной последовательности сравнения. Другими словами, для получения данной полипептидной последовательности, имеющей по меньшей мере 85%, предпочтительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, даже более предпочтительно 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичность последовательностей с аминокислотной последовательностью сравнения, вплоть до 15%, предпочтительно вплоть до 10%, 9%, 8%, 7%, даже более предпочтительно вплоть до 5%, 4%, 3%, 2%, 1% аминокислотных остатков в последовательности сравнения могут быть делетировано или заменено на другую аминокислоту, или количество аминокислот вплоть до 15%, предпочтительно вплоть до 10%, 9%, 8%, 7%, даже более предпочтительно вплоть до 5%, 4%, 3%, 2%, 1% общего числа аминокислотных остатков в последовательности сравнения могут быть инsertированы в последовательность сравнения. Эти изменения последовательности сравнения могут происходить на амино- или карбокси-концевых положениях аминокислотной последовательности сравнения или в любом другом месте между этими концевыми положениями, рассеянные либо индивидуально между остатками в последовательности сравнения или в одной или нескольких смежных группах в последовательности сравнения. Предпочтительно, положения остатков, которые не являются идентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами. Тем не менее, консервативные замены не включаются как совпадение при определении идентичности последовательностей.

[00160] Термины "идентичность последовательностей" или "процент идентичности" используются взаимозаменяемо в настоящем описании. Для целей настоящего изобретения, в настоящей заявке определяется, что для

определения процента идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух нуклеотидных последовательностей, последовательности выравнивают для оптимального сравнения (например, могут быть интродуцированы гэпы в последовательность первой аминокислоты или нуклеиновой кислоты для оптимального выравнивания со второй аминокислотной или нуклеотидной последовательностью). После этого сравнивают аминокислотные или нуклеотидные остатки в соответствующих положениях аминокислот или нуклеотидов. Если положение в первой последовательности занято таким же аминокислотным или нуклеотидным остатком, как и в соответствующем положении во второй последовательности, то эти молекулы являются идентичными в этом положении. Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией количества идентичных положений, общих для последовательностей (то есть, % идентичности = количество идентичных положений / общее количество положений (то есть перекрывающихся положений) x 100). Предпочтительно, две последовательности имеют одинаковую длину.

**[00161]** Сравнение последовательностей можно осуществлять для полных длин двух сравниваемых последовательностей или для фрагментов из двух последовательностей. Типично и предпочтительно в объеме настоящего изобретения, сравнение осуществляют для полной длины двух сравниваемых последовательностей. Однако можно определять идентичность последовательностей для участка, например, из двадцати, пятидесяти, ста или более непрерывных аминокислотных остатков.

**[00162]** Как используется в настоящей заявке, предпочтительно подразумевается, что термин “имеющий по меньшей мере X% идентичность последовательностей с нуклеиновокислотной /аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO:Y” (или, альтернативно, термин “имеющий по меньшей мере X% идентичность последовательностей с нуклеиновокислотной /аминокислотной последовательностью из/ как указано в SEQ ID NO:Y”) является эквивалентным термину “имеющий по меньшей мере X% идентичность последовательностей с нуклеиновокислотной /аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO:Y по

длине SEQ ID NO:Y” или термину “имеющий по меньшей мере X% идентичность последовательностей с нуклеиновокислотной /аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO:Y для всех длины SEQ ID NO:Y”, соответственно.

5 [00163] Квалифицированный специалист в данной области техники знает, что доступно несколько различных компьютерных программ для определения гомологии между двумя последовательностями. Например, сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями можно осуществлять с применением математического  
10 алгоритма. В специфическом аспекте, процент идентичности между двумя аминокислотными или нуклеотидными последовательностями определяют, используя алгоритм Needleman и Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)), который был включен в программу GAP в пакете программного обеспечения Accelrys GCG (доступном на <http://www.accelrys.com/products/gcg/>), используя  
15 либо матрицу Blosum 62 или матрицу PAM250, и штраф за открытие гэпа 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и длину штрафа 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Для квалифицированного специалиста в данной области техники будет понятно, что все эти различные параметры будут приводить к получению  
20 незначительно различающихся результатов, но общий процент идентичности двух последовательностей не будет существенно изменяться при использовании различных алгоритмов.

[00164] Белковые последовательности или нуклеотидные последовательности согласно настоящему изобретению дополнительно могут использоваться в качестве "искомой последовательность" для осуществления  
25 поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации других представителей семейств или родственных последовательностей. Такие поиски можно осуществлять, используя программы BLASTN и BLASTP (версия 2.0) от Altschul, и др. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. BLAST поиски белков можно осуществлять с помощью программы BLASTP, оценка = 50,  
30 длина слова = 3 для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных к молекулам белков согласно изобретению. Для получения выравниваний с брешью для сравнений, можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul и др. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. При

применении программ BLAST и Gapped BLAST, можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, BLASTP и BLASTN). См. домашнюю страницу Национального центра биотехнологической информации на <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

- 5 **[00165]** Термин “кошачий” в контексте настоящего изобретения относится к представителю семейства Felidae, в особенности рода Felis (который является предпочтительным в настоящей заявке), Lynx, Panthera, Neofelis, Caracal, Leopardus, Puma, Acinonyx, Prionailurus, и Otocolobus. Род Felis включает, например, виды Felis silvestris, например, Felis silvestris silvestris
- 10 (европейскую дикую кошку), уличную кошку, предпочтительно Felis silvestris catus (также известную как Felis catus, то есть домашняя кошка), Felis chaus, Felis nigripes, Felis margarita, и Felis bieti. Род Panthera включает, например, тигра (Panthera tigris), льва (Panthera leo), ягуара (Panthera onca), леопарда (Panthera pardus), снежного барса (Panthera uncial), и лигера. Другие Felidae
- 15 включают, но не ограничиваясь только ими, Lynx lynx, Lynx rufus, Acinonyx jubatus (Cheetah), Puma concolor (Cougar), Leopardus pardalis (Ocelot). Предпочтительно, “представитель семейства кошачьих” представляет собой кошку, наиболее предпочтительно домашнюю кошку.
- [00166]** “Иммуногенная или иммунологическая композиция” относится к композиции вещества, которая включает по меньшей мере один антиген, или его иммуногенную часть, которая вызывает иммунологический ответ в
- 20 хозяине клеточный или опосредованный антителами иммунный ответ на композицию. Предпочтительно, иммуногенная композиция индуцирует иммунный ответ и, более предпочтительно, придает защитный иммунитет к
- 25 одному или больше клинических симптомов инфекции, вызванной кошачьим парамиксовирусом. В том случае, если хозяин проявляет защитный иммунологический ответ, такой, что резистентность к новой инфекции будет усилена и/или клиническая тяжесть заболевания уменьшена, то иммуногенная композиция описывается как “вакцина”.
- 30 **[00167]** Термин “антиген”, который используется в настоящей заявке, хорошо известен в данной области техники и включает вещества, которые являются иммуногенными, то есть иммуногены, а также вещества, которые индуцируют иммунологическую неотвечаемость или анергию, то есть отсутствие реакций

посредством защитных реакций организма на чужеродные вещества. Как используется в настоящей заявке, термин "антиген" обозначает полноразмерные белки, а также их пептидные фрагменты, содержащие или включающие эпитоп. Кроме того, термин "антигенкодирующая последовательность" относится к последовательностям, кодирующим антиген. Предпочтительно антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, такую как последовательность кДНК. Тем не менее, термин "последовательность нуклеиновой кислоты" определяется в настоящей заявке в другом месте.

5 [00168] Термин "по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность" также охватывает больше одной экзогенной антигенкодирующей последовательности. Таким образом, следует понимать, что термин "по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность" охватывает две, три, четыре, пять или шесть экзогенных антигенкодирующих последовательностей. Следовательно, термин "по меньшей мере две экзогенные антигенкодирующие последовательности" охватывает три, четыре, пять или шесть экзогенных антигенкодирующих последовательностей.

15 [00169] Термин "отличающиеся экзогенные антигенкодирующие последовательности" представляет собой последовательности, которые отличаются их последовательностью при сравнении друг с другом.

[00170] "Иммуногенная композиция", как используется в настоящей заявке, может относиться к полипептиду или белку, такому как, например, вирусный поверхностный белок, который вызывает иммунный ответ, как описано в настоящей заявке. Термин "иммуногенный фрагмент" или "иммуногенная часть" относится к фрагменту или усеченной и/или замещенной форме белка или полипептида, который включает один или несколько эпитопов и, следовательно, вызывают иммунный ответ, описанный в настоящей заявке. В целом, такие усеченные и/или замещенные формы или фрагменты будут содержать по меньшей мере шесть последовательных аминокислот из полноразмерного белка. Такие фрагменты могут быть идентифицированы при использовании любой из ряда методик, которые используются для картирования эпитопов, которые хорошо известны в данной области техники.

См., например, *Epitop Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, том 66 (Glenn E. Morris, ред., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey. Например, линейные эпитопы могут быть определены с помощью одновременного синтеза большого количества пептидов на твердых подложках, определения пептидов, соответствующих частям белковой молекулы и взаимодействия пептидов с антителами, в то время как пептиды все еще остаются присоединенными к подложкам. Такие методики известны и описаны в данной области техники, смотри, например, патент США № 4708871; Geysen и др. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3998-4002; и Geysen и др. (1986) *Molec. Immunol.* 23:709-715. Аналогично, конформационные эпитопы легко идентифицируются с помощью определения пространственной конформации аминокислот, например, путем рентгеновской кристаллографии и двумерного ядерного магнитного резонанса. Смотри, *Epitop Mapping Protocols*, как описано выше. Синтетические антигены также являются включенными в определение, например, полиэпитопы, фланкирующие эпитопы и другие рекомбинантные или синтетически полученные антигены. Смотри, например, Bergmann и др. (1993) *Eur. J. Immunol.* 23:2777-2781; Bergmann и др. (1996), *J. Immunol.* 157:3242-3249; Suhrbier, A. (1997), *Immunol. и Cell Biol.* 75:402-408; и Gardner и др., (1998) 12-ая всемирная конференция по СПИДу, Женева, Швейцария, 28 июля 1998 года. (Раскрытие и содержание которых включено в данную заявку в качестве ссылки.)

[00171] Термин "иммунизирование" относится к активной иммунизации путем введения иммуногенной композиции представителю семейства кошачьих, подлежащему иммунизации, таким образом вызывая иммунологический ответ на антиген, включенный в такую иммуногенную композицию.

[00172] Термин "нуждающийся" или "который в этом нуждается", как используется в настоящей заявке, обозначает, что введение /лечение связано с бустированием или улучшением состояния здоровья или клинических симптомов или любого другого положительного медицинского влияния на состояние здоровья животных, которые получают иммуногенную композицию в соответствии с настоящим изобретением.

[00173] Термин “вакцина”, как используется в настоящей заявке, относится к фармацевтической композиции, включающей по меньшей мере один иммунологически активный компонент, который индуцирует иммунный ответ у животного и возможно, но не обязательно, один или несколько

5 дополнительных компонентов, которые усиливают иммунологическую активность активного компонента. Вакцина может дополнительно содержать другие компоненты, которые являются типичными для фармацевтических композиций. В качестве отличия, иммунологически активный компонент вакцины может содержать полные вирусные частицы либо в их исходной

10 форме или в качестве аттенуированных частиц в так называемой модифицированной живой вакцине (MLV) или частицы, инактивированные с помощью подходящих методов в так называемой убитой вакцине (KV). В другой форме, иммунологически активный компонент вакцины может содержать подходящие элементы организмов (субъединичные вакцины), где

15 эти элементы создаются либо путем разрушения цельной частицы или выращивания культур, содержащих такие частицы, и необязательно последующих стадий очистки, приводящих к получению желательной (ых) структуры (структур), или с помощью синтетических процессов, включая подходящую манипуляцию путем применения приемлемой системы на

20 основании, например, бактерий, вирусов, млекопитающих или других видов плюс необязательно процедуры последующего выделения и очистки, или путем индукции процессов синтеза в животном, нуждающемся в вакцине, путем прямой инкорпорации генетического материала, используя подходящие фармацевтические композиции (полинуклеотидная вакцинация). Вакцина

25 может содержать один или одновременно более одного из элементов, описанных выше. Как используется в специфических аспектах согласно настоящему изобретению, “вакцина” относится к живой вакцине или живому вирусу, также называется рекомбинантной вакциной. В другом специфическом аспекте согласно настоящему изобретению “вакцина”

30 относится к инактивированному или убитому вирусу, включая вирусоподобные частицы (VLP). Таким образом, вакцина может представлять собой субъединичную вакцину или убитую (KV) или инактивированную вакцину.

[00174] Термин “ДНК вакцинация” или “полинуклеотидная вакцинация” обозначает непосредственное инокулирование генетического материала, используя подходящие фармацевтические композиции.

5 [00175] В данной области техники известны различные физические и химические методы инаktivации. Термин "инаktivированный" относится к ранее вирулентному или неvirulentному вирусу, который был облучен (ультрафиолетом (УФ), рентгеновскими лучами, электронным пучком или гамма-лучами), нагрет, или химически обработан для инаktivации или убивания такого вируса, но при этом сохраняя его иммуногенность.

10 Подходящие инаktivирующие агенты включают бета-пропиолактон, бинарный или бета- или ацетил-этиленимин, глутаральдегид, озон и формалин (формальдегид).

[00176] Для инаktivации с помощью формалина или формальдегида, формальдегид типично смешивают с водой и метиловым спиртом для создания формалина. Добавление метилового спирта предотвращает разложение или перекрестную реакцию во время процесса активации. В одном варианте осуществления используют приблизительно 0,1 - 1% 37% раствора формальдегида для инаktivации вируса. Является очень важным 15 скорректировать количество формалина для обеспечения инаktivации материала, но не настолько много, чтобы проявлялись побочные эффекты от высокой дозы.

20 [00177] Более предпочтительно, термин "инаktivированный" по отношению к вирусу обозначает, что вирус неспособный к репликации в условиях *in vivo* или *in vitro*. Например, термин "инаktivированный" может относиться к вирусу, который был размножен *in vitro*, и затем был инаktivирован с использованием химических или физических средств таким способом, что он больше не способен к репликации.

[00178] Как используется в настоящей заявке, термины "инаktivированный", "убитый" или "KV" используются взаимозаменяемо.

30 [00179] Термин "живая вакцина" относится к вакцине, включающей либо живой организм или компетентный по репликации вирус или вирусный вектор.

[00180] "Фармацевтическая композиция" по существу состоит из одного или нескольких ингредиентов, способных модифицировать физиологические, например, иммунологические функции, организма, в который ее вводят, или организмов, живущих в ней или на организме. Термин включает, но не ограничиваясь только ими, антибиотики или противопаразитарные средства, а также другие составляющие, которые обычно используются для достижение определенных других задач, таких как, но не ограничиваясь только ими, способности к обработке, стерильность, стабильность, возможность введения композиции посредством энтерального или парентерального путей, таких как перорального, интраназального, внутривенного, внутримышечного, подкожного, внутрикожного, или другого подходящего пути, переносимости после введения, или свойств контролируемого высвобождения. Один неограничивающий пример такой фармацевтической композиции, представленный только для целей демонстрации, может быть приготовлен следующим образом: супернатант клеточной культуры инфицированной клеточной культуры смешивают со стабилизатором (например, спермидином и/или бычьим сывороточным альбумином (BSA) и затем смесь лиофилизируют или дегидратируют с помощью других методов. Перед вакцинацией, смесь затем восстанавливают в водных (например, физиологический раствор, фосфатно-буферный солевой раствор (PBS) или неводных растворах (например, масляная эмульсия, адъювант на основе алюминия).

[00181] Как используется в данной заявке, термин "фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель" включает любой и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, адъюванты, стабилизирующие агенты, разбавители, консерванты, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты, агенты, замедляющие адсорбцию, и подобные им. В некоторых специфических аспектах, и особенно в тех, которые включают лиофилизованные иммуногенные композиции, стабилизирующие агенты для использования в настоящем изобретении, включают стабилизаторы для лиофилизации или сушки вымораживанием.

[00182] В некоторых воплощениях иммуногенная композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит адъювант. "Адъюванты", как

используется в данной заявке, могут включать гидроксид алюминия и фосфат алюминия, сапонины, например, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), эмульсию вода-в-масле, масло-в-воде, вода-в-масле-в-воде. Эмульсия может

5 основываться, в частности, на легком вазелиновом масле (в соответствии с европейской фармакопеей); изопреноидном масле, таком, как сквалан или сквален; масле, полученном в результате олигомеризации алкенов, в частности, изобутена или децена; сложных эфирах кислот или спиртов, содержащих линейную алкильную группу, в частности, растительное масло,

10 этилолеат, пропиленгликоль ди-(каприлат/капрат), глицерил три-(каприлат/капрат) или пропиленгликоль диолеат; сложных эфирах разветвленных жирных кислот или спиртов, в частности, сложных эфирах изостеариновой кислоты. Масло используют в комбинации с эмульгаторами с образованием эмульсии. Эмульгаторы предпочтительно представляют собой

15 неионные поверхностно-активные вещества, в частности, сложные эфиры сорбитана, маннита (например, олеат ангидроманнита), гликоля, полиглицерина, пропиленгликоля и олеиновой, изостеариновой, рицинолеиновой или гидроксистеариновой кислоты, которые необязательно являются этоксилированными, и блок-сополимера полиоксипропилена-

20 полиоксиэтилена, в частности, продукты Pluronic, в частности, L121. Смотри Hunter и др., *The Theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.), JohnWiley and Sons, NY, стр. 51-94 (1995) и Todd и др., *Vaccine* 15:564-570 (1997). Типичные адъюванты представляют собой SPT эмульсию, описанную на стр. 147 “*Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach*”

25 под ред. M. Powell и M. Newman, Plenum Press, 1995, и эмульсию MF59, описанную на стр. 183 этого же источника.

**[00183]** Еще одним примером адъюванта является соединение, выбранное из полимеров акриловой или метакриловой кислоты и сополимеров малеинового ангидрида и алкенильных производных. Предпочтительные адъювантные

30 соединения представляют собой полимеры акриловой или метакриловой кислоты, которые являются перекрестно связанными, в частности, с полиалкениловыми этерами сахаров или многоатомных спиртов. Эти соединения являются известными под термином карбомер (Фармакопея том 8,

№ 2, июнь 1996 г.). Специалисты в данной области техники могут также сослаться на патент США № 2909462, который описывает такие акриловые полимеры, перекрестно сшитые с полигидроксилированным соединением, имеющим по крайней мере, 3 гидроксильные группы, предпочтительно не более 8, при этом атомы водорода, по крайней мере, трех гидроксильных групп заменяются ненасыщенными алифатическими радикалами, содержащими, по крайней мере, 2 атома углерода. Предпочтительные радикалы представляют собой такие, которые содержат от 2 до 4 атомов углерода, например, винилы, аллилы и другие этилен-ненасыщенные группы. Ненасыщенные радикалы сами по себе могут содержать другие заместители такие, как метил. Продукты, которые продаются под названием CARBOPOL®; (BF Goodrich, штат Огайо, США) являются особенно приемлемыми. Они являются перекрестно сшитыми с аллилсахарозой или пентаэритритолом. Среди них могут быть упомянуты Carbopol 974P, 934P и 971P. Наиболее предпочтительным является использование CARBOPOL® 971P. Среди сополимеров малеинового ангидрида и производного алкенила следует упомянуть сополимеры ЕМА (Monsanto), которые представляют собой сополимеры малеинового ангидрида и этилена. Растворение этих полимеров в воде приводит к получению кислотного раствора, который будет нейтрализован, предпочтительно до физиологического значения рН, для того, чтобы ввести раствор адьюванта, в который будет включена иммуногенная или иммунологическая вакцина.

**[00184]** Другие подходящие вспомогательные вещества представляют собой, но не ограничиваются таковыми, адьювантную систему RIBI (Ribi Inc.), блок сополимер (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), монофосфорил липид А, адьювант Avridine на основе липид-амин, термолабильный энтеротоксин из E.coli (рекомбинантный или иной), холерный токсин, IMS 1314 или мурамилдипептид, либо природные, либо рекомбинантные цитокинины или их аналоги, или стимуляторы высвобождения эндогенных цитокинов, среди прочих.

**[00185]** Ожидается, что адьювант может быть добавлен в количестве от примерно 100 мкг до примерно 10 мг на дозу, предпочтительно в количестве от примерно 100 мкг до примерно 10 мг на дозу, более предпочтительно в

количестве от примерно 750 мкг до примерно 2,5 мг на дозу, а большинство предпочтительно в количестве приблизительно 1 мг на дозу. Кроме того, адъювант может находиться в концентрации приблизительно от 0,01 до 50%, предпочтительно в концентрации приблизительно от 2% до 30%, более  
5 предпочтительно в концентрации приблизительно от 5% до 25%, еще более предпочтительно в концентрации приблизительно от 7% до 22% и наиболее предпочтительно в концентрации от 10% до 20% от объема конечного продукта.

[00186] "Разбавители" могут включать воду, солевой раствор, декстрозу,  
10 этанол, глицерин и тому подобное. Изотонические агенты могут включать, в частности, хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. Стабилизаторы включают альбумин и щелочные соли этилендиамина тетрауксусной кислоты, среди прочих.

[00187] "Изолированный" означает "измененный рукой человека" по  
15 сравнению с его естественным состоянием, то есть, если это происходит в природе, то он был изменен или удален из своей первоначальной окружающей среды или и то, и другое. Например, полинуклеотид или полипептид, который естественным образом присутствует в живом организме, не является  
"изолированным", но тот же полинуклеотид или полипептид, отделенный от  
20 сосуществующих с ним материалов в его естественном состоянии, является "изолированным" в том значении, как этот термин используется в данном документе.

[00188] "Аттенуирование" обозначает уменьшение вирулентности патогена. В настоящем изобретении "аттенуирование" является синонимом  
25 "авирулентности". В настоящем изобретении, аттенуированный вирус представляет собой вирус, в котором вирулентность была уменьшена так, что он не вызывает клинических признаков инфекции, но способен индуцировать иммунный ответ у целевого животного, но также может обозначать, что клинические признаки снижаются в отношении частоты или тяжести у  
30 животных, инфицированных аттенуированным вирусом, в особенности ALVAC вирусным вектором, как заявляется, по сравнению с "контрольной группой" животных, инфицированных не-аттенуированным вирусом или патогеном и не получавших аттенуированного вируса. В этом контексте,

термин “снижение/сниженный” обозначает уменьшение по меньшей мере на 10%, предпочтительно 25%, даже более предпочтительно 50%, еще более предпочтительно 60%, даже более предпочтительно 70%, еще более предпочтительно 80%, даже более предпочтительно 90% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с контрольной группой, как определено выше. Таким образом, аттенуированный, авирулентный патоген, такой как, например, заявляемый аттенуированный вирусный вектор, в особенности, заявляемый ALVAC вирусный вектор, является подходящим для создания модифицированной живой вакцины (MLV) или модифицированной живой иммуногенной композиции.

[00189] Термин “аттенуированный” парамиксовирус, как описано в настоящей заявке, в особенности относится к парамиксовирусу, который аттенуирован *in vitro* и/или *in vivo*, более предпочтительно, в чувствительных клеточных линиях и/или хозяине. В этом контексте, “аттенуированный” в особенности относится к уменьшенной вирулентности парамиксовируса, где “вирулентность” понимается как степень патогенность, и где “патогенность” относится к способности патогена индуцировать клинические симптомы в хозяине или потомстве хозяина. Возможные клинические симптомы инфекции, вызванной парамиксовирусом согласно настоящему изобретению, включают, например, увеличенную жажду, учащённое мочеиспускание, потерю веса, сниженный аппетит, летаргию и рвоту у субъекта. Возможные данные лабораторных исследований, связанные с инфекцией, вызванной парамиксовирусом согласно настоящему изобретению у субъекта, включают, например, увеличенные уровни креатинина и симметричного диметиларгинина (SDMA). Возможные данные гистологических исследований, связанные с инфекцией, вызванной парамиксовирусом согласно настоящему изобретению у субъекта, включают, например, кортикальное и медуллярное рубцевание, тубулярную дегенерацию, интерстициальное воспаление вследствие инфильтрации главным образом лимфоцитами, плазматическими клетками, макрофагами и гранулоцитами.

[00190] Термин “лечение и/или профилактика” относится к ослаблению частоты инфицирования конкретным кошачьим парамиксовирусом или уменьшению тяжести клинических симптомов, вызываемые или связанные с

инфекцией, вызванной конкретным кошачьим парамиксовирусом.

Следовательно, термин “лечение и/или профилактика” также относится к уменьшению количества животных, которые становятся инфицированными конкретным кошачьим парамиксовирусом (= уменьшению частоты инфицирования конкретным кошачьим парамиксовирусом) или к уменьшению тяжести клинических симптомов, нормально ассоциированных с или вызываемых инфицированием кошачьим парамиксовирусом в группе животных, которые получают эффективное количество иммуногенной композиции, как заявляется в настоящей заявке, по сравнению с группой животных, которые не получают такой иммуногенной композиции. Термин “лечение и/или профилактика” в целом охватывает введение эффективного количества заявляемой иммуногенной композиции согласно настоящему изобретению, животному или животным, которые нуждаются в или могут получать преимущества от такого лечения /профилактики. Термин “лечение” относится к введению эффективного количества иммуногенной композиции, как только животное или по меньшей мере некоторые животные инфицируются/ уже инфицированы таким кошачьим парамиксовирусом и где такие животные уже проявляют некоторые клинические симптомы, вызываемые или связанные с инфицированием таким кошачьим парамиксовирусом. Термин “профилактика” относится к введению животному перед каким-либо инфицированием такого животного кошачьим парамиксовирусом или по меньшей мере, где такое животное или ни одно из животных в группе животных не проявляют каких-либо клинических симптомов, вызываемых или связанных с инфицированием таким кошачьим парамиксовирусом. Термины “профилактика” и “предотвращение” используются взаимозаменяемо в настоящей заявке.

**[00191]** Термин “клинические симптомы”, как используется в настоящей заявке, относится к симптомам инфицирования животного кошачьим парамиксовирусом. Клинические симптомы инфицирования зависят от выбранного патогена. Примеры таких клинических симптомов включают, но не ограничиваясь только ими, увеличенную жажду, учащённое мочеиспускание, потерю веса, сниженный аппетит, летаргию, рвоту у субъекта, лихорадку, и выделение вируса в окружающую среду.

Возможные данные лабораторных исследований, связанные с инфицированием кошачьим парамиксовирусом согласно настоящему изобретению у субъекта, включают, например, увеличенные уровни креатинина и симметричного диметиларгинина (SDMA). Возможные данные гистологических исследований, связанные с инфекцией, вызванной парамиксовирусом согласно настоящему изобретению у субъекта, включают, например, кортикальное и медуллярное рубцевание, тубулярную дегенерацию, интерстициальное воспаление вследствие инфильтрации главным образом лимфоцитами, плазматическими клетками, макрофагами и гранулоцитами. Тем не менее, клинические симптомы также включают, но не ограничиваясь только ими, клинические симптомы, которые непосредственно наблюдаются от живого животного.

**[00192]** Предпочтительно, клинические симптомы, которые уменьшаются по частоте или тяжести у леченного животного по сравнению с животными, которые либо не получали лечения или лечили с применением иммуногенной композиции, которая была доступна до настоящего изобретения, но затем были инфицированы конкретным кошачьим парамиксовирусом, относятся к увеличенной жажде, учащённому мочеиспусканию, потере веса, сниженному аппетиту, летаргии, рвоте у субъекта, виремии, лихорадке, выделению вируса в окружающую среду, инфекциям мочеполовой системы, инфекциям мочевыделительной системы, заболеваниям почек, хроническим заболеваниям почек (СКД), воспалениям почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, и идиопатическому тубулоинтерстициальному нефриту (ТИН) стициальному нефриту (ТИН).

**[00193]** В данной заявке "эффективная доза" означает, но не ограничивается таковыми, как количество антигена, которое вызывает или способно вызывать иммунный ответ, который обеспечивает уменьшение клинических симптомов у животного, которому вводят антиген.

**[00194]** Как используется в данной заявке, термин "эффективное количество" означает в контексте композиции количество иммуногенной композиции, способное индуцировать иммунный ответ, который уменьшает частоту или тяжесть инфекции, или частоту возникновения заболевания у животного. Такое эффективное количество способно уменьшать частоту инфицирования

конкретным кошачьим парамиксовирусом у представителей семейства кошачьих или уменьшать тяжесть клинических симптомов инфицирования конкретным кошачьим парамиксовирусом. В частности, эффективное количество относится к колониеобразующим единицам (КОЕ) на дозу. Кроме того, в контексте терапии термин "эффективное количество" относится к количеству терапии, которое является достаточным для того, чтобы снизить или ослабить тяжесть или продолжительность заболевания или расстройства, или их одного или более симптомов, предотвратить развитие заболевания или расстройства, вызвать регрессию заболевания или расстройства, предотвратить рецидив, развитие, начало или прогрессирование одного или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, или усиливать, или улучшить профилактику или лечения другой терапии или терапевтического агента.

**[00195]** "Иммунный ответ" или "иммунологический ответ" означает, но не ограничивается таковыми, развитие клеточного и/или опосредованного антителами иммунного ответа на (иммуногенные) композиции или вакцины, представляющие интерес. Как правило, иммунный или иммунологический ответ включает в себя, но не ограничивается таковыми, как один или более из следующих эффектов: продукция или активация антител, В-клеток, Т-хелперов, супрессорных Т-клеток и/или цитотоксических Т-клеток, непосредственно направленных на антиген или антигены, включенные в композиции или вакцины, представляющие интерес. Предпочтительно, хозяин будет демонстрировать либо терапевтический, либо защитный иммунологический (иммунологическая память) ответ так, что сопротивление новой инфекции будет усиливаться и/или клиническая тяжесть заболевания будет снижаться. Такая защита будет проявляться либо сокращением количества симптомов, тяжести симптомов, либо отсутствием одного или более симптомов, связанных с инфекцией патогеном, задержкой наступления вирусемии, снижением вирусной персистенции, снижением общей вирусной нагрузки и/или уменьшением экскреции вируса.

**[00196]** "Защита от болезни", "протективный иммунитет", "функциональный иммунитет", "уменьшение клинических симптомов", "индукция/продукция нейтрализующих антител и/или серологических превращений", и подобные

фразы, означают частичный или полный ответ, направленный против заболевания или состояния, который вызывается путем введения одной или более терапевтических композиций в соответствии с изобретением, или их комбинации, что приводит к более сниженным вредным эффектам, чем можно было бы ожидать у неиммунизированного животного, который подвергся заболеванию или инфекции. То есть, тяжесть вредных эффектов инфекции уменьшается у вакцинированного животного. Заражение может быть снижено, замедлено или, возможно, полностью предотвращено, у вакцинированного животного. При этом, когда подразумевается полное предотвращение инфекции, то это специально указывается. Если полное предотвращение не указано, то термин включает в себя частичное предотвращение. "Защитный иммунологический ответ" или "защитный иммунитет" будет проявляться либо путем уменьшения или отсутствия клинических симптомов, обычно проявляемых инфицированным хозяином, более быстрым временем восстановления и/или уменьшенной продолжительностью инфекционности или сниженным титром патогена в тканях или жидкостях организма или экскрементах инфицированного хозяина.

[00197] В данной заявке "снижение частоты возникновения заболевания и/или клинических признаков" или "снижение клинических симптомов" означает, но не ограничивается таковыми, уменьшение количества инфицированных животных в группе, уменьшение или устранение количества животных, которые проявляют клинические признаки инфекции, или уменьшение тяжести каких-либо клинических симптомов, которые присутствуют у одного или более животных, по сравнению с инфекцией дикого типа. Например, следует упомянуть любое снижение нагрузки патогена, выделения патогена, снижение передачи патогена или уменьшение любого клинического признака симптоматических инфекций кошачьим парамиксовирусом. Предпочтительно, когда эти клинические признаки снижаются у одного или более животных, получающих терапевтическую композицию в соответствии с настоящим изобретением, по крайней мере, на 10% по сравнению с животными, не получающими композицию и которые являются инфицированными. Более предпочтительно, когда клинические

признаки уменьшаются у животных, получающих композицию в соответствии с настоящим изобретением, по крайней мере, на 20%, предпочтительно, по крайней мере, на 30%, более предпочтительно, по крайней мере, на 40%, и даже более предпочтительно, по крайней мере, на 50%.

**[00198]** Термин "повышенная защита" в данном документе означает, но не ограничивается таковыми, как статистически достоверное снижение одного или более клинических симптомов, которые связаны с инфицированием с помощью инфекционного агента, в группе вакцинированных животных против невакцинированной контрольной группы животных. Термин "статистически достоверное снижение клинических симптомов" означает, но без ограничения таковым, частоту возникновения, по крайней мере, одного клинического симптома в группе вакцинированных животных, которая является, по крайней мере, на 10%, предпочтительно на 20%, более предпочтительно на 30%, еще более предпочтительно на 50%, и даже более предпочтительно на 70% ниже, чем в невакцинированной контрольной группе после заражения инфекционным агентом.

**[00199]** Термин "патоген" также хорошо известен квалифицированному специалисту в данной области техники. Термин "патоген" включает бактерии и вирусы. В контексте настоящего изобретения термин "патоген, инфицирующий кошачьих" предпочтительно представляет собой кошачий парамиксовирус.

**[00200]** "Длительная защита" относится к «улучшению эффективности», которая сохраняется в течение не менее 3 недель, но более предпочтительно, по крайней мере, 3 месяца, еще более предпочтительно, по крайней мере, 6 месяцев.

**[00201]** Термин "выделение" относится к секрциям, таким как выделениям из носа и, дополнительно, к аэрозолям, создаваемым путем кашля или чихания. Следовательно, выделение может быть определено путем исследования титра вируса в мазках из носа или титра вируса в легких. Термин "выделение" дополнительно охватывает перенос вируса к чувствительным животным (то есть индикаторам). Квалифицированный

специалист в данной области техники на основе общих знаний может измерить выделение вируса.

5 [00202] "Безопасность" относится к отсутствию побочных эффектов у вакцинированных животных после вакцинации, в том числе, но не ограничиваясь таковыми: потенциальное превращение вакцины на основании бактерии в вирулентную, клинически значимые побочные эффекты такие, как стойкие, системные болезни или непереносимое воспаления в месте введения вакцины.

10 [00203] Термины "вакцинация" или "вакцинирующий" или их варианты, как они используются в данной заявке, означают, но не ограничиваются такими, как процесс, который включает в себя введение иммуногенной композиции в соответствии с изобретением, которая при введении в организм животного, вызывает или может вызывать - непосредственно или опосредовано - иммунный ответ у указанного животного.

15 [00204] "Смертность" в контексте настоящего изобретения относится к смерти, вызванной инфекцией, и включает ситуацию, когда инфекция является настолько тяжелой, что животное подвергают эвтаназии, чтобы предотвратить страдания и обеспечить гуманное окончание его жизни.

20 [00205] Препараты в соответствии с изобретением содержат эффективное иммунизирующее количество одной или более иммуногенных композиций и физиологически приемлемый носитель. Вакцины содержат эффективное иммунизирующее количество одной или более иммуногенных композиций и физиологически приемлемый носитель. Композиция должна быть приемлемой для способа введения.

25 [00206] Иммуногенная композиция, если это является желательным, может также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или рН буферных агентов. Иммуногенная композиция может представлять собой жидкий раствор, суспензию, эмульсию, таблетки, пилюли, капсулы, композицию замедленного  
30 высвобождения или порошок. Пероральные препараты могут включать стандартные носители такие, как маннит, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлоза, карбонат магния и т.п.

**[00207]** Предпочтительные пути введения включают, но не ограничиваясь только ими, интраназальное, пероральное, внутрикожное, подкожное и внутримышечное. Желательным является введение в питьевой воде, наиболее предпочтительно в единичной дозе. Квалифицированному специалисту в данной области техники будет понятным, что композиции согласно изобретению также можно вводить в одной, двух или более дозах, а также при использовании других путей введения. Например, такие другие пути включают подкожное, внутрикожное, внутрибрюшинное, и в зависимости от желательной продолжительности и эффективности лечения, композиции в соответствии с изобретением могут быть введены один или несколько раз, а также периодически, например, на ежедневной основе в течение нескольких дней, недель или месяцев и в различных дозировках, таких как от приблизительно  $1 \times 10^4$  до  $1 \times 10^9$  (см. вирусный титр выше). В специфическом аспекте согласно настоящему изобретению дозировка составляет от приблизительно  $1 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>.

**[00208]** Термин “образец” относится к образцу жидкости организма, к образцу выделенных клеток или к образцу из ткани или органа. Образцы жидкостей организма могут быть получены с помощью хорошо известных методов и включают, предпочтительно, образцы крови, плазмы, сыворотки или мочи, более предпочтительно, образцы крови, плазмы или сыворотки. Образцы тканей или органов могут быть получены из любой ткани или органа, например, путем биопсии. Выделенные клетки могут быть получены из жидкостей или тканей или органов из организма с помощью методик выделения, таких как центрифугирование или сортировка клеток.

**[00209]** Термин “полученный” может включать этап выделения и/или очистки, известный квалифицированному специалисту в данной области техники, предпочтительно используя осаждение, колонки и т.п.

**[00210]** Термин “иммунотест” и “геномный аналитический тест” является основанием для дифференциации животных, вакцинированных с помощью иммуногенной композиции в соответствии с настоящим изобретением и животных, инфицированных с помощью встречающегося в природе (ассоциированного с заболеванием) кошачьего парамиксовируса. Примеры иммунотестов включают любые ферментноиммунологические или

иммунохимические методы обнаружения, такие как ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), EIA (иммуноферментный анализ), RIA (радиоиммунологический анализ), иммуноферментные сэндвич-анализы, тест флюоресцирующих антител (FAT) электрохемилюминесцентные сэндвич-иммуноанализы (ECLIA), усиленный диссоциацией лантанидный флюоресцентный иммуноанализ (DELFLIA) или твердофазные иммунотесты, иммунофлюоресцентный тест (IFT), иммуногистологическое окрашивание, вестерн-блоттинг или любой другой подходящий метод, доступный для квалифицированных специалистов в данной области техники. В зависимости от используемого анализа, антигены или антитела можно метить с помощью фермента, флуорофора или радиоактивного изотопа. См., например, Coligan и др. *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons Inc., New York, N.Y. (1994); и Frye и др., *Oncogen* 4: 1153-1157, 1987.

**[00211]** Термин “геномный аналитический тест” относится к геномному аналитическому методу, основанному на полимеразной цепной реакции (ПЦР), полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), ПЦР в режиме реального времени (r-PCR) или ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (rRT-PCR), Templex-PCR, амплификации на основе последовательности нуклеиновой кислоты (NASBA), и методы изотермической амплификации, используя полимеразы и специфические олигонуклеотиды в качестве праймеров. Вышеуказанные методы амплификации хорошо известны в данной области техники.

**[00212]** Термины “белок”, “пептид”, “полипептид” и “полипептидный фрагмент” используются в настоящей заявке взаимозаменяемо по отношению к полимерам аминокислотных остатков любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, оно может содержать модифицированные аминокислоты или аналоги аминокислот, и он может быть прерван химическими компонентами, отличающимися от аминокислот. Термины также охватывают аминокислотный полимер, который был модифицирован в природе или путем вмешательства; например, образование дисульфидной связи, гликозилирование, липидизация, ацетилирование, фосфорилирование, или любая другая манипуляция или модификация, такая как конъюгирование с меченым или биологически активным компонентом.

[00213] Реакции гибридизации можно осуществлять в условиях различной “жесткости”. Условия, которые увеличивают жесткость реакции гибридизации, хорошо известны. См., например, “Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, второе издание (Sambrook и др. 1989). Примеры релевантных условий включают (для увеличения жесткости): температуры инкубирования 25°C, 37°C, 50°C и 68°C; концентрации буфера 10 x SSC, 6 x SSC, 1 x SSC, 0,1 x SSC (где SSC представляет собой 0,15 М NaCl и 15 мМ цитратный буфер) и их эквиваленты, используя другие системы буферов; концентрации формамида 0%, 25%, 50% и 75%; время инкубирования от 5 минут до 24 часов; 1, 2 или больше стадий промывки; время промывочного инкубирования 1, 2 или 15 минут; и промывочные растворы 6 x SSC, 1 x SSC, 0,1 x SSC, или деионизованная вода.

[00214] Термин "эпитоп" относится к сайту на антигене или гаптене, на который отвечают специфические В-клетки и/или Т-клетки. Термин также используется взаимозаменяемо с "антигенной детерминантной" или "сайт антигенной детерминанты". Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп, могут быть идентифицированы в простом иммунологическом анализе, проявляющем способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном.

#### ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[00215] Настоящая заявка содержит последовательностей. Перечень последовательностей включает следующие последовательности:

[00216] SEQ ID NO:1 FPaV-2 штамм “Gordon” полная геномная последовательность; представленная в виде ДНК последовательности, которая соответствует положительной РНК-цепи, в которую транскрибирована отрицательная цепь РНК вирусного генома, то есть она содержит ORF в направлении от 5' к 3', как мРНК

[00217] SEQ ID NO:2 FPaV-2 штамм “TV25” полная геномная последовательность; представленная в виде ДНК последовательности, которая соответствует положительной РНК-цепи, в которую транскрибирована отрицательная цепь РНК вирусного генома, то есть она содержит ORF в направлении от 5' к 3', как мРНК

- 5 [00218] SEQ ID NO:3 FeMoV штамм “Larön” полная геномная последовательность; представленная в виде ДНК последовательности, которая соответствует положительной РНК-цепи, в которую транскрибирована отрицательная цепь РНК вирусного генома, то есть она содержит ORF в направлении от 5’ к 3’, как мРНК
- [00219] SEQ ID NO:4 FPaV-2 штамм “Gordon” Н антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- 10 [00220] SEQ ID NO:5 FPaV-2 штамм “Gordon” Н антиген, нуклеиновая кислота, которая была кодон-оптимизирована для экспрессии главным образом у кошачьих; представленная в виде ДНК последовательности
- [00221] SEQ ID NO:6 FPaV-2 штамм “Gordon” Н антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00222] SEQ ID NO:7 FPaV-2 штамм “Gordon” М антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- 15 [00223] SEQ ID NO:8 FPaV-2 штамм “Gordon” М антиген, нуклеиновая кислота, которая была кодон-оптимизирована для экспрессии главным образом у кошачьих; представленная в виде ДНК последовательности
- [00224] SEQ ID NO:9 FPaV-2 штамм “Gordon” М антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 20 [00225] SEQ ID NO:10 FPaV-2 штамм “Gordon” F антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00226] SEQ ID NO:11 FPaV-2 штамм “Gordon” F антиген, нуклеиновая кислота, которая была кодон-оптимизирована для экспрессии главным образом у кошачьих; представленная в виде ДНК последовательности
- 25 [00227] SEQ ID NO:12 FPaV-2 штамм “Gordon” F антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00228] SEQ ID NO:13 FPaV-2 штамм “Gordon” N антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00229] SEQ ID NO:14 FPaV-2 штамм “Gordon” N антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 30 [00230] SEQ ID NO:15 FPaV-2 штамм “Gordon” Р антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности

- [00231] SEQ ID NO:16 FPaV-2 штамм “Gordon” Р антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00232] SEQ ID NO:17 FPaV-2 штамм “Gordon” L антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- 5 [00233] SEQ ID NO:18 FPaV-2 штамм “Gordon” L антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00234] SEQ ID NO:19 FPaV-2 штамм “TV25” Н антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00235] SEQ ID NO:20 FPaV-2 штамм “TV25” Н антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 10 [00236] SEQ ID NO:21 FPaV-2 штамм “TV25” М антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00237] SEQ ID NO:22 FPaV-2 штамм “TV25” М антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 15 [00238] SEQ ID NO:23 FPaV-2 штамм “TV25” F антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00239] SEQ ID NO:24 FPaV-2 штамм “TV25” F антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00240] SEQ ID NO:25 FPaV-2 штамм “TV25” N антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- 20 [00241] SEQ ID NO:26 FPaV-2 штамм “TV25” N антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00242] SEQ ID NO:27 FPaV-2 штамм “TV25” Р антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- 25 [00243] SEQ ID NO:28 FPaV-2 штамм “TV25” Р антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00244] SEQ ID NO:29 FPaV-2 штамм “TV25” L антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00245] SEQ ID NO:30 FPaV-2 штамм “TV25” L антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 30 [00246] SEQ ID NO:31 FeMoV штамм “Larön” Н антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности

- [00247] SEQ ID NO:32 FeMoV штамм “Larön” H антиген, нуклеиновая кислота, которая была кодон-оптимизирована для экспрессии главным образом у кошачьих; представленная в виде ДНК последовательности
- 5 [00248] SEQ ID NO:33 FeMoV штамм “Larön” H антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00249] SEQ ID NO:34 FeMoV штамм “Larön” M антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00250] SEQ ID NO:35 FeMoV штамм “Larön” M антиген, нуклеиновая кислота, которая была кодон-оптимизирована для экспрессии главным образом у кошачьих; представленная в виде ДНК последовательности
- 10 [00251] SEQ ID NO:36 FeMoV штамм “Larön” M антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00252] SEQ ID NO:37 FeMoV штамм “Larön” F антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- 15 [00253] SEQ ID NO:38 FeMoV штамм “Larön” F антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00254] SEQ ID NO:39 FeMoV штамм “Larön” N антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00255] SEQ ID NO:40 FeMoV штамм “Larön” N антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 20 [00256] SEQ ID NO:41 FeMoV штамм “Larön” P антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00257] SEQ ID NO:42 FeMoV штамм “Larön” P антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- 25 [00258] SEQ ID NO:43 FeMoV штамм “Larön” L антиген “дикого типа”, нуклеиновая кислота; представленная в виде ДНК последовательности
- [00259] SEQ ID NO:44 FeMoV штамм “Larön” L антиген, транслированная аминокислотная последовательность
- [00260] SEQ ID NO:45 ALVAC локус инсерции левое плечо фланкирующего участка C3; представленная в виде ДНК последовательности
- 30 [00261] SEQ ID NO:46 ALVAC локус инсерции правое плечо фланкирующего участка C3; представленная в виде ДНК последовательности

- [00262] SEQ ID NO:47 ALVAC локус инсерции левое плечо фланкирующего участка C5; представленная в виде ДНК последовательности
- [00263] SEQ ID NO:48 ALVAC локус инсерции правое плечо фланкирующего участка C5; представленная в виде ДНК последовательности
- 5 [00264] SEQ ID NO:49 пассаж 3 C5 локус инсерции из vCP3025, включая правое плечо фланкирующего участка C5, H6 промотор осповакцины, кодон-оптимизированный Gordon H антиген, левое плечо фланкирующего участка C5, то есть пары оснований от 304701 до 308,870
- [00265] SEQ ID NO:50 пассаж 3 C5 локус инсерции из vCP3029, включая правое плечо фланкирующего участка C5, H6 промотор осповакцины, кодон-оптимизированный Gordon H антиген, левое плечо фланкирующего участка C5, то есть пары оснований 304166 до 308380
- 10 [00266] SEQ ID NO:51 пассаж 3 C3 локус инсерции из vCP3029, включая правое плечо фланкирующего участка C3, поксвирусный промотор 42тпн (длина), кодон-оптимизированный Gordon M антиген, левое плечо фланкирующего участка C3, то есть пары оснований 38608 до 42807
- 15 [00267] SEQ ID NO:52 PCR Праймер "Gordon\_M\_зонд\_F"
- [00268] SEQ ID NO:53 PCR Праймер "Gordon\_M\_зонд\_R"
- [00269] SEQ ID NO:54 PCR Праймер "C3F"
- 20 [00270] SEQ ID NO:55 PCR Праймер "C3R"
- [00271] SEQ ID NO:56 PCR Праймер "7520"
- [00272] SEQ ID NO:57 PCR Праймер "7521"
- [00273] SEQ ID NO:58 PCR Праймер "C3-PCR-F"
- [00274] SEQ ID NO:59 PCR Праймер "C3-PCR-R"
- 25 [00275] SEQ ID NO:60 PCR Праймер "C3-R1"
- [00276] SEQ ID NO:61 PCR Праймер "C3-R2"
- [00277] SEQ ID NO:62 PCR Праймер "C3-R3"
- [00278] SEQ ID NO:63 PCR Праймер "C3-R4"
- [00279] SEQ ID NO:64 PCR Праймер "C3-R5"
- 30 [00280] SEQ ID NO:65 PCR Праймер "C3-R6"
- [00281] SEQ ID NO:66 PCR Праймер "C3-R7"
- [00282] SEQ ID NO:67 PCR Праймер "C3-R8"

- [00283] SEQ ID NO:68 PCR Праймер “C3-R9”
- [00284] SEQ ID NO:69 PCR Праймер “Gordon\_M\_1F”
- [00285] SEQ ID NO:70 PCR Праймер “Gordon\_M\_2F”
- [00286] SEQ ID NO:71 PCR Праймер “Gordon\_M\_3F”
- 5 [00287] SEQ ID NO:72 PCR Праймер “Gordon\_M\_1R”
- [00288] SEQ ID NO:73 PCR Праймер “C3-F5”
- [00289] SEQ ID NO:74 PCR Праймер “C3-F7”
- [00290] SEQ ID NO:75 PCR Праймер “7931”
- [00291] SEQ ID NO:76 PCR Праймер “7932”
- 10 [00292] SEQ ID NO:77 PCR Праймер “7927.DC”
- [00293] SEQ ID NO:78 PCR Праймер “7696.CXL”
- [00294] SEQ ID NO:79 PCR Праймер “7697.CXL”
- [00295] SEQ ID NO:80 PCR Праймер “7925.DC”
- [00296] SEQ ID NO:81 PCR Праймер “7792.SL”
- 15 [00297] SEQ ID NO:82 PCR Праймер “7793SL”
- [00298] SEQ ID NO:83 PCR Праймер “7928.DC”
- [00299] SEQ ID NO:84 PCR Праймер “7929.DC”
- [00300] SEQ ID NO:85 PCR Праймер “7926.DC”
- [00301] SEQ ID NO:86 PCR Праймер “Gordon\_H\_1R”
- 20 [00302] SEQ ID NO:87 PCR Праймер “Gordon\_H\_2F”
- [00303] SEQ ID NO:88 PCR Праймер “Gordon\_H\_зонд\_R”
- [00304] SEQ ID NO:89 PCR Праймер “Gordon\_H\_зонд\_F”
- [00305] SEQ ID NO:90 PCR Праймер “Gordon\_H\_1F”
- [00306] SEQ ID NO:91 PCR Праймер “Gordon\_H\_3F”
- 25 [00307] SEQ ID NO:92 PCR Праймер “Gordon\_H\_4F”
- [00308] SEQ ID NO:93 PCR Праймер “Gordon\_H\_5F”
- [00309] SEQ ID NO:94 FeMoV штамм “Lapön” H антиген “дикого типа” - без  
сайта BamH I рестрикционного фермента - нуклеиновая кислота;  
представленная в виде ДНК последовательности
- 30 [00310] SEQ ID NO:95 vCP3041 клонированный локус инсерции C3 и его  
теоретическая нуклеотидная последовательность от пары оснований 38619 до  
43588, включая правую фланкирующую последовательность локуса инсерции

С3, 42тпн (длина) промотор, Larõn H (дт; без сайта BamH I рестрикционного фермента) и левую фланкирующую последовательность локуса инсерции С3

[00311] Настоящая заявка дополнительно включает следующие пункты:

- 5 [00312] 1. Вирусный вектор, включающий по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность, относящуюся к по меньшей мере одному патогену, инфицирующему кошачьих, где по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляет собой кошачий парамиксовирус.
- 10 [00313] 2. Вирусный вектор по пункту 1, где вирусный вектор выбирают из группы, включающей: вирусный вектор поксвируса птиц, вирусный вектор морбилливируса собак, вирусный вектор вирус герпеса, вирусный вектор вируса ветряной оспы.
- 15 [00314] 3. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 2, где по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляющий собой кошачий парамиксовирус, выбирают из группы, включающей:
- (а) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2);
- (б) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает
- 20 рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 1,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере
- 25 на 70% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:1, по
- 30 меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:1;

- (в) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), как задепонировано в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под номером доступа CNCM I-5123;
- (г) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает  
5 рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 2,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере  
10 на 70% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:2, по  
15 меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:2, по  
20 меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:2;
- (д) кошачий морбилливирус (FeMoV);
- (е) кошачий морбилливирус (FeMoV), геном которого включает  
рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID  
25 NO: 3,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере  
на 70% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 90% идентична  
30 SEQ ID NO:3, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей

мере 96% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:3, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:3.

и предпочтительно выбрана из группы, включающей:

- 5 (б) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 1,
- 10 (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:1, по
- 15 меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:1, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:1, по
- 20 меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:1;
- (в) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), как задепонировано в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под номером доступа CNCM I-5123;
- (г) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает
- 25 рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 2,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере
- 30 на 70% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:2, по

меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:2, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:2.

5 [00315] 4. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 3, где вирусный вектор является рекомбинантным и/или не встречающимся в природе.

10 [00316] 5. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 4, где вирусный вектор представляет собой вектор оспы канареек, предпочтительно аттенуированный вектор оспы канареек, более предпочтительно ALVAC, еще более предпочтительно ALVAC-1 или ALVAC-2, наиболее предпочтительно ALVAC, как задепонировано на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2547.

15 [00317] 6. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 4, где вирусный вектор представляет собой вектор оспы кур, предпочтительно аттенуированный вектор оспы кур, более предпочтительно TROVAC, наиболее предпочтительно TROVAC, как задепонировано на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2553.

20 [00318] 7. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 5, где вирусный вектор выбирают из группы, включающей: vCP3025, vCP3029, vCP3041.

25 [00319] 8. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 7, где по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность выбирают из группы, включающей: последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок ("N"), последовательность, кодирующую фосфопротеин ("P"), последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы ("L"), и более предпочтительно

представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и/или последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и/или последовательность, кодирующую слитый белок (“F”).

5 [00320] 9. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:4, по 10 меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:4, по 15 меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:4, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:4, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5.

20 [00321] 10. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 25 70% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей 30 мере 94% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:6, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:6, по

меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:6, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:6.

**[00322]** 11. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("М"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("М"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:7, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:7, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8.

**[00323]** 12. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок ("М"), и последовательность, кодирующая матриксный белок ("М"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:9, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:9, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:9.

[00324] 13. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:10, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:10, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11.

[00325] 14. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:12, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:12, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:12.

[00326] 15. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), и последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:13, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:13, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:13.

[00327] 16. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), и последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:14, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:14, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:14.

[00328] 17. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:15, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:15, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:15.

[00329] 18. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:16, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:16, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:16.

[00330] 19. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:17, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:17, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:17.

[00331] 20. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:18, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:18, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:18.

**[00332]** 21. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:19, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:19, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:19.

**[00333]** 22. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:20, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:20, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:20.

[00334] 23. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:21, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:21, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:21.

[00335] 24. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:22, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:22, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:22.

**[00336]** 25. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:23, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:23, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:23.

**[00337]** 26. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:24, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:24, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:24.

**[00338]** 27. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), и последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:25, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:25, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:25.

**[00339]** 28. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), и последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:26, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:26, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:26.

[00340] 29. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:27, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:27, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:27.

[00341] 30. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:28, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:28, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:28.

[00342] 31. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:29, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:29, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:29.

[00343] 32. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:30, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:30, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:30.

[00344] 33. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:31, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:31, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32.

[00345] 34. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:33, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:33, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:33.

[00346] 35. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:34, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:34, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35.

[00347] 36. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), и последовательность, кодирующую матриксный белок (“М”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:36, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:36, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:36.

[00348] 37. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:37, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:37, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:37.

[00349] 38. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:38, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:38, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:38.

[00350] 39. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), и последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:39, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:39, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:39.

[00351] 40. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), и последовательность, кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:40, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:40, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:40.

[00352] 41. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:41, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:41, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:41.

[00353] 42. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), и последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:42, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:42, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:42.

[00354] 43. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:43, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:43, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:43.

[00355] 44. Вирусный вектор по пункту 8, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:44, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:44, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:44.

[00356] 45. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 44, где вирусный вектор включает две или больше экзогенные антигенкодирующие последовательности, предпочтительно последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), и последовательность, кодирующую матриксный белок ("М"), или последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), и последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), или последовательность, кодирующую матриксный белок ("М"), и последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), или последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), и последовательность, кодирующую матриксный белок ("М"), и последовательность, кодирующую слитый белок ("F"); или предпочтительно одинаковые две экзогенные антигенкодирующие последовательности (то есть Н + Н, F + F, М + М, Р + Р, L + L, N + N), но из двух различных штаммов, такую как одна экзогенная антигенкодирующая последовательность из штамма кошачьего парамиксовируса тип 2 (FPaV-2), более предпочтительно штамм "Gordon" или штамм "TV25", а другая экзогенная антигенкодирующая последовательность из штамма кошачьего морбилливируса, более предпочтительно штамм "Larön" – например, последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), из одного штамма и последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), из другого штамма; более предпочтительно, один штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("Н"), из одного штамма" представляет собой штамм кошачьего парамиксовируса тип 2 (FPaV-2), еще более предпочтительно штамм "Gordon" или штамм "TV25", а другой штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("Н"), из другого штамма" представляет собой штамм кошачьего морбилливируса, еще более предпочтительно штамм "Larön"; наиболее предпочтительно, один штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("Н"), из одного штамма" представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок ("Н"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 80%

идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:4 или 19, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:4 или 19, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:19; а другой штамм “последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок (“Н”), из другого штамма” представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“Н”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“Н”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 75% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 80% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 85% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 91% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 92% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 93% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 94% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 95% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 96% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 97% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 98% идентична SEQ ID NO:31 или 94, по меньшей мере 99% идентична SEQ ID NO:31 или 94, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:94.

[00357] 46. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 45, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность инсертирована в по меньшей мере один локус инсерции, предпочтительно в несущественный участок генома вирусного вектора.

- [00358] 47. Вирусный вектор по пункту 46, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность инсертирована в два или больше локусов инсерции.
- 5 [00359] 48. Вирусный вектор по одному из пунктов 46 - 47, где по меньшей мере один локус инсерции представляет собой локус инсерции С3.
- [00360] 49. Вирусный вектор по одному из пунктов 46 - 48, где вирусный вектор включает фланкирующие последовательности локуса инсерции С3, предпочтительно в соответствии с SEQ ID NO:45 (левое плечо фланкирующего участка С3) и SEQ ID NO:46 (правое плечо фланкирующего участка С3).
- 10 [00361] 50. Вирусный вектор по одному из пунктов 46 - 49, где по меньшей мере один локус инсерции представляет собой локус инсерции С5.
- [00362] 51. Вирусный вектор по одному из пунктов 46 - 50, где вирусный вектор включает фланкирующие последовательности локуса инсерции С5, предпочтительно в соответствии с SEQ ID NO:47 (левое плечо фланкирующего участка С5) и SEQ ID NO:48 (правое плечо фланкирующего участка С5).
- 15 [00363] 52. Вирусный вектор по пунктам 46 - 51, где по меньшей мере один локус инсерции представляет собой локус инсерции С6.
- 20 [00364] 53. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 46, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность функционально связана с по меньшей мере одной промоторной последовательностью, предпочтительно слабой промоторной последовательностью.
- 25 [00365] 54. Вирусный вектор по пункту 53, где по меньшей мере одна промоторная последовательность представляет собой Н6 промотор осповакцины.
- [00366] 55. Вирусный вектор по одному из пунктов 53 - 54, где по меньшей мере одна промоторная последовательность представляет собой I3L промотор осповакцины.
- 30 [00367] 56. Вирусный вектор по одному из пунктов 53 - 55, где по меньшей мере одна промоторная последовательность представляет собой поксвирусный промотор 42тпн (длина).

- [00368] 57. Вирусный вектор по одному из пунктов 53 - 56, где по меньшей мере одна промоторная последовательность представляет собой промотор осповакцины 7,5тпн.
- 5 [00369] 58. Вирусный вектор по одному из пунктов 53 - 57, где по меньшей мере одна промоторная последовательность представляет собой P<sub>i</sub> промотор осповакцины.
- [00370] 59. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 58, где вирусный вектор дополнительно включает дополнительные регуляторные последовательности, такие как стоп-кодон и/или последовательность полиаденилирования.
- 10 [00371] 60. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 59, где вирусный вектор включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентична последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:95, и предпочтительно представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей: SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:95.
- 15 [00372] 61. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 60, где представитель семейства кошачьих представляет собой кошку, предпочтительно домашнюю кошку.
- 20 [00373] 62. Клетка-хозяина млекопитающего, отличающаяся тем, что она включает вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 61.
- [00374] 63. Применение вирусного вектора по одному из пунктов 1 - 61 или клетки-хозяина млекопитающего по пункту 62 для приготовления иммуногенной композиции или вакцины.
- 25 [00375] 64. Иммуногенная композиция, включающая
- (а) вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 61 или клетку-хозяина млекопитающего по пункту 62, и/или
- 30 (б) полипептид, кодируемый вирусным вектором по одному из пунктов 1 - 61, такой как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и

(в) необязательно фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения;

5 где предпочтительно указанная иммуногенная композиция включает вирус, такой как патогенный вирус.

**[00376]** 65. Вакцина или фармацевтическая композиция, включающая

(а) вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 61 или клетку-хозяина млекопитающего по пункту 62, и/или

10 (б) полипептид, кодируемый вирусным вектором по одному из пунктов 1 - 61, такой как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и

(в) фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является  
15 подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения,

(г) необязательно указанная вакцина или фармацевтическая композиция дополнительно содержит адъювант.

**[00377]** 66. Способ приготовления иммуногенной композиции или

20 вакцины для уменьшения частоты и/или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, включающий следующие стадии:

(а) инфицирование клетки-хозяина млекопитающего по пункту 62 вирусным  
25 вектором по одному из пунктов 1 - 61,

(б) культивирование инфицированных клеток в подходящих условиях,

(в) сбор инфицированных клеточных культур,

(г) необязательно очистку собранных инфицированных клеточных культур со  
30 стадии (в),

(д) необязательно смешивание указанных собранных инфицированных клеточных культур с фармацевтически приемлемым носителем.

**[00378]** 67. Иммуногенная композиция по пункту 64 или вакцина по пункту 65 для применения в способе уменьшения или предотвращения

клинических симптомов или заболевания, вызываемого инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом или для применения в способе лечения и/или предотвращения инфицирования по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, где предпочтительно указанный представитель семейства кошачьих представляет собой кошку, более предпочтительно домашнюю кошку, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанные клинические симптомы или заболевание, вызываемое инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, или указанное инфицирование по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом выбирают из группы, включающей: вирусемию, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

**[00379]** 68. Способ иммунизации кошачьего, такого как кошка, более предпочтительно домашняя кошка, от клинического заболевания, вызываемого по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом в указанного кошачьего, где указанный способ включает этап введения кошачьему иммуногенной композиции по пункту 64 или вакцина по пункту 65, где указанная иммуногенная композиция или вакцина не способна вызывать клинические симптомы инфицирования, но способна индуцировать иммунный ответ, который иммунизирует кошачьего от патогенных форм указанного по меньшей мере одного парамиксовируса, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанное клиническое заболевание или указанные клинические симптомы инфицирования выбирают из группы, включающей: вирусемию, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и

интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (TIN).

[00380] 69. Набор для вакцинации кошачьего, предпочтительно кошки, более предпочтительно домашней кошки, от заболевания, связанного с и/или уменьшения частоты или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом у кошачьего, включающий:

- (а) диспенсер, способный вводить вакцину указанному кошачьему; и
- (б) иммуногенную композицию по пункту 64 или вакцину по пункту 65, и
- (в) необязательно листок-вкладыш с инструкцией;

где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанное заболевание или указанные клинические симптомы выбирают из группы, включающей: вирусемию, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (TIN).

#### ПРИМЕРЫ

[00381] **ПРИМЕР 1: Конструирование vCP3025: ALVAC C5/H6p Синтетический Gordon H и vCP3029: ALVAC C3/длина 42 тпн Синтетический Gordon M + C5/H6p Синтетический Gordon H (содержащий SEQ ID NOS: 49, 50 и 51; Фигуры 2, 3 и 4)**

[00382] Задача: Для создания двух ALVAC конструкций: одна с единичной инсерцией и одна с двойной инсерцией. Единичная конструкция экспрессирует кодон-оптимизированный Gordon H в C5 локусе инсерции под контролем H6 промотора. Двойная конструкция экспрессирует оба кодон-оптимизированных Gordon H в C5 локусе инсерции под контролем H6 промотора и кодон-оптимизированный Gordon M в C3 локусе инсерции под контролем промотора длиной 42 тпн.

[00383] Гены: Синтетический Gordon H; Синтетический Gordon M

[00384] Общая информация относительно рекомбинации:

- А. Родительский вирус: последний пассаж, имеющий происхождение из ALVAC, по существу, такой же вирус, как и родительский ALVAC ATCC VR-2547, за исключением уровня пассажа; Титр=  $1,5 \times 10^{10}$  БОЕ/мл
- Б. Донорская плазмида: pC5 H6p Gordon H (опт); pC3 42тпн Gordon M (опт)
- 5 В. Лocus инсерции: единичный=C5; двойной=C3 и C5
- Г. Промоторы: C5 сайт/locus инсерции =H6 промотор; C3 сайт/locus инсерции =длина 42 тпн промотор
- Д. Клетки для рекомбинации *in vitro*: Первичные фибробластные клетки куриного эмбриона (1°CEF)
- 10 Е. Способы рекомбинантной селекции: Гибридизация бляшек с помощью Gordon H и Gordon M специфических зондов
- [00385] Подробное описание рекомбинантной генерации.
- [00386] Рекомбинацию *in vitro* (IVR) осуществляли путем трансфекции 1° CEF клеток с Not I-линеаризованной донорской плазмидой. Осуществляли единичную IVR, используя 20 мкг каждой донорской плазмиды [pC5 H6p Gordon H (опт) и pC3 42тпн Gordon M (опт)]. Fugene HD (№ по кат. Promega E2311) представлял собой реагент для трансфекции. После этого трансфектированные клетки инфицировали с применением родительского ALVAC в качестве спасательного вируса при MOI, равной 10. Через 24 часа, трансфектированные-инфицированные клетки собирали, обрабатывали ультразвуком и использовали для скрининга рекомбинантного вируса.
- 15
- 20
- [00387] Рекомбинантные бляшки подвергали скринингу на основе метода гибридизации переноса бляшек. Инфицированные монослои рассеивали на положительно заряженные нейлоновые гибридизационные мембраны (№ кат. GE Healthcare RPN82B) и копии тех переносов приготавливали путем прессования дополнительных нейлоновых мембран против оригинальных переносов в присутствии буфера для переноса. Копии зондировали либо с меченым биотином Gordon H-специфическим зондом или меченым биотином Gordon M-специфическим зондом. В циклах 3 и 4, готовили третью партию переносов и зондировали со ALVAC специфическими родительскими зондами (C3 зонд в цикле 3; C5 зонд в цикле 4). ALVAC родительские зонды связывались с участками ORF, которые deletировали во время рекомбинации. Зонды метили, используя Thermo Scientific DecaLabel DNA
- 25
- 30

Labeling Kit; № продукта K0622. Зондированные переносы развивали, используя Thermo Scientific Chemiluminescent Nucleic Acid Detection Module Kit; № продукта 89880. Рекомбинантные бляшки отбирали, отрезали от исходной мембраны, и использовали для инфицирования на следующем

5 цикле очистки. В третьем последовательном цикле очистки бляшек, отбирали рекомбинант, обозначенный как vCP3029.2.2.1. На основании результатов на пленке, полагают, что эта бляшка продуцирует двойной инсертированный вирус в следующем цикле скрининга. Тем не менее, высевание этой отобранной бляшки в четвертом цикле скрининга продуцирует как бляшки с

10 единственным инсертом [Gordon H (опт) в C5 сайте], так и двойным инсертом [Gordon H (опт) в C5 сайте и Gordon M (опт) в C3 сайте]. Бляшку с двойным инсертом отбирали и метили vCP3029.2.2.1.2. Бляшку с единственным инсертом отбирали и метили vCP3025.2.2.1.1.

**[00388]** Пятый и последний цикл очистки бляшек осуществляли для

15 vCP3025.2.2.1.1 и для vCP3029.2.2.1.2. Два агарозных выреза индивидуальных бляшек отбирали из неразведенного планшета vCP3025.2.2.1.1 (vCP3025.2.2.1.1.1 и vCP3025.2.2.1.1.2). Аналогичным образом, три агарозных выреза индивидуальных бляшек отбирали из неразведенного планшета vCP3029.2.2.1.2. (vCP3029.2.2.1.2.3,

20 vCP3029.2.2.1.2.4, и vCP3029.2.2.1.2.5). Эти вырезы распространяли для получения P1 (пассаж 1) (Т-25 колба). ПЦР тестирование подтверждало, что vCP3025.2.2.1.1.2 содержит Gordon H (опт) инсерцию в C5 сайте и что на не содержит Gordon M (опт) инсерцию в C3 сайте. Аналогичным образом, ПЦР тестирование подтверждало, что vCP3029.2.2.1.2.3 содержит Gordon H (опт)

25 инсерцию в C5 сайте и Gordon M (опт) инсерцию в C3 сайте. vCP3025.2.2.1.1.2 (единичный инсерт) и vCP3029.2.2.1.2.3 (двойной инсерт) распространяли до P2 (пассаж 2) (две Т-150 колбы для каждой конструкции). Эти P2 маточные растворы обозначали как vCP3025 P2 и vCP3029 P2.

**[00389]** vCP3025 P2 и vCP3029 P2 увеличивали до P3 (пассаж 3) (четыре

30 вращающихся флакона на конструкцию). P3 материалы концентрировали и очищали через осадок сахарозы. Эти P3 маточные растворы обозначали как vCP3025 и vCP3029.

[00390] Анализ рекомбинанта: Следующие анализы осуществляли на Р3 маточных растворах

[00391] Стерильность: Тестирование стерильности осуществляли на Р3 маточных растворах vCP3025 и vCP3029. Для каждой конструкции, 50 мкл аликвот высевали на каждый из двух планшетов агара Сабуро с декстрозой (SDA) и на каждый из двух планшетов триптиказо-соевый агар с 5% кровью овец (TSA II 5% SB) (BBL № по кат. 221180 и № 221239, соответственно). Для каждой конструкции, один SDA планшет и один TSA II 5% SB планшет инкубировали при 37°C в течение 10 дней, и другой набор планшетов инкубировали при комнатной температуре в течение 10 дней. Через 10 дней, ни один из этих планшетов не проявил каких-либо признаков роста бактерий и грибов.

[00392] Подтверждение генетической чистоты:

[00393] Чистоту Р3 маточных растворов подтверждали с помощью нескольких отдельных ПЦР реакций. В первой ПЦР реакции использовали праймеры, расположенные на любом конце С5 плеч (праймеры 7931 и 7932). Эти праймеры продуцируют полосу 2470 по для дикого типа ALVAC и полосу 4240 по для рекомбинантов, содержащих Gordon H (опт) в С5 сайте. Несмотря на то, что существуют праймеры, которые будут амплифицировать целый С3 участок, те праймеры будут продуцировать полосу 4539 по для дикого типа ALVAC и полосу 4289 по рекомбинантов, содержащих Gordon M (опт) в С3 сайте. Это отличие размера тяжело обнаружить на геле. По этой причине, осуществляли две другие ПЦР для анализа С3 сайта. В первой реакции, праймеры, используемые для получения Gordon M зонда (Gordon\_M\_зонд\_F и Gordon\_M\_зонд\_R) использовали для амплификации образцов. Эти праймеры продуцируют полосу 621 по для рекомбинантов, содержащих Gordon M (опт) в С3 сайте и не продуцируют полос для дикого типа ALVAC. Во второй реакции, праймеры, используемые для получения С3 зонда дикого типа (С3F и С3R), использовали для амплификации образцов. Эти праймеры расположенные в участке, который делетирован во время рекомбинации, и продуцируют полосу 1007 по для дикого типа ALVAC и не продуцируют полос для рекомбинантов, содержащих Gordon M (опт) в С3 сайте.

- [00394]** Анализ последовательности: Более подробные анализы последовательностей РЗ маточных растворов осуществляли путем ПЦР амплификации и анализ последовательности С5 сайта для vCP3025 и С3 и С5 сайтов для vCP3029. С5 сайты амплифицировали, используя праймеры 7931 и 7932, которые расположены в непосредственной близости к плечам С5 рекомбинации. С3 сайт амплифицировали, используя праймеры С3-PCR-F и С3-PCR-R, которые расположены в непосредственной близости к плечам С3 рекомбинации. Во всех случаях, ПЦР продуцирует единичную полосу предполагаемого размера и секвенирование демонстрирует предполагаемые результаты для рекомбинированного плеча.
- [00395]** Методы, реагенты и праймеры
- [00396]** Праймеры для амплификации Gordon H (опт) зонда:  
 Gordon H зонд F GTTCGCCACCGTGAACATCC (SEQ ID NO:89)  
 Gordon H зонд R CACTGCCTTCACGGTCACG (SEQ ID NO:88)
- [00397]** Праймеры для амплификации Gordon M (опт) зонда:  
 Gordon M зонд F GGAGATCCTGACTCTGAACATCG (SEQ ID NO:52)  
 Gordon M зонд R CTCCACAGAGTTTTATTTCAGCCC (SEQ ID NO:53)
- [00398]** Праймеры для амплификации ALVAC родительского зонда (С3 сайт):  
 С3F CGTAGAGTTTTTTGTCTAGTTCTAT (SEQ ID NO:54)  
 С3R GTTGTTTTATGCGGTAAAGAATAAT (SEQ ID NO:55)
- [00399]** Праймеры для амплификации ALVAC родительского зонда (С5 сайт):  
 7520 TCTTGCTTCGCAGTCATCGTTCTG (SEQ ID NO:56)  
 7521 TCTAAAATGCATAATTTCTAA (SEQ ID NO:57)
- [00400]** Праймеры для ПЦР амплификации С3 сайта для секвенирования:  
 С3-PCR-F GCTAACACAAGTTAGAGGCGTATTAC (SEQ ID NO:58)  
 С3-PCR-R CATTAATTATGTGATGAGGCATCCAAC (SEQ ID NO:59)
- [00401]** Праймеры для ПЦР амплификации С5 сайта для секвенирования:  
 7931 GAATCTGTTAGTTAGTTACTTGGAT (SEQ ID NO:75)  
 7932 TGATTATAGСТАТТATCACAGACTC (SEQ ID NO:76)
- [00402]** Праймеры для секвенирования С3 сайта:  
 С3-PCR-F GCTAACACAAGTTAGAGGCGTATTAC (SEQ ID NO:58)  
 С3-PCR-R CATTAATTATGTGATGAGGCATCCAAC (SEQ ID NO:59)  
 С3-R1 TTTATAGGTAAATCCAGGAA (SEQ ID NO:60)

	C3-R2	GCCTACTAAGAAAAGTAGAAGATAC (SEQ ID NO:61)
	C3-R3	AGATTGATATAAATGAATATGTAA (SEQ ID NO:62)
	C3-R4	CGACGTTAGGTTAGATACTG (SEQ ID NO:63)
	C3-R5	ATGCGGTACCCTGTTCGAAG (SEQ ID NO:64)
5	C3-R6	CAGAAATGAGTAATGGAAGA (SEQ ID NO:65)
	C3-R7	CTGGAAATAGTCCGTTATAT (SEQ ID NO:66)
	C3-R8	CAGTATCTCATAAAGGCACTTA (SEQ ID NO:67)
	C3-R9	CCGTTCTAAATATAGCTGTTGCAT (SEQ ID NO:68)
	Gordon M 1F	ATGACTGAGATCTTCAACCTGG (SEQ ID NO:69)
10	Gordon M 2F	TGAGCATGGGGACCATCCTG (SEQ ID NO:70)
	Gordon M 3F	GGGCTGAATAAACTCTGTGGAG (SEQ ID NO:71)
	Gordon M зонд F	GGAGATCCTGACTCTGAACATCG (SEQ ID NO:52)
	Gordon M 1R	CGATGTTTCAGAGTCAGGATCTCC (SEQ ID NO:72)
	C3-F5	CACGGATTATCTACTGTGAT (SEQ ID NO:73)
15	C3-F7	GCAACAGTAGTTATACGATGAG (SEQ ID NO:74)
	<b>[00403]</b>	Праймеры для секвенирования C5 сайта:
	7931	GAATCTGTTAGTTAGTTACTTGGAT (SEQ ID NO:75)
	7932	TGATTATAGCTATTATCACAGACTC (SEQ ID NO:76)
	7927.DC	CTCTTGCATATTCGTAATAGTAATTG (SEQ ID NO:77)
20	7696.CXL	ATTCTATCGGAAGATAGGATACCAG (SEQ ID NO:78)
	7697.CXL	ATGCACAACCTTCTTGTCTGCATGATG (SEQ ID NO:79)
	7925.DC	TACGGCTATATGTAGAGGAGTTAACC (SEQ ID NO:80)
	7792.SL	CTCTGAGACACAAAAGAGGTAGCTG (SEQ ID NO:81)
	7793SL	CATAGAACGGTATAGAGCGTTAATC (SEQ ID NO:82)
25	7928.DC	CATCATGAGCAACGCGTTAGTATAT (SEQ ID NO:83)
	7929.DC	GGAGATACCTTTAGATATGGATCTG (SEQ ID NO:84)
	7926.DC	TCAACAACCGCTCGTGAACAGCTTC (SEQ ID NO:85)
	Gordon H 1R	GCTCGGTGCTCATTGCGTTG (SEQ ID NO:86)
	Gordon H 2F	CAACGCAATGAGCACCGAGC (SEQ ID NO:87)
30	Gordon H зонд R	CACTGCCTTCACGGTCACG (SEQ ID NO:88)
	Gordon H зонд F	GTTCGCCACCGTGAACATCC (SEQ ID NO:89)
	Gordon H 1F	TCGCGATATCCGTTAAGTTTGTA (SEQ ID NO:90)
	Gordon H 3F	GAATATCCCCACCAGGTCTATCTAC (SEQ ID NO:91)

Gordon H 4F TACCGACGATGTGCCCATCC (SEQ ID NO:92)

Gordon H 5F ATCTCCGACGGCCTGATCAT (SEQ ID NO:93)

[00404] Клетки для рекомбинации *in vitro*: Первичные фибробластные клетки куриного эмбриона (1<sup>o</sup>CEF) выращивали в 10% FBS (Hyclone № по кат. SH30071.03) DMEM (Gibco № по кат. 11960), дополненной 4 мМ глутамином (Gibco № по кат. 25030) и 1 мМ пирувата натрия (Gibco № 11360) в присутствии 1х антибиотиков/противогрибковых препаратов (P/S/A/A, Gibco № по кат. 15240). Fugene реагент для трансфекции (№ по кат. Promega E2311).

10 [00405] Вирус в конечной концентрации ресуспендировали в 1 мМ Трис, pH 9,0

[00406] vCP3025 титр =  $2,3 \times 10^9$  БОЕ/мл

[00407] vCP3029 титр =  $1,9 \times 10^9$  БОЕ/мл

15 [00408] **ПРИМЕР 2: Пример вакцинации (vCP3025 – Gordon H; содержащий SEQ ID NO: 49; Фигура 2)**

[00409] В SD0 и SD21, суммарную дозу 1 мл ALVAC-Gordon H векторной вакцины с титром приблизительно  $1 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/мл вводили группе из 8 кошек (группа 1). Полагают, что эта доза доставляет достаточные количества вакцинного вируса для вызывания иммунного ответа на выбранный антиген (FaPV-2 гемагглютинин). Отрицательный контроль (группа 3) вакцинировали с применением нерелевантной ALVAC векторной конструкции (то есть ALVAC бешенства). У животных отбирали образцы крови в SD0, SD21 и SD 42 и гуморальный иммунный ответ определяли с помощью специфических ELISA, иммунофлуоресцентного анализа (IFA) и/или реакции нейтрализации вируса/ сывороточной нейтрализации (VNT/SNT) (Пример 4). В SD42 животным соответствующих групп внутривенно (в/в) инокулировали вирусом для заражения, как описано ниже (Пример 5) и дополнительно измеряли данные параметры инфицирования (виремию, выделение, распределение вируса).

20

25

30

[00410] **ПРИМЕР 3: Пример вакцинации (vCP3029 – Gordon H + Gordon M; содержащие SEQ ID NOS: 50+51; Фигуры 3+4)**

[00411] В SD0 и SD21, суммарную дозу 1 мл ALVAC-Gordon H+M векторной вакцины с титром приблизительно  $1 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/мл вводили группе из 8 кошек (группа 2). Полагают, что эта доза доставляет достаточные количества вакцинного вируса для вызывания иммунного ответа на выбранные антигены (FaPV-2 гемагглютинин и матриксный белок). Отрицательный контроль (группа 3) вакцинировали с применением нерелевантной ALVAC векторной конструкции (то есть ALVAC бешенства). У животных отбирали образцы крови в SD0, SD21 и SD 42 и гуморальный иммунный ответ определяли с помощью специфических ELISA, иммунофлуоресцентного анализа (IFA) и/или реакции нейтрализации вируса/ сывороточной нейтрализации (VNT/SNT) (Пример 4). В SD42 животным соответствующих групп внутривенно (в/в) инокулировали вирусом для заражения, как описано ниже (Пример 5) и измеряли данные параметры инфицирования (виремию, выделение, распределение вируса).

[00412] **ПРИМЕР 4: Реакция нейтрализации вируса (VNT) / Реакция сывороточной нейтрализации (SNT)**

[00413] Для обнаружения нейтрализующих антител против кошачьего парамиксовируса, такого как FPaV-2, осуществляли реакцию нейтрализации вируса / сывороточной нейтрализации (VNT/SNT). Следовательно, образцы сыворотки кошек обрабатывали при 56 °C в течение 30 минут для инактивации факторов комплемента. 50 мкл этих инактивированных нагреванием образцов сыворотки смешивали с 50 мкл DMEM, содержащего 100 образующих флуоресценцию единиц (FFU) кошачьего парамиксовируса, такого как FPaV-2 (изолят 'Gordon'), а затем инкубировали в течение одного часа при 4 °C. Смесь использовали для инфицирования LLC-MK2-клеток в 96-луночном планшете для культивирования клеток в течение двух часов при 37 °C. Затем смесь сыворотки / вируса удаляли и заменяли на DMEM, содержащее 2 % (объем/объем) инактивированного нагреванием FBS, пирувата натрия, заменимых аминокислот, пенициллина и стрептомицина. Клетки инкубировали в течение пяти дней при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> и 90 % влажности с последующим иммунофлуоресцентным окрашиванием, как описывается ниже. Титр нейтрализации тестируемого образца сыворотки

определяют как обратную величину наибольшего разбавления исследуемой сыворотки, для которого инфекционность вируса уменьшена на 50 % по сравнению с вирусным контролем без инкубации сыворотки.

5 [00414] Для обнаружения инфекций кошачьего парамиксовируса, такого как  
FPaV-2 инфекции, LLC-MK2 клетки инфицировали, как описано ниже, и  
окрашивали с применением специфического антитела к кошачьему  
парамиксовирусу, используя технологии иммунофлуоресценции. С этой  
целью адгезивные клетки промывали PBS после инфекционного периода в 5  
10 дней, а затем фиксировали с использованием 80 % ацетона при -20°C в  
течение 10 минут. Клетки два раза промывали PBS и неспецифическое  
связывание блокировали путем инкубации с 5% BSA в PBS при 37°C в  
течение одного часа. Затем осуществляли этап инкубации с антителом против  
кошачьего парамиксовируса (например, анти-FPaV-2 нуклеокапсид,  
поликлональное, кролика) в конечной концентрации 1 мкг/мл в 1% BSA в  
15 PBS в течение одного часа при 37°C. Клетки промывали три раза PBS, затем  
применяли конъюгат козье антикроличье IgG (H+L) вторичное антитело,  
'Alexa Fluor® 488' (Thermo Fisher Scientific) в конечном разбавлении 1:1000 в  
1% BSA в PBS. После инкубации в течение одного часа при 37°C клетки два  
20 раза промывали PBS и клетки подвергали скринингу для определения  
присутствия FPaV-2 с применением флуоресцентного микроскопа.

[00415] Для культивации вируса LLC-MK2 и CrFK клетки высевали в 75 см<sup>2</sup>  
флаконы для культивирования клеток в DMEM (с пируватом натрия и  
заменимыми аминокислотами) с 5 % FBS в атмосфере, включающей 5 %  
диоксида углерода при 37 °C и 90 % влажности. При 70 – 80 % слиянии  
25 клетки инфицировали смесью одного миллилитра мочи и 5 мл DMEM (с  
пенициллином и стрептомицином) в течение ночи при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 90%  
влажности. Через 24 часа инфекционную среду заменяли на 8 мл  
культивационной среды (DMEM, пируват натрия, заменимые аминокислоты,  
5 % FBS, пенициллин и стрептомицин) и культивировали в течение  
30 следующих 6 дней в указанных условиях. Супернатант культур клеток из  
этой инфекции подвергают трем дополнительным пассажам. После этого 600  
мкл супернатанта культур клеток тестировали на присутствие кошачьих  
парамиксовирусов.

**[00416]     ПРИМЕР 5: Модель заражения**

**[00417]**     Применяли клиническое исследование на модели заражения для исследования экспрессии на ранних стадиях инфицирования и заболевания. Внутривенное (в/в) заражение в дозе, максимально близко к дозе заражения  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/мл с применением FPaV-2 штамма “Gordon” осуществляли с последующим наблюдением в течение 56 дней после заражения. Поскольку не предполагают наличия клинических симптомов СКД, основными задачами клинического исследования модели заражения являются мониторинг прежде всего инфекции, возможного эффекта инфицирования на функцию почек, иммунного ответа на инфекцию, для оценки потенциального распространения и для подтверждения оседания вируса в почках с помощью иммуногистохимии (ИНС) и возможно других органах.

**[00418]**     Предполагаемые симптомы на ранних стадиях заболевания связаны с вирусемией (апатия, гипертермия, потеря веса). Предполагаемые симптомы на поздних стадиях, возможно, связаны с хронической почечной недостаточностью (потеря веса тела, уремия, слизистые поражения). Маточный вирус FPaV-2 штамма “Gordon” (с титром  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/мл) приготавливали на в первую очередь моноклеарных клетках периферической крови кошек (РВМС) или на других клетках, таких как LLC-MK2 клеточная линия. Маточный раствор тестировали отрицательно относительно присутствия общераспространенных патогенов кошачьих (включая вирус инфекционного энтерита представителей семейства кошачьих, вирус иммунодефицита представителей семейства кошачьих, вирус лейкоза представителей семейства кошачьих и коронавирусы представителей семейства кошачьих, соответственно). Кошкам, смешанных пород, инокулировали 1 мл ( $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/мл) маточного вируса внутривенно (в/в).

**[00419]**     План и осуществление эксперимента: для графического представления, см. фигуру 5.

**[00420]**     Ниже представлены группы кошек A1, A2, B1, B2, C1, и C2 с различным временем некропсии: A1 и A2 в D14, B1 и B2 в D28, C1 и C2 в D56. При разбитии на подгруппы руководствовались для избегания отбора

образцов у всех кошек каждый день для избегания слишком большого стресса для животных.

- Клиническое исследование и ректальная температура ежедневно от D0 до D14 (кроме субботы и воскресенья) и два раза в неделю от D15 до D56
- 5
- Взвешивание два раза в неделю от D0 до D56
  - Отбор образцов крови для мониторинга виремии с помощью ПЦР

Виремия	D-7	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D14	D21	D28	D35	D42	D49	D56
A1	X	X						X						X						
A2	X		X						X					X						
B1	X			X						X					X	X				
B2	X				X						X					X				
C1	X					X						X					X		X	X
C2	X						X						x					X		X

- Отбор образцов мочи для мониторинга виремии с помощью ПЦР и липидурии
- 10

Моча	D7	D14	D21	D28	D35	D42	D49	D56
A1	C	PM						
A2		PM						
B1			C	PM				
B2				PM				
C1					C		C	PM
C2						C		PM

(C = цистоцентез; PM = посмертно)

- 20
- Мазки из носа и рта для мониторинга виремии с помощью ПЦР

Мазки	D-7	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D14	D21	D28	D35	D42	D49	D56
A1	X	X						X						X						
A2	X		X						X					X						
B1	X			X						X					X	X				
B2	X				X						X					X				
C1	X					X						X					X		X	X
C2	X						X						x					X		X

- Биохимия крови и подсчёт количества клеток

	D-7	D14	D21	D28	D35	D42	D49	D56
A1	X	X						5
A2	X	X						
B1	X		X	X				
B2	X			X				
C1	X				X		X	X
C2	X					X		X

- 10
- Отбор образцов сыворотки для серологии

Серология	D-7	D7 или D8	D14	D28	D56
A1	X	X	X		
A2	X	X	X		
B1	X			X	
B2	X			X	
C1	X				15
C2	X				X

- Некропсия и гистология

20 [00421] Полную некропсию осуществляли для каждого животного с отбором образцов почек, селезенки, печени, мочевого пузыря и легких. Образцы органов отбирали для гистологии и обнаружения вируса с помощью ПЦР.

25 [00422] При клиническом исследовании на модели заражения тестировали гипотезу о том, что вакцины на основе вирусных векторов в соответствии с настоящим изобретением способны предотвращать и/или уменьшать интенсивность и/или продолжительность виремии кошачьего парамиксовируса при заражении у кошек. Дополнительно, вакцинация кошек с применением вирусных векторов согласно заявляемому изобретению индуцирует антитела, например, к гемагглютининовому антигену кошачьего парамиксовируса.

30 [00423] **ПРИМЕР 6: Конструирование vCP3041: ALVAC C5/H6p Синтетический Gordon H + C3/ Laröп H длина 42 тпн дикий тип (содержащий SEQ ID NOS: 49 + 95)**

[00424] Задача: Для создания ALVAC конструкции с двойной инсерцией.

Конструкция экспрессирует кодон-оптимизированный Gordon H в C5 локусе инсерции под контролем H6 промотора (используемый в качестве родительского) и Larön H дикого типа (без сайта BamH I рестрикционного фермента; SEQ ID NO: 94) в C3 локус инсерции под контролем промотора длиной 42 тпн (новая инсерция) (Фигуры 6 и 7).

[00425] Гены: Синтетический Gordon H; Larön H дикого типа

[00426] Общая информация относительно рекомбинации:

А. Родительский вирус: vCP3025: ALVAC C5/H6p Синтетический Gordon H ; Титр=  $2,3 \times 10^9$  БОЕ/мл

Б. Донорская плазида: pC3 длина 42 тпн Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента)

В. Локус инсерции: C3

Г. Промоторы: длина 42 тпн промотор

Д. Клетки для рекомбинации *in vitro*: Первичные фибробластные клетки куриного эмбриона (1°CEF)

Е. Способы рекомбинантной селекции: Гибридизация бляшек с помощью Gordon H (опт) и Larön H (дт) специфических зондов

[00427] Подробное описание рекомбинантной генерации.

Рекомбинацию *in vitro* (IVR) осуществляли путем трансфекции 1° CEF клеток с 20 мкг Not I-линеаризованной донорской плазмиды [pC3 длина 42 тпн Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента)]. Fugene HD (№ по кат. Promega E2311) представлял собой реагент для трансфекции. После этого трансфектированные клетки инфицировали с применением vCP3025 в качестве спасательного вируса при MOI, равной 10. Через 24 часа, трансфектированные-инфицированные клетки собирали, обрабатывали ультразвуком и использовали для скрининга рекомбинантного вируса.

[00428] Рекомбинантные бляшки подвергали скринингу на основе метода

гибридизации переноса бляшек. Инфицированные монослои рассеивали на положительно заряженные нейлоновые гибридизационные мембраны (№ кат. GE Healthcare RPN82B) и копии тех переносов приготавливали путем

- прессования дополнительных нейлоновых мембран против оригинальных переносов в присутствии буфера для переноса. Копии зондировали с помощью меченного биотином Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента)-специфического зонда или меченного биотином ALVAC родительского С3 зонда. ALVAC родительский зонд связывается с участком ORF, который делетируют во время рекомбинации. Зонды метили, используя Thermo Scientific DecaLabel DNA Labeling Kit; № продукта K0622. Зондированные переносы развивали, используя Thermo Scientific Chemiluminescent Nucleic Acid Detection Module Kit; № продукта 89880.
- 10 Рекомбинантные бляшки отбирали, отрезали от исходной мембраны, и использовали для инфицирования на следующем цикле очистки. После осуществления трех или четырех циклов последовательной очистки бляшек, выделяли рекомбинанты, содержащий Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента) ген в С3 локусе.
- 15 **[00429]** В конечном цикле очистки, отбирали несколько агарозных вырезков от единичных, изолированных бляшек. Эти вырезы размножали для получения P1 (пассаж 1) (Т-25 колба). Осуществляли ПЦР тестирования для подтверждения, что P1 содержит обе Gordon H (опт) инсерции в С5 сайтах и Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента) инсерции в С3 сайтах. Два приемлемых кандидата размножали до P2 (пассаж 2) (две Т-150 колбы для каждой конструкции).
- 20 **[00430]** Единичный P2 увеличивали до P3 (пассаж 3) (четыре вращающихся флакона). P3 материал концентрировали и очищали через осадок сахарозы и обозначали как vCP3041.
- 25 **[00431]** Анализ рекомбинанта: Осуществляли анализы на P3 маточных растворах
- 30 **[00432]** Стерильность: Тестирование стерильности осуществляли на P3 маточных растворах для vCP3041. 50 мкл аликвот высевали на каждый из двух планшетов агара Сабуро с декстрозой (SDA) и на каждый из двух планшетов триптиказо-соевый агар с 5% кровью овец (TSA II 5% SB) (BBL № по кат. 221180 и № 221239, соответственно). Для каждой конструкции, один SDA планшет и один TSA II 5% SB планшет инкубировали при 37°C в течение 10 дней, и другой набор планшетов инкубировали при комнатной

температуре в течение 10 дней. Если через 10 дней, не было видно признаков роста бактерий или грибов на любом из планшетов, то конструкции прошли тест на стерильность.

**[00433]** Подтверждение генетической чистоты:

5 **[00434]** Чистоту РЗ маточных растворов подтверждали с помощью ПЦР.

Праймеры, расположенные на любом конце С3 плеч (С3-PCR-F и С3-PCR-R), использовали для амплификации образцов. Эти праймеры продуцируют полосу 4539 по для ALVAC вирусов, содержащих последовательность дикого типа на С3 сайте, и полосу 5063 по для рекомбинантов, содержащих Larön H (дт - без сайта BamH I рестрикционного фермента) в С3 сайте. Вторая ПЦР может быть полезной, если сложно отличить между полосами ~4,5 тпн и ~5 тпн в первой ПЦР. Вторая ПЦР включает праймеры, используемые для получения С3 зонда дикого типа (С3F и С3R). Эти праймеры расположенные в участке, который делетирован во время рекомбинации, С3 сайта и продуцируют полосу 1007 по для ALVAC последовательности дикого типа и не продуцируют полосу для рекомбинантов. Эта вторая ПЦР подтверждает, что родительского вируса не остается в РЗ образце.

15 **[00435]** Анализ последовательности: Более подробные анализы последовательностей РЗ маточных растворов осуществляли с помощью ПЦР амплификации и анализа последовательности для С3 и С5 сайтов для 20 vCP3041. С5 сайты амплифицировали, используя праймеры 7931 и 7932, которые расположены в непосредственной близости к плечам С5 рекомбинации. С3 сайт амплифицировали, используя праймеры С3-PCR-F и С3-PCR-R которые расположены в непосредственной близости к плечам С3 25 рекомбинации. Амплифицированные участки секвенировали для подтверждения целостности промоторов и генов.

**[00436]** Праймеры

**[00437]** Праймеры для амплификации ALVAC родительского зонда (С3 сайт):

С3F CGTAGAGTTTTTTGTCTAGTTCTAT (SEQ ID NO:54)

30 С3R GTTGTTTTATGCGGTAAGAATAAT (SEQ ID NO:55)

**[00438]** Праймеры для амплификации С3 сайта:

С3-PCR-F GCTAACACAAGTTAGAGGCGTATTAC (SEQ ID NO:58)

С3-PCR-R CATTAATTATGTGATGAGGCATCCAAC (SEQ ID NO:59)

- [00439] Праймеры для амплификации C5 сайта:  
 7931 GAATCTGTTAGTTAGTTACTTGGAT (SEQ ID NO:75)  
 7932 TGATTATAGСТАТТATCACAGACTC (SEQ ID NO:76)

5 [00440] **ПРИМЕР 7: Пример вакцинации (vCP3025 – Gordon H; содержащий SEQ ID NO: 49; Фигура 2)**

[00441] В SD0 и SD21, суммарную дозу 1 мл ALVAC-Gordon H векторной вакцины с титром приблизительно  $1 \times 10^{7,7}$  TCID<sub>50</sub>/дозу вводили группе из 7 кошек (группа А). Полагают, что эта доза доставляет достаточные количества  
 10 вакцинного вируса для вызывания иммунного ответа на выбранный антиген (FaPV-2 гемагглютинин). Отрицательный контроль (группа С) не вакцинировали. У животных отбирали образцы крови в SD0, SD21 и SD 35 и гуморальный иммунный ответ определяли с помощью специфических ELISA, иммунофлуоресцентного анализа (IFA) и/или реакции нейтрализации вируса/  
 15 сывороточной нейтрализации (VNT/SNT) (Пример 9). В SD49 животным соответствующих групп внутривенно (в/в) инокулировали вирусом для заражения, как описано ниже (Пример 10) и дополнительно измеряли данные параметры инфицирования (виремию, выделение, распределение вируса).

20 [00442] **ПРИМЕР 8: Пример вакцинации (vCP3029 – Gordon H + Gordon M; содержащий SEQ ID NOS: 50+51; Фигуры 3+4)**

[00443] В SD0 и SD21, суммарную дозу 1 мл ALVAC-Gordon H+M векторной вакцины с титром приблизительно  $1 \times 10^{7,7}$  TCID<sub>50</sub>/дозу вводили группе из 7 кошек (группа В). Полагают, что эта доза доставляет достаточные количества  
 25 вакцинного вируса для вызывания иммунного ответа на выбранные антигены (FaPV-2 гемагглютинин и матриксный белок). Отрицательный контроль (группа С) не вакцинировали. У животных отбирали образцы крови в SD0, SD21 и SD 35 и гуморальный иммунный ответ определяли с помощью специфических ELISA, иммунофлуоресцентного анализа (IFA) и/или реакции  
 30 нейтрализации вируса/ сывороточной нейтрализации (VNT/SNT) (Пример 9). В SD42 животным соответствующих групп внутривенно (в/в) инокулировали вирусом для заражения, как описано ниже (Пример 10) и измеряли данные параметры инфицирования (виремию, выделение, распределение вируса).

**[00444]     ПРИМЕР 9: Реакция нейтрализации вируса (VNT) / Реакция сывороточной нейтрализации (SNT)**

5            [00445]     Для обнаружения нейтрализующих антител против кошачьего  
парамиксовируса, такого как FPaV-2, осуществляли реакцию нейтрализации  
вируса / сывороточной нейтрализации (VNT/SNT). Следовательно, образцы  
сыворотки кошек обрабатывали при 56 °С в течение 30 минут для  
инактивации факторов комплемента. 50 мкл этих инактивированных  
10            нагреванием образцов сыворотки смешивали с 50 мкл DMEM, содержащего  
100 TCID<sub>50</sub> образующих флуоресценцию единиц (FFU) кошачьего  
парамиксовируса, такого как FPaV-2 (изолят 'Gordon'), а затем инкубировали  
в течение одного часа при 37°С. Смесь использовали для инфицирования  
LLC-MK2-клеток в 96-луночной планшете для культивирования клеток в  
течение двух часов при 37 °С. Клетки инкубировали в течение пяти дней при  
15            37 °С, 5 % CO<sub>2</sub> и 90 % влажности с последующим иммунофлуоресцентным  
окрашиванием, как описывается ниже. Титр нейтрализации тестируемого  
образца сыворотки определяют как обратную величину наибольшего  
разбавления исследуемой сыворотки, для которого инфекционность вируса  
уменьшена на 50 % по сравнению с вирусным контролем без инкубации  
20            сыворотки.

[00446]     Для обнаружения инфекций кошачьего парамиксовируса, такого как  
FPaV-2 инфекции, LLC-MK2 клетки инфицировали, как описано ниже, и  
окрашивали с применением специфического антитела к кошачьему  
парамиксовирусу, используя технологии иммунофлуоресценции. С этой  
25            целью адгезивные клетки промывали PBS после инфекционного периода в 5  
дней, а затем фиксировали с использованием 80 % ацетона при -20°С в  
течение 10 минут. Клетки два раза промывали PBS и неспецифическое  
связывание блокировали путем инкубации с 5% BSA в PBS при 37°С в  
течение одного часа. Затем осуществляли этап инкубации с антителом против  
30            кошачьего парамиксовируса (например, анти-FPaV-2 нуклеокапсид,  
поликлональное, кролика) в конечной концентрации 1 мкг/мл в 1% BSA в  
PBS в течение одного часа при 37°С. Клетки промывали три раза PBS, затем  
применяли конъюгат козьему антикроличьему IgG (H+L) вторичное антитело,

'Alexa Fluor® 488' (Thermo Fisher Scientific) в конечном разбавлении 1:1000 в 1% BSA в PBS. После инкубации в течение одного часа при 37°C клетки два раза промывали PBS и клетки подвергали скринингу для определения присутствия FPaV-2 с применением флуоресцентного микроскопа.

- 5 [00447] Для выделения вируса из клинических образцов, LLC-MK2 и CRFK клетки высевали в 75 см<sup>2</sup> флаконы для культивирования клеток в DMEM (с пируватом натрия и заменимыми аминокислотами) с 5 % FBS в атмосфере, включающей 5 % диоксида углерода при 37 °C и 90 % влажности. При 70 –
- 10 80% слиянии клетки инфицировали смесью одного миллилитра мочи и 5 мл DMEM (с пенициллином и стрептомицином) в течение ночи при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 90% влажности. Через 24 часа инфекционную среду заменяли на 8 мл
- 15 культивационной среды (DMEM, пируват натрия, заменимые аминокислоты, 5 % FBS, пенициллин и стрептомицин) и культивировали в течение следующих 6 дней в указанных условиях. Супернатант культур клеток из этой инфекции подвергают трем дополнительным пассажам. После этого 600
- мкл супернатанта культур клеток тестировали на присутствие кошачьих парамиксовирусов.

[00448] **ПРИМЕР 10: Модель заражения**

- 20 [00449] Применяли клиническое исследование на модели заражения для исследования экспрессии на ранних стадиях инфицирования и заболевания. Внутривенное (в/в) заражение в дозе, максимально близко к дозе заражения  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/мл с применением FPaV-2 штамма "Gordon" осуществляли с
- 25 последующим наблюдением в течение 56 дней после заражения. Поскольку не предполагают наличия клинических симптомов СКД, основными задачами клинического исследования модели заражения являются мониторинг прежде всего инфекции, возможного эффекта инфицирования на функцию почек, иммунного ответа на инфекцию, для оценки потенциального распространения
- 30 и для подтверждения оседания вируса в почках с помощью иммуногистохимии (ИНС) и возможно других органах.

- [00450] Предполагаемые симптомы на ранних стадиях заболевания связаны с вирусемией (апатия, гипертермия, потеря веса). Предполагаемые симптомы на поздних стадиях, возможно, связаны с хронической почечной

недостаточностью (потеря веса тела, уремия, слизистые поражения).

Маточный вирус FPaV-2 штамма “Gordon” (с титром  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/мл)

приготавливали на в первую очередь моноклеарных клетках

периферической крови кошек (PBMC) или на других клетках, таких как LLC-

5 МК2 клеточная линия. Маточный раствор тестировали отрицательно

относительно присутствия общераспространенных патогенов кошачьих

(включая вирус инфекционного энтерита представителей семейства

кошачьих, вирус иммунодефицита представителей семейства кошачьих,

вирус лейкоза представителей семейства кошачьих и коронавирус

10 представителей семейства кошачьих, соответственно). Кошкам, смешанных

пород, инокулировали 1 мл ( $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/мл) маточного вируса внутривенно

(в/в).

[00451] План и осуществление эксперимента:

[00452] Ниже представлены группы кошек A1, A2, B1, B2, C1, и C2 с

15 различным временем некропсии: A1 и A2 в D14, B1 и B2 в D28, C1 и C2 в

D56. При разбитии на подгруппы руководствовались для избегания отбора

образцов у всех кошек каждый день для избегания слишком большого  
стресса для животных.

- Клиническое исследование и ректальная температура ежедневно от D0 до  
20 D14 (кроме субботы и воскресенья) и два раза в неделю от D15 до D56
- Взвешивание два раза в неделю от D0 до D56

- Отбор образцов крови для мониторинга виремии с помощью ПЦР

Виремия	D-11	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D14	D20	D24	D35	D42	D49	D56
A1	X	X						X						X						
A2	X		X						X					X						
B1	X			X						X					X	X				
B2	X				X						X					X				
C1	X					X						X					X		X	X
C2	X						X						x					X		X

- Отбор образцов мочи для мониторинга виремии с помощью ПЦР и липидурии

5

10

Моча	D7	D14	D20	D24	D35	D42	D49	D56
A1	C	PM						
A2		PM						
B1			C	PM				
B2				PM				
C1					C		C	PM
C2						C		PM

(C = цистоцентез; PM = посмертно)

15

- Мазки из носа и рта для мониторинга виремии с помощью ПЦР

Мазки	D-11	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D14	D20	D28	D35	D42	D49	D56
A1	X	X						X						X						
A2	X		X						X					X						
B1	X			X						X					X	X				
B2	X				X						X					X				
C1	X					X						X					X		X	X
C2	X						X						x					X		X

- Биохимия крови и подсчёт количества клеток

	D-7	D14	D21	D28	D35	D42	D49	D56
A1	X	X						
A2	X	X						
B1	X		X	X				

B2	X		X			
C1	X			X	X	X
C2	X				X	X

- Отбор образцов сыворотки для серологии

Серология	D-11	D7 или D8	D14	D24	D56	5
A1	X	X	X			
A2	X	X	X			
B1	X			X		
B2	X			X		
C1	X					<del>10</del>
C2	X					X

- Некропсия и гистология

15 [00453] Полную некропсию осуществляли для каждого животного с отбором образцов почек, селезенки, печени, мочевого пузыря и легких. Образцы органов отбирали для гистологии и обнаружения вируса с помощью ПЦР.

20 [00454] При клиническом исследовании на модели заражения тестировали гипотезу о том, что вакцины на основе вирусных векторов в соответствии с настоящим изобретением способны предотвращать и/или уменьшать интенсивность и/или продолжительность виремии кошачьего парамиксовируса при заражении у кошек. Дополнительно, вакцинация кошек с применением вирусных векторов согласно заявляемому изобретению индуцирует антитела, например, к гемагглютининовому антигену кошачьего парамиксовируса.

25

[00455] **ПРИМЕР 11: Серологическое исследование кошачьей сыворотки**

30 [00456] Серологическое исследование кошачьей сыворотки осуществляли, используя реакцию нейтрализации вируса (VNT) (Пример 9). Кошек разделяли на три группы: **А)** Вакцинация с применением рекомбинантного ALVAC вектора, экспрессирующего белок гемагглютинин (H) кошачьего парамиксовируса тип-2 штамм "Gordon" (vCP3025); **В)** Вакцинация с применением рекомбинантного ALVAC вектора, экспрессирующего белки гемагглютинин (H) и матриксный (M) белки кошачьего парамиксовируса тип-

2 штамм “Gordon” (vCP3029); С) Кошек не вакцинировали (зараженная контрольная группа).

5 [00457] Образцы сывороток отбирали у кошек в день 0 (в день первой вакцинации), в день 21 (21 день после первой вакцинации), в день 35 (14 дней после второй вакцинации) и день 49.

10 [00458] С помощью VNT методологии, было однозначно обнаружено, что все животные были VNT-отрицательные перед вакцинацией в день 0 (титр <1:10). Более того, невакцинированные кошки оставались VNT отрицательными во все временные периоды исследования перед заражением, что необходимо для достоверного исследования на животных.

15 [00459] В день 21 (D21) после начальной вакцинации, одна вакцинированная кошка из группы А была обнаружена как положительная, с VNT титром 1:20 и одна кошка из группы В с титром 1:10. В день 35 (D35) (14 дней после второй вакцинации), все кошки в вакцинированной группе А (6/6) имели существенные титры нейтрализации (среднегрупповой титр 1:160), в то время как в группе В, 5 из 6 кошек имели существенные титры нейтрализации против кошачьего парамиксовируса тип-2 (среднегрупповой титр 1:160). В завершение, в день 49 (D49), все кошки были VNT положительными (6/6) с групповым VNT титром в группе А, который дополнительно повышался (среднегрупповой титр 1:69333). В группе В, все кошки были 20 положительными к кошачьему парамиксовирусу тип-2 (6/6) со среднегрупповым титром 1:40333.

25 [00460] В заключение необходимо отметить, что все кошки, вакцинированные либо с применением рекомбинантных ALVAC векторов, экспрессирующих Н или Н+М белки кошачьего парамиксовируса тип-2 штамм “Gordon”, сильно реагируют и сероконвертируют при вакцинации. Также, существенные значения титров нейтрализации вируса к заражаемому вирусу были обнаружены в D35 и D49. Средний титр в Группе А составлял 1:160 в день 35 и 1:69333 в день 49. Средние титры в Группе В составляли 30 1:160 в день 35, в то время как 1:40333 в день 49. Эти дни соответствуют 14 и 28 дням после второй вакцинации соответственно. Такие сильные титры нейтрализации кошачьего парамиксовируса тип-2 указывают на очень сильный ответ на вакцинацию против кошачьего парамиксовируса тип-2.

**[00461]     ПРИМЕР 12: Предотвращение или уменьшение виремии при заражении**

- 5           **[00462]**     Кошек разделяли на три группы: А) Вакцинация с применением рекомбинантного ALVAC вектора, экспрессирующего белок гемагглютинаина (Н) кошачьего парамиксовируса тип-2 штамм “Gordon” (vCP3025); В) Вакцинация с применением рекомбинантного ALVAC вектора, экспрессирующего белки гемагглютинин (Н) и матриксный (М) кошачьего парамиксовируса тип-2 штамм “Gordon” (vCP3029); С) Кошки не вакцинировали (зараженная контрольная группа).
- 10           **[00463]**     В день заражения (D49), кошки внутривенно (в/в) инфицировали с помощью 1 мл кошачьего парамиксовируса тип-2 штамм “Gordon” с инфекционным титром  $1 \times 10^{5,1}$  TCID<sub>50</sub>/мл. У кошек отбирали образцы плазмы в день 3 после инокуляции вируса (D52) и день 7 после инокуляции вируса (D56). РНК экстрагировали из плазмы, и осуществляли специфическую кПЦР в реальном времени для кошачьего парамиксовируса тип-2. Чувствительность кПЦР составляет  $2,9 \log_{10}$  числа копий РНК /мл, которую использовали в качестве предельного значения для расчета.
- 15           **[00464]**     Группа С – невакцинированные кошки (контроль заражения): в день 3 (D52) после инокуляции вируса, пять из 6 котят в невакцинированной контрольной группе стали виремическими, со средним числом копий РНК  $3,67 \log_{10}$ /мл, в то время как в день 7 (D56), все образцы от невакцинированных кошек были положительными, со средним числом копий РНК кошачьего парамиксовируса тип-2  $5,97 \log_{10}$ /мл.
- 20           **[00465]**     Группа А – ALVAC Gordon Н вакцина: кошки, вакцинированные с помощью ALVAC-Gordon-Н вакцины, оставались полностью отрицательными как в день 3, так и в день 7 после заражения.
- 25           **[00466]**     Группа В – ALVAC Gordon Н+М вакцина: в группе кошек, вакцинированные с применением ALVAC-Gordon-Н+М вакцины, четыре кошки в оба дня оставались отрицательными, в то время как две кошки в день 3 (D52) и день 7 (D56) после заражения были положительными, но имели уменьшенное число копий РНК кошачьего парамиксовируса тип-2 ( $3,72 \log_{10}$ /мл и  $3,33 \log_{10}$ /мл соответственно).
- 30

[00467] В заключение необходимо отметить, что все кошки, вакцинированные с применением рекомбинированного ALVAC вектора, экспрессирующего белок Н кошачьего парамиксовируса тип-2, оставались полностью защищенными и не имели обнаруживаемой виремии после инокуляции вирусом для заражения кошачьим парамиксовирусом тип-2. Кошки, вакцинированные с применением ALVAC вектора, экспрессирующего Н и М белки кошачьего парамиксовируса тип-2, были защищены, где 4 кошки оставались полностью отрицательными и 2 кошки в оба дня имели уменьшенное число копий РНК кошачьего парамиксовируса тип-2 в результате вакцинации.

[00468] Все композиции и способы, раскрытые и заявленные в данной заявке, могут быть получены и осуществлены без излишних экспериментов в свете настоящего описания. Хотя композиции и способы в соответствии с данным изобретением были описаны в контексте специфических аспектов, специалистам в данной области техники будет очевидным, что в композиции и способы могут быть внесены изменения, а также в этапы или в последовательности этапов описанного в данной заявке способа без отступления от концепции и объема настоящего изобретения. Более конкретно, будет очевидным, что определенные агенты, которые являются как химически, так и физиологически, родственными, могут быть заменены на агенты, описанные в данной заявке, в то время как будут достигнуты те же или аналогичные результаты. Все такие подобные замены и модификации, очевидные для специалистов в данной области техники, подразумеваются как такие, которые соответствуют объему и концепции изобретения, как определено в прилагаемой формуле изобретения.

#### ССЫЛКИ

[00469] Следующие ссылки в той степени, в которой они обеспечивают иллюстративные или другие детали, дополнительные к тем, которые изложены в данном описании, специально включены в данную заявку в качестве ссылки.

(1) De Vries P и др., J. Gen. Virol. 1988, 69: 2071-2083

- (2) Furuya и др., Archives of virology 2014, 159(2): 371-373
- (3) JP 2015 198654 A
- (4) Lorusso и др., Vet Ital. 2013, 51(3): 235-237
- (5) Lulich JP и др., Compendium on continuing education for the practicing veterinarian 1992; 14(2): 127-152
- (6) Marcacci M и др., Journal of Virological Methods 2016, 234: 160-163
- (7) Marciani DJ и др., Vaccine 1991, 9(2): 89-96
- (8) McEachern JA и др., Vaccine 2008, 26(31): 3842-3852
- (9) Sakaguchi и др., General Virology 2014, 95(7): 1464-1468
- (10) Sharp и др., Emerging Infectious Diseases 2016, 22(4): 760
- (11) Sieg и др., Virus Genes 2015, 51(2): 294-297
- (12) Tartaglia J и др., J Virology 1993, 67(4): 2370-2375.
- (13) Taylor J и др., Vaccine 1991, 9(3): 190-193
- (14) Taylor J и др., Virology 1992, 187(1): 321-328
- (15) Taylor J и др., Dev Biol Stand 1994, 82: 131-135
- (16) US 4,769,330
- (17) US 4,722,848
- (18) US 4,603,112
- (19) US 5,110,587
- (20) US 5,174,993
- (21) US 5,494,807
- (22) US 5,505,941
- (23) US 5,756,103
- (24) US 5,766,599
- (25) US 2013/0230529
- (26) Weli SC и др., Virology J. 2011, 8 (1): 49
- (27) WO 2005/013918
- (28) WO 2006/073431
- (29) WO 2006/115843
- (30) WO 2013/107290
- (31) WO 2013/123242
- (32) Woo и др., Proc. Nat. Acad. Sci. 2012; 109(14): 5435-5440

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вирусный вектор, предпочтительно рекомбинантный и/или не встречающийся в природе вирусный вектор, включающий по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность, относящуюся к/из по меньшей мере одного патогена, инфицирующего кошачьих, где по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляет собой кошачий парамиксовирус.
2. Вирусный вектор по пункту 1, где вирусный вектор выбирают из группы, включающей: вирусный вектор поксвируса птиц, вирусный вектор морбилливируса собак, вирусный вектор вирус герпеса, вирусный вектор вируса ветряной оспы.
3. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 2, где по меньшей мере один патоген, инфицирующий кошачьих, представляющий собой кошачий парамиксовирус, выбирают из группы, включающей:
- (а) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2);
  - (б) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
    - (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 1,
    - (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:1;
  - (в) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), как задепонировано в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под номером доступа CNCM I-5123;
  - (г) кошачий парамиксовирус тип 2 (FPaV-2), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
    - (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 2,

- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:2;
- (д) кошачий морбилливирус (FeMoV);
- (е) кошачий морбилливирус (FeMoV), геном которого включает рибонуклеиновую кислоту, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей:
- (I) последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 3,
- (II) последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:3.
4. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 3, где вирусный вектор представляет собой вектор оспы канареек, предпочтительно аттенуированный вектор оспы канареек, более предпочтительно ALVAC, еще более предпочтительно ALVAC-1 или ALVAC-2, наиболее предпочтительно ALVAC, как задепонировано на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2547; или где вирусный вектор представляет собой вектор оспы кур, предпочтительно аттенуированный вектор оспы кур, более предпочтительно TROVAC, наиболее предпочтительно TROVAC, как задепонировано на условиях Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа VR-2553; или где вирусный вектор выбирают из группы, включающей: vCP3025, vCP3029, vCP3041.
5. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 6, где по меньшей мере одну экзогенную антигенкодирующую последовательность выбирают из группы, включающей: последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("Н"), последовательность, кодирующую матриксный белок ("М"), последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), последовательность,

- 5 кодирующую нуклеокапсидный белок (“N”), последовательность, кодирующую фосфопротеин (“P”), последовательность, кодирующую белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (“L”), и более предпочтительно представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“H”), и/или последовательность, кодирующую матриксный белок (“M”), и/или последовательность, кодирующую слитый белок (“F”).
6. Вирусный вектор по пункту 5, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“H”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“H”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:4, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5; или где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок (“H”), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок (“H”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:6, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:6.
7. Вирусный вектор по пункту 5, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок (“M”), и последовательность, кодирующая матриксный белок (“M”), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:7, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8; или где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую матриксный белок (“M”), и последовательность, кодирующая матриксный белок (“M”), включает

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:9, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:9.

5

8. Вирусный вектор по пункту 5, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 10 70% идентична SEQ ID NO:10, и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11; или где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность представляет собой последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), и 15 последовательность, кодирующая слитый белок ("F"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:12, и предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:12.

20

9. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 8, где вирусный вектор включает две или больше экзогенные антигенкодирующие последовательности, предпочтительно последовательность, кодирующую 25 гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), или последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), или последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующую слитый белок ("F"), или 30 последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующую матриксный белок ("M"), и последовательность, кодирующую слитый белок ("F").

10. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 8, где вирусный вектор включает одинаковые две экзогенные антигенкодирующие последовательности (то есть H + H, F + F, M + M, P + P, L + L, N + N), но из двух различных штаммов, такую как одна экзогенная антигенкодирующая последовательность из штамма кошачьего парамиксовируса тип 2 (FPaV-2), предпочтительно штамма "Gordon" или штамма "TV25", а другая экзогенная антигенкодирующая последовательность из штамма кошачьего морбилливируса, предпочтительно штамма "Larön" – например, последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), из одного штамма и последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), из другого штамма; более предпочтительно, один штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("H"), из одного штамма", представляет собой штамм кошачьего парамиксовируса тип 2 (FPaV-2), еще более предпочтительно штамм "Gordon" или штамм "TV25", а другой штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("H"), из другого штамма" представляет собой штамм кошачьего морбилливируса, еще более предпочтительно штамм "Larön"; наиболее предпочтительно, один штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("H"), из одного штамма" представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок ("H"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:4 или 19 и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:19; а другой штамм "последовательности, кодирующей гемагглютининовый белок ("H"), из другого штамма" представляет собой последовательность, кодирующую гемагглютининовый белок ("H"), и последовательность, кодирующая гемагглютининовый белок ("H"), включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:31 или 94 и предпочтительно выбрана из группы, включающей: SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:94.

11. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 10, где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность инsertирована в по меньшей мере один локус инсерции, предпочтительно в несущественный участок генома вирусного вектора; или где по меньшей мере одна экзогенная антигенкодирующая последовательность инsertирована в два или больше локусов инсерции; и/или где по меньшей мере один локус инсерции представляет собой локус инсерции C3; и/или где вирусный вектор включает фланкирующие последовательности локуса инсерции C3, предпочтительно в соответствии с SEQ ID NO:45 (левое плечо фланкирующего участка C3) и SEQ ID NO:46 (правое плечо фланкирующего участка C3); или где по меньшей мере один локус инсерции представляет собой локус инсерции C5; и/или где вирусный вектор включает фланкирующие последовательности локуса инсерции C5, предпочтительно в соответствии с SEQ ID NO:47 (левое плечо фланкирующего участка C5) и SEQ ID NO:48 (правое плечо фланкирующего участка C5).
12. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 11, где вирусный вектор включает последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 70% идентична последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:95, и предпочтительно представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, включающей: SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:95.
13. Вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 12, где представитель семейства кошачьих представляет собой кошку, предпочтительно домашнюю кошку.
14. Клетка-хозяин млекопитающего, отличающаяся тем, что она включает вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 13.

15. Применение вирусного вектора по одному из пунктов 1 - 13 или клетки-хозяина млекопитающего по пункту 14 для приготовления иммуногенной композиции или вакцины.
- 5 16. Иммуногенная композиция, включающая
- (а) вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 13 или клетку-хозяина млекопитающего по пункту 14, и/или
- (б) полипептид, кодируемый вирусным вектором по одному из пунктов 1 - 13, такой как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная
- 10 частица (VLP) или подобные, и
- (в) необязательно фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения;
- 15 где предпочтительно указанная иммуногенная композиция включает вирус, такой как патогенный вирус.
17. Вакцина или фармацевтическая композиция, включающая
- (а) вирусный вектор по одному из пунктов 1 - 13 или клетку-хозяина млекопитающего по пункту 14, и/или
- 20 (б) полипептид, кодируемый вирусным вектором по одному из пунктов 1 - 13, такой как вирус, модифицированный живой вирус, вирусоподобная частица (VLP) или подобные, и
- (в) фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или наполнитель, предпочтительно указанный носитель является
- 25 подходящим для перорального, внутрикожного, внутримышечного или интраназального введения,
- (г) необязательно указанная вакцина или фармацевтическая композиция дополнительно содержит адъювант.
- 30
18. Способ приготовления иммуногенной композиции или вакцины для уменьшения частоты и/или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых инфицированием по меньшей

мере одним патогенным парамиксовирусом, включающий следующие стадии:

- 5 (а) инфицирование клетки-хозяина млекопитающего по пункту 14 вирусным вектором по одному из пунктов 1 - 13,
- (б) культивирование инфицированных клеток в подходящих условиях,
- (в) сбор инфицированных клеточных культур,
- (г) необязательно очистку собранных инфицированных клеточных культур со стадии (в),
- 10 (д) необязательно смешивание указанных собранных инфицированных клеточных культур с фармацевтически приемлемым носителем.

19. Иммуногенная композиция по пункту 16 или вакцина по пункту 17 для применения в способе уменьшения или предотвращения клинических симптомов или заболевания, вызываемого инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом или для применения в способе лечения и/или предотвращения инфицирования по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, где предпочтительно указанный представитель семейства кошачьих представляет собой кошку, более предпочтительно домашнюю кошку, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанные клинические симптомы или заболевание, вызываемое инфицированием по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом, или указанное инфицирование по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

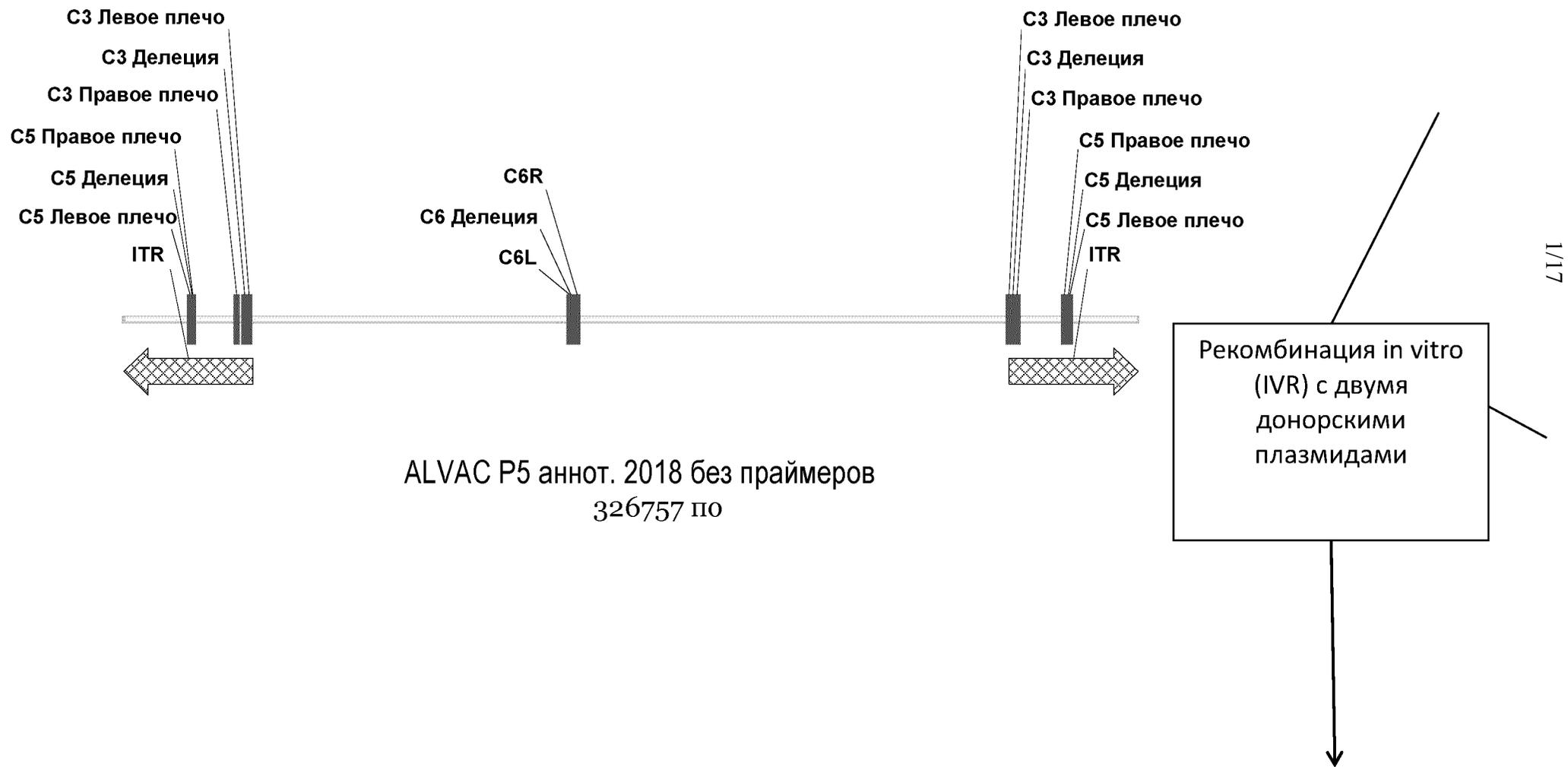
20. Способ иммунизации кошачьего, такого как кошка, более предпочтительно домашняя кошка, от клинического заболевания, вызываемого по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом в указанного кошачьего, где

указанный способ включает этап введения кошачьему иммуногенной композиции по пункту 16 или вакцины по пункту 17, где указанная иммуногенная композиция или вакцина не способна вызывать клинические симптомы инфицирования, но способна индуцировать иммунный ответ, который иммунизирует кошачьего от патогенных форм указанного по меньшей мере одного парамиксовируса, где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанное клиническое заболевание или указанные клинические симптомы инфицирования выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

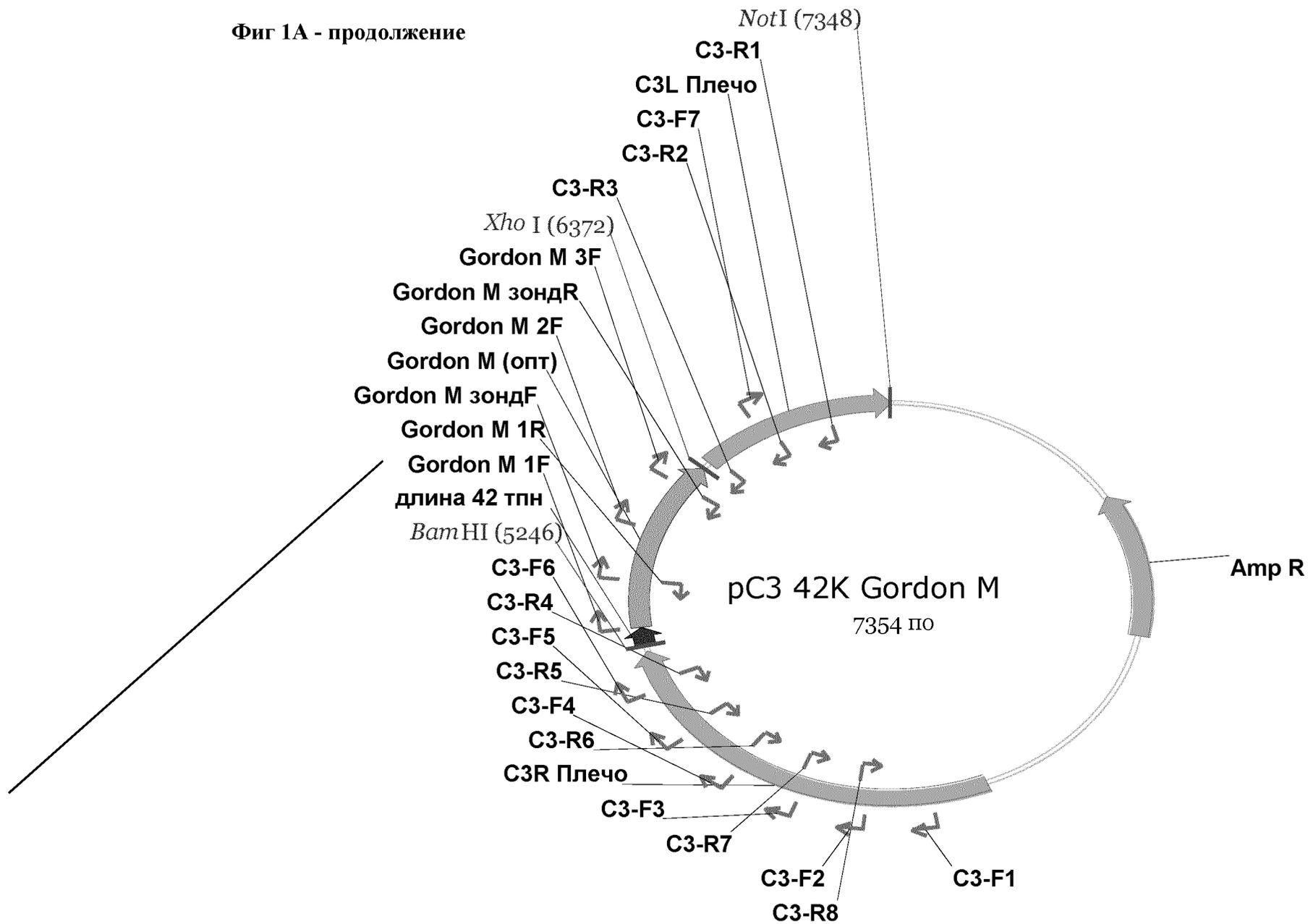
21. Набор для вакцинации кошачьего, предпочтительно кошки, более предпочтительно домашней кошки, от заболевания, связанного с и/или уменьшения частоты или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных с или вызываемых по меньшей мере одним патогенным парамиксовирусом у кошачьего, включающий:
- (а) диспенсер, способный вводить вакцину указанному кошачьему; и
  - (б) иммуногенную композицию по пункту 16 или вакцину по пункту 17, и
  - (в) необязательно листок-вкладыш с инструкцией;
- где предпочтительно по меньшей мере один патогенный парамиксовирус представляет собой по меньшей мере один кошачий парамиксовирус, где предпочтительно указанное заболевание или указанные клинические симптомы выбирают из группы, включающей: вирусную, лихорадку, выделение вируса в окружающую среду, инфекции мочеполовой системы, инфекции мочевыделительной системы, заболевание почек, хроническое заболевание почек (СКД), воспаление почечных канальцев и

интерстициальной ткани почек, идиопатический тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН).

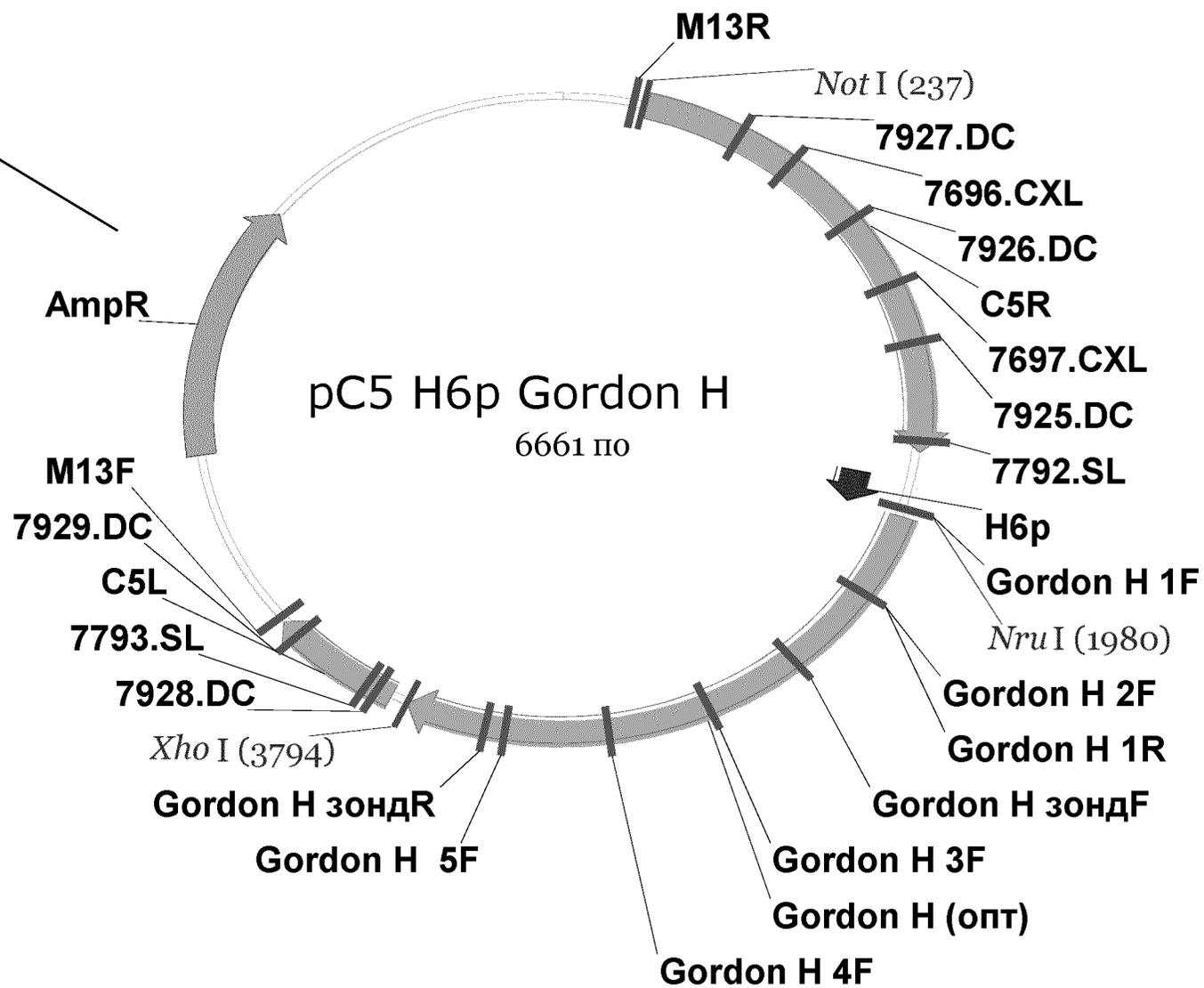
Фигура 1А



Фиг 1А - продолжение



Фигура 1А - продолжение



# Фигура 1В

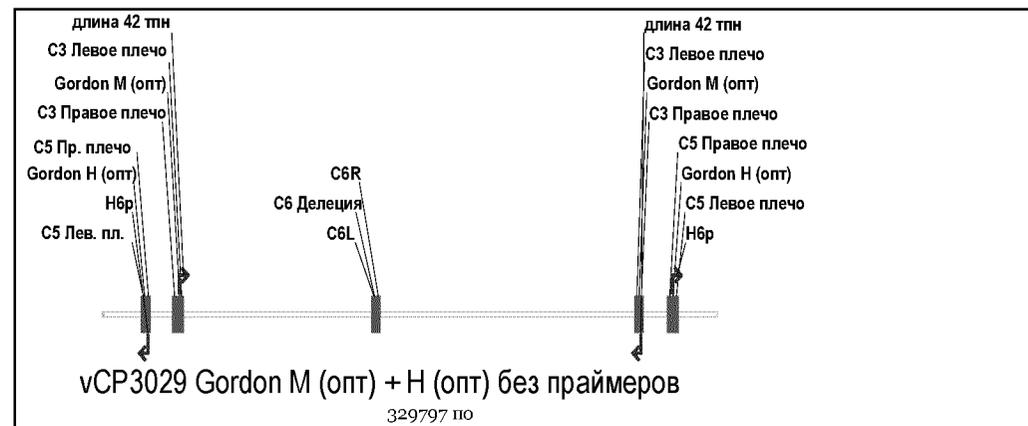
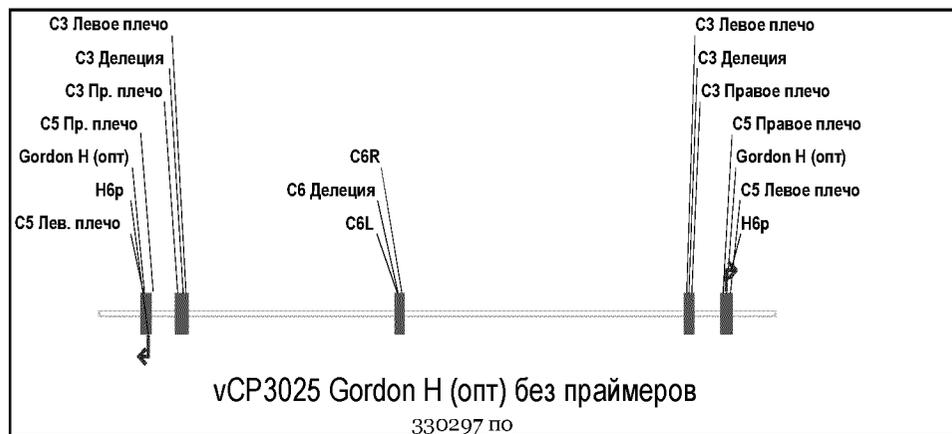


Из единичной IVR, было изолировано две конструкции



vCP3025: C5/Gordon H (опт)

vCP3029: C3/Gordon M (опт) + C5/Gordon H (опт)



## Фигура 2

vCP3025

C5 Последовательность: последовательность подтверждена 304701 - 308870

C5 Правое плечо: 304779 - 306314

H6 промотор: 306412 - 306535

Gordon H (опт): 306536 – 308323

C5 Левое плечо: 308374 – 308878

```

304674          AAA TGACTATGTA CCGTTATTGC ATGAACGATA TTATAAATAT
                TTT ACTGATACAT GGCAATAACG TACTTGCTAT AATATTTATA
304744  AGGTTCTCGT AGGAGAGAAC TATTGACTAT GGCAATGAAAT GTTAAATGTT ATACTTTGGA TGAAGCTATA
TCCAAGAGCA TCCTCTCTTG ATAACCTGATA CCGTTACTTA CAATTTACAA TATGAAACCT ACTTCGATAT
304814  AATATGCATT GGAAAAATAA TCCATTTAAA GAAAGGATTC AAATACTACA AAACCTAAGC GATAATATGT
TTATACGTAA CCTTTTTTAT AGGTAAATTT CTTCCTAAG TTATATGATGT TTTGGATTCG CTATTATACA
304884  TAACTAAGCT TATTCCTAAC GACGCTTTAA ATATACACAA ATAAACATAA TTTTTGTATA ACCTAACAAA
ATTGATTCGA ATAAGAAATG CTGCGAAATT TATATGTGTT TATTTGTATT AAAAAACATA TGGATTTGTTT
304954  TAACTAAAAC ATAAAAATAA TAAAAGGAAA TGTAAATATCG TAATTTATTTT ACTCAGGAAT GGGGTTAAAT
ATTTGATTTG TATTTTTTAT ATTTTCCTTT ACATTAATAGC ATTAATAAAA TGAGTCTCTA CCCCATTTTA
305024  ATTTATATCA CGTGTATATC TATACTGTTA TCGTATACTC TTTACAATTA CTATPACGAA TATGCAAGAG
TAAATATAGT GACACATATG ATATGACAAAT AGCATAAGAG AAATGTTAAT GATAATGCTT ATACGTTCCTC
305094  ATAATAAGAT TACGTATTTA AGAGAATCTT GTCATGATAA TTGGGTACGA CATAGTGATA AATGCTATTT
TATATATCTA ATGCATAAAT TCTCTTAGAA CAGTACTATT AACCCATGCT GTATCACTAT TTACGATAAA
305164  CGCATCGTTA CATAAAGTCA GTTGGAAAGA TGGATTTGAC AGATGTAAC TAATAGGTGC AAAAATGTTA
GCGTAGCAAT GTATTTTCAGT CAACCTTTCT ACCTAAACTG TCTACATTTGA ATTAATCCACG TTTTACAAAT
305234  AATAACAGCA TTCTATCGGA AGATAGGATA CCAGTTATAT TATACAAAAA TCACTGGTTG GATAAACAG
TTATTTGCTGT AAGATAGCCT TCTATCCTAT GGTCAATATA ATATGTTTTT AGTGACCAAC CTATTTTGTC
305304  ATTCCTGCAAT ATTCGTAATA GATGAAGATT ACTGCGAATT TGTAAACTAT GACAAATAAA AGCCATTTAT
TAAAGCTTTA TAAGCATTTT CTACTCTAA TACTGCTTAA ACATTTGATA CTGTTATTTT TCGGTAAATA
305374  CTCACAGACA TCGTGTAAAT CTTCATGTT TTATGTTATGT GTTTCAGATA TTATGAGATT ACTATAAACT
GAGTTGCTGT AGCACATTA GAAGGTACAA AATACATACA CAAAGTCTAT AATACTCTAA TGATATTTGA
305444  TTTTGTATAC TTATATTTCCG TAAACTATAT TAATCATGAA GAAAATGAAA AAGTATAGAA GCTGTTCCAG
AAAACATATG AATATAAGGC ATTTGATATA ATTAGTACTT CTTTTACTTT TFCATATCTT TCCAGTAAAG
305514  AGCGGTTGTT GAAAACAACA AAATTAATACA TTCAAGATGG CTTACATATA CGTCTGTGAG GCTATCATGG
TCGCCAACAA CTTTTGTTGT TTTAATATGT AAGTTCACC GAATGTATAT GCAGACACTC CGATAGTACC
305584  ATAATGACAA TGCATCTCTA AATAGGTTTT TGGACAATGG ATTCGACCCT AACACGGAAT ATGGTACTCT
TATTTACTGT ACGTAGAGAT TTATCCAAAA ACCTGTTACC TAAGCTGGGA TTGTGCTCTA TACCATGAGA
305654  ACAATCTCCT CTTGAAATGG CTGTAATGTT CAAGAATACC GAGGCTATAA AAATCTTGAT GAGGTATGGA
TGTTAGAGGA GAACTTTACC GACATACAA GTTCTTATGG CTCCGATATT TTTAGAACTA CTCCATACCT
305724  GCTAAACCTG TAGTTACTGA ATGCACAAT TCTTGTCTGC ATGATGCGGT GTTGAGAGAC GACTACAAAA
CGATTTGGAC ATCAATGACT TACGTGTTGA AGAACAGACG TACTACGCCA CAACTCTCTG CTGATGTTTTT
305794  TAGTGAAGA TCTGTTGAAG AATAACTATG TAAACAATGT TCTTTACAGC GGAGGCTTTA CTCTTTGTG
ATCACTTTCT AGACAACCTC TTATTTGATAC ATTTGTTACA AGAAATGTCG CCTCCGAAAT GAGGAAACAC
305864  TTTGGCAGCT TACCTTAACA AAGTTAATTT GGTAAACTT CTATTTGGCTC ATTCGCGCGA TGTAGATAT
AAACCGTCCA ATGGAATGTT TPCAATFAAA CCAATTTGAA GATAACCGAG TAAGCCGCTA AGCCATATAA
305934  PCAAACACGG ATCGGTTAAC TCTCTACAT ATAGCCGTAT CAAATAAAAA TTTAACAATG GTTAAACTTC
AGTTTGTGCC TAGCCAATTG AGGAGATGTA TATCGGCATA GTTTATTTTT AAATTTGTAC CAATTTGAAG
306004  TATTTGAACAA AGGTGCTGAT ACTGACTTGC TGGATAACAT GGGACGFACT CCTTTAATGA TCGCTGTACA
ATAACTTGT TCCACGACTA TGACTGAACG ACCTATTTGTA CCTGCAATGA GGAAATFACT AGCGACATGT
306074  ATCTGGAAAT ATTTGAAATAT GTAGCACACT ACTTAAAAAA AATAAAATGT CCAGAACTGG GAAAAATTTGA
TAGACCTTTA TAACTTTATA CATCGTGTGA TGAATTTTTT TTATTTTACA GGTCTTGACC CTTTTTAACT
306144  TCTTTGCCAGC TGTAAATCAT GGTAGAAAAG AAGTGTCTAG GCTACTTTTC AACAAAGGAG CAGATGTA
AGAACGGECG ACATTAAGTA CCATCTTTTC TTCACGAGTC CGATGAAAAG TTGTTTCCTC GTCTACATTT
306214  CTACATCTTT GAAAGAAATG GAAAATCATA TACTGTTTTG GAATTTGATTA AAGAAAGTTA CTCTGAGACA
GATGTAGAAA CTTTCTTTAC CTTTGTATAT ATGACAAAAA CTTAACATAA TTCTTTCAAT GAGACTCTGT
306284  CAAAAGAGGT AGCTGAAGTG GTACTCTCAA AGGTACGTGA CTAATTAGCT ATAAAAAGGA TCCGGGTTAA
GTTTTCTCCA TCGACTTCAC CATGAGAGTT TCCATGCACT GATTAATCGA TATTTTTCTT AGGCCAATTT
306354  TTAATTAGTC ATCAGGCAGG GCGAGAACGA GACTATCTGC TCGTTAATTA ATTAGAGCTT CTTTATCTA
AATTAATCAG TAGTCCGTCC CGCTCTTGCT CTGATAGACG AGCAATTAAT TAATCTCGAA GAAATAAGAT
306424  TACTTAAAAA GTGAAAATAA ATACAAAGGT TCTTTGAGGT TGTGTTAAAT TGAAAGCGAG AAATAATCAT
ATGAATTTTT ATGATTTTCCA AGAACTCCCA ACACAATTTA ACTTTTCGCT TTTATTTAGTA
306494  AAAATATTTT ATATATCGCGA TATCCGTTAA GTTTGTATCG TAATGGAAAG CAATAATAAC AAATACTATA
TTTAAATAAG TAATAGCGCT ATAGGCAAT CAAACATAGC ATTACCTTTC GTTATATTTG TTTATGATAT
306564  AAGACAGCAA TCGGTACTTC AGCAAGATCC TGGACGAGAA TAAGACAGTC AATAATCACC TGTACTCCCT
TTCTGTCGTT AGCCATGAAG TCGTTCTAGG ACCTGCTCTT ATTTCTGTCAG TTATTTAGTGG ACATGAGGGA

```

## Фигура 2 - продолжение

306634	GTCTATCAGG	ATCATCACCG	TGATCGCCAT	CGTGGTGTCC	CTGATCGCAA	CCACTATCAC	TATCATCAAT
	CAGATAGTCC	TAGTAGTGGC	ACTAGCGGTA	GCACCACAGG	GACTAGCGTT	GGTGATAGTG	ATAGTAGTTA
306704	GCCATCTCTG	GCAGAACCAC	TCTGAACAAT	AACATGGACA	TGCTGCTGAA	CCAGCAGGAT	AAGATCAATA
	CGGTAGAGAC	CGTCTGGTG	AGACTTGTTA	TTGTACSTGT	ACGACGACTT	GGTCGTCTTA	TTCTAGTTAT
306774	ACATCAAAGA	GATGATCTTC	GACAGGATCT	ATCCACTGAT	CAACGCAATG	AGCACCGAGC	TGGGGCTGCA
	TGTAGTTTCT	CTACTAGAAG	CTGTCCCTAGA	TAGGTGACTA	GTTGCGTTAC	TCGTGGCTCG	ACCCCGACGT
306844	CATCCCTACC	CTGCTGGACG	AACTGACTAA	GTCCATCGAT	CAGAAGATCA	AAATCATGAC	TCCACCTCTG
	GTAGGGATGG	GACGACCTGC	TTGACTGATT	CAGGTAGCTA	GTCTTCTAGT	TTTAGTACTG	AGGTGGAGAC
306914	GAACCAACTA	CCTCTAATCT	GAACTGGTGC	ATCAATCCCC	CAAACGGAAT	CATCGTGGAC	CCAAAAGGCT
	CTTTGGTGAT	GGAGATTAGA	CTTGACCACG	TAGTTAGGGG	GTTTGCCTTA	GTAGCACCTG	GGTTTTCCGA
306984	ACTGTGAGGG	GCTGGAACCTG	TCCAAGACCT	ATAAACTGCT	GCTGGACCAG	CTGGATATGC	TGAGGAAGAA
	TGACACTCCC	CGACCTTGAC	AGGTTCTPGA	TATTTGACGA	CGACCTGGTC	GACCTATACG	ACTCCTTCTT
307054	AAGCTGTATC	ATCAATAAGA	AAATCCATCAA	ATCATGCTCA	CTGGTGGATA	GCTCCAATAT	GGTGTCTGCC
	TTCCGACTAG	TAGTTATTCT	TTAGGTAGTT	GGTCACGCT	GACCACCTAT	CGAGGTATA	GCACAAGCGG
307124	ACCGTGAACA	TCCAGAGCAC	TCCTAGGTTT	CTGAATCTGG	GACATACCGT	GTCCAACCAG	AGAATCACTT
	TGGCACTTGT	AGGTCTCGTG	AGGATCCAAA	GACTTAGACC	CTGTATGGCA	CAGGTTGGTC	TCTTAGTGAA
307194	TCGGCAAGTA	CCTCTAATCT	AGCACCTATA	ATCAACTACT	CCAGGAGGAC	GGTCTGACCC	CCAAAGGCT
	AGCCTGTCCC	ATGAATGAGA	TCGTGGATAT	AGTAGTGATA	GGTCTCTCTG	CCAGACTGGC	TACACGTCAT
307264	CAGAGTGTFT	GAATTCGGCT	ATATCTCTGA	CCAGTTCCGG	ACTTTTCTCT	CTCTGATCGT	GAGCAGGGTG
	GTCTCACAAA	CTTTAGCCGA	TATAGAGACT	GGTCAAGCCC	TGAAAAGGAA	GAGACTAGCA	CTCGTCCCAC
307334	CTGCCCTGTA	GAATGGTGGT	GGGGATGGAG	CACCTTATTC	AACTTTGGGA	AGGTGAGGAG	CCCACATGAG
	GACGGGCACT	CTTACCACGA	CCCCTACCTC	AGGACGTGAG	ACTGGAGACT	ATTCAAGCCG	CCCATGAAGG
307404	TGTGCATGAA	TATCCCCACC	AGGTCTATCT	ACGACTATGT	GAACATCAGA	GATCTGAAGA	GCCTGTACGT
	ACACGTACTT	ATAGGGGTPG	TCCAGATAGA	TGCTGATACA	CTTGTAGTCT	CTAGACTTCT	CGGACATGCA
307474	GACCATCCCC	CATACGGCA	AAATCAATTA	CACCTTATTC	AACTTTGGGA	AGGTGAGGAG	CCCACATGAG
	CTGGTAGGGG	GTGATGCCGT	TTTAGTTAAT	GTGAATAAAG	TTGAAACCCT	TCCACTCCTC	GGGTGTACTC
307544	ATCGACAAA	TCTGGCTGAC	TTCTGAAAAG	GGACAGATGA	TCAGCGGTTA	CTTCGCCGCA	TTTGTGACTA
	TAGCTGTTTT	AGACCGACTG	AAGACTTTCT	CCTGTCTACT	AGTCGCCAAT	GAAGCGGCGT	AAACTACTAT
307614	TCACCATCAG	GACTACAAC	AACTACCCTT	ACAAGTGCCT	GCACAACCCA	TGCTCTGGAGA	GAAGCGAATC
	AGTGGTAGTC	CTTGATGTTG	TTGATGGGAA	TGTTACCGGA	CGTGTGGGGT	ACAGACTCT	CTTCGCTTAG
307684	CTACTGCAAG	GGATGGTATA	AGAACATCAC	TGGTACCAGC	GATGTGCCCA	TCCTGGCCTA	CCTGTGGGTG
	GATGACGTTT	CCTACCATAT	TCTTGTAGTG	ACCATGGCTG	CTACACGGGT	AGGACCGGAT	GGACGACCAC
307754	GAGATGAACG	ATGAGGAAGG	TCCACTGATC	ACCCTGGTGG	AAATCCCTCC	CTACAATTAT	ACCACACCTA
	CTCTACTTTC	TACTCCTTCC	AGGTGACTAG	TGGGACCACC	TTTAGGGAGG	GATGTAAATA	TGACGTGGAT
307824	GCCATAAATC	CCTGTACTAT	GACGATAAGA	TCAACAAGCT	GATCATGACT	ACCTCCACAC	TCGGATATAT
	CGGTATTGAG	GGACATGATA	CTGCTATCTT	AGTTGTTTCGA	CTAGTACTGA	TGGAGGGTGT	AGCCTATATA
307894	CCAGATCAAC	GAGGTGCATG	AAGTGATGCT	GGCTGACAAT	CTGAAGGCCA	TCCTGTGGAGA	CAGGTGAGC
	GGTCTAGTTG	CTCCACGTAC	TTCACTAGCA	CCCCTGTTA	GACTTCCGGT	AGGACGACTT	GTCCGACTCG
307964	GATGAGCACC	CAACTCTGAC	CGCATGTAGG	TTCAATCAGG	AGATCAAAGA	AAGACATATC	TCCGACGGCC
	CTACTCTGTT	GTGAGACTTG	GCGTACATCC	AAGTTAGTCC	TCTAGTTTCT	TTCTGTATAG	AGGCTGCCCG
308034	TGATCATCTC	TACAGCGGCC	CTGATCGATA	TCCAGGAGAG	GATGTACGTG	ACCGTGAAGG	CAGTGCACCC
	ACTAGTAGAG	ATTTGTCGGG	GACTAGCTAT	AGGTCCTCTC	TACATGACAC	TGGCACTTCC	GTCCCGGTGG
308104	TATCGGCAAT	TATAACTTTA	CCGTGGAACT	GCCTCCAGA	TCTAATACTA	GCTACGTGGG	GCTGCCTAGG
	ATAGCCGTTA	ATATTGAAAT	GGCACCTTGA	CGTGAGGTCT	AGATTTATGAT	CGATGCACCC	CGACGGATCC
308174	CAGTTCAACG	CAAGATATGA	CAAACCTGCAT	CTGGAATGCT	TTGCCCTGGG	TAGATCCTGG	TGGTGTGCAC
	GTCAAGTTGC	GTTCTATACT	GTTTGCAGTA	GACCTTACGA	AACGGACCCT	ATCTAGGACC	ACCACACGTG
308244	TGATCCCCCA	GTTTTCTCTG	TCCTGGAATG	AGAGCCTGTC	CGTGGATACT	GCTATTTTCA	ACCTGATAAA
	ACTAGGGGGT	CAAAAGAGAC	AGGACCTTAC	TCTCGGACAG	GCACCTATGA	CGATAAAAGT	TGGACTATTT
308314	CTGTAACATA	CTCGAGTCTA	GAATCGATCC	CGGGTTTTTA	TGACTAGTTA	ATCACGGCCG	CTTATAAAGA
	GACATTTGAT	GAGCTCAGAT	CTTAGCTTAG	GCCCCAAAAT	ACTGATCAAT	TAGTGGCCGG	GAATATTTCT
308384	TCTAAAATGC	ATAATTTCTA	AATAATGAAA	AAAAGTACAT	CATGAGCAAC	CGGTTAGTAT	ATTTTACAAT
	AGATTTTACG	TATTAAGAT	TTATTACTTT	TTTTTCATGTA	GTACTCGTTG	CGCAATCATA	TAAAATGTTA
308454	GGAGATTAAC	GCTCTATACC	GTTCTATGTT	TATTTGATTA	GATGATGTTT	TAGAAAAGAA	AGTTATTGAA
	CCTCTAATFG	CGAGATATGG	CAAGATACAA	ATAACTAAGT	CTACTACAAA	ATCTTTTCTT	TCAATAACTT
308524	TATGAAAACF	TTAATGAAGA	TGAAGATGAC	GACGATGATT	ATTGTTGTAA	ATCTGTTTTA	GATGAAGAAG
	ATACTTTTGA	AATTACTTCT	ACTTCTACTG	CTGCTACTAA	TAACAACATT	TAGACAAAAT	CTACTTCTTC
308594	ATGACGCGCT	AAAGTATACT	ATGGTTACAA	AGTATAAGTC	TATACTACTA	ATGGCGACTT	GTGCAAGAAG
	TACTGCGCGA	TTTCATATGA	TACCAATGTT	TCATATTCAG	ATATGATGAT	TACCGGTGAA	CACGTTCTTC
308664	GTATAGTATA	GTGAAAATGT	TGTTAGATTA	TGATTATGAA	AAACCAAATA	AATCAGATCC	ATATCTAAAG
	CATATCATAT	CACTTTTACA	ACAATCTAAT	ACTAATACTT	TTTGGTTTAT	TTAGTCTAGG	TATAGATTTT
308734	GTATCTCCTT	TGCACATAAT	TTCACTTAT	CCTAGTTTAT	AAATCTTTTC	ATTATATTTG	TTTACAGCTG
	CATAGAGGAA	ACGTGTATTA	AAGTAGATAA	GGATCAAATC	TTATGAAAAG	TAATATAAAC	AAATGTCGAC
308804	AAGACGAAA	AAATATATCG	ATAATAGAAG	ATTATGTTAA	CTCTGCTAAT	AAGATGAAAT	TGAATGA
	TTCTGCTTTT	TTTATATAGC	TATTATCTTC	TAATACAAT	GAGACGATTA	TTCTACTTTA	ACTTACT

## Фигура 3

vCP3029

C5 Последовательность: последовательность подтверждена 304166 – 308380

C5 Правое плечо: 304279 – 305814

H6 промотор: 305912 - 306035

Gordon H(опт): 306036 – 307823

C5 Левое плечо: 307874-308378

```

304119                                     TAG TTAGTTGGAT AATTAATCG
                                     ATC AATGAACCTA TTTAATTAGC
304189 AGACGCGTGA TAAAATGACT ATGTCACGTT ATTCGATGAA CGATAATTATA AATATAGGTT CTCGTAGGAG
TCTGCGCACT ATTTTACTGA TACATGGCAA TAACGTAAGT GCTATAAATAT TTATATCCAA GAGCATCCCTC
304259 AGAACTATTG ACTATGGCAA TGAATGTTAA ATGTTTACTT TTGGATGAAG CTATAAATAT GCATTGGAAA
TCTTGATAAC TGATACCGTT ACTTACAATP TACAATATGA AACCTACTTC GATATTTATA CGTAACTTTT
304329 AATAATCCAT TTAAGAAAAG GATTCAAAAT STACAAAACC TAAGCGATAA TATGTTAACT AAGCTTATTC
TTATTAGGTA AATTTCTTTC CTAAGTTTAT GATGTTTTGG ATTCGCTATT ATACAATTGA TTCGAATAAG
304399 TTAACGACGC TTTAAATATA CACAAATAAA CATAAATTTT GTATAACCTA ACAAATAACT AAAACATAAA
AATGCTGCG AAAATTTATAT GTGTTTTATT GTATTAATAA CATATTTGGAT TGTTTTATTGA TTTTGTATTT
304469 AATAAATAAA GGAATGTAA TATCGTAATT ATTTTACTCA GGAATGGGGT TAAATATTTA TATCACGCTGT
TTATTTATTT CCTTACATTT ATAGCAATTA TAAAATGAGT CCTACCCCA ATTTATAAAT ATAGTGCACA
304539 ATATCTATAC TGTTATCGTA TACTCTTTAC AATTAATATT ACGAATATGC AAGAGATAAT AAGATTACGT
TATAGATATG ACAATAGCAT ATGAGAAATG TTAATGTATA TGCTTATACG TTCTCTATTA TTCTAATGCA
304609 ATTTAAGAGA ATCTTGTCTAT GATAATTTGG TACGACATAG TGATAAATGC TATTTTCGCAT CGTTACATAA
TAAATCTCTT TAGAACAGTA CTATTAACCC ATGCTGTATC ACTATTTACG ATAAAGCGTA GCAATGTATTT
304679 AGTCAGTTGG AAAGATGGAT TTGACAGATG TAACTTAATA GGTGCAAAAA TGTTAAATAA CAGCATTTCTA
TCAGTCAACC TTCTACCTA AACTGTCTAC ATTTGAATTT CCACGTTTTT ACAATTTATTT GTCCGTAAGAT
304749 TCGGAAGATA GGATACCAGT TATATTTATC AAAAACTCACT GGTGGGATAA AACAGATTTCT GCAATATTCG
AGCCTTCTCT TAGAAGAGTA CTATTAATAG TTTTTAGTGA CCAACCTATT TTGCTAAGGA CGTTATAAGC
304819 TAAAAGATGA AGATTACTGC GAATTTGTAA ACTATGACAA TAAAAGCCA TTTATCTCAA CGACATCGTG
ATTTTCTACT TCTAATGACG CTTAAACATT TGATACTGTT ATTTTTCGGT AAATAGAGTT GCTGTAGCAC
304889 TAATTTCTCC ATGTTTTATG TATGTGTTTC AGATATTATG AGATTACTAT AAATTTTTTG TATACTTATA
ATTAAGAAGG TACAAAATAC ATACACAAG TCTATAATAC TCTAATGATA TTTGAAAAAC ATATGATATAT
304959 TTCCGTAAC TATATTAATC ATGAAGAAA TGA AAAAGTA TAGAAGCTGT TCACGAGCGG TTGTTGAAA
AAGGCATTTG ATATAATTAG TACTTCTTTT ACTTTTTTCT ATCTTCGACA AGTGTCTGCC AACAACTTTT
305029 CAACAAAATP ATACATTCAA GATGGCTTAC ATATACGCTC GTGAGGCTAT CATGGATAAT GACAATGCAT
GTTGTTTTAA TATGTAAGTT CTACCGAATG TATATGCAGA CACTCCGATA GTACCTATTA CTGTTACGTA
305099 CTCTAAATAG GTTTTTGGAC AATGGATTTC ACCCTAACAC GGAATATGGT ACTCTACAAT CTCTCTTGA
GAGATTTATC CAAAACCTG TTACCTAAGC TGGGATTGTG CCTTATACCA TGAGATGTTA GAGGAGAACT
305169 AATGGCTGTA ATGTTCAAGA ATACCGAGCG TATAAAAATC TTGATGAGGT ATGGAGCTAA ACCTGTAGTT
TTACCGACAT TACAAGTTCT TATGGCTCCG ATATTTTTTAG AACTACTCCA TACCTCGATT TCGGATCAA
305239 ACTGAATGCA CAATTTCTTG TCTGCATGAT GCGGTGTTGA GAGACGACTA CAAAATAGTG AAAGATCTGT
TGACTTACCT GTTGAAGAAC AGACGTACTA CGCCACAAT CTCTGCTGAT GTTTTATCAC TTTCTAGACA
305309 TGAAGAATAA CTATGTAAC AATGTTCTTT ACAGCGGAGG CTTTACTCCT TTGTGTTTTG CAGCTTACCT
ACTTCTTATP TATACATTTG TTACAAGAAA TGTCCGCTCC GAAATGAGGA AACACAAAAC CTGTTACGTA
305379 TAACAAAGTT AATTTGGTTA AACTTCTATT GGCTCATTCG GCGGATGTAG ATATTTCAA CACGGATCGG
ATTTGTTCAA TTAACCAAT TTGAAGATAA CCGAGTAAGC CGCCTACATC TATAAAGTTT GTGCCTAGCC
305449 TTAATCTCTC TACATATAGC CGTATCAAAT AAAAAATTAA CAATGGTTAA ACTTCTATTG AACAAAGGTT
AATFGAGGAG ATGTATATCG GCATAGTTTA TTTTAAATP GTTACCAATP TGAAGATAAC TTGTTTCCAC
305519 CTGATACTGA CTGCTGGAT AACATGGGAC GTACTCCTTT AATGATCGCT GTACAATCTG GAAATATTGA
GACTATGACT GAACGACCTA TTGTACCTG CATGAGGAAA TTAATAGCGA CATGTTAGAC CTTTATAACT
305589 AATATGTAGC AACTACTTA AAAAAATAA AATGTCCAGA ACTGGGAAA ATTGATCTTG CCAGCTGTAA
TTATACATCG TGTGATGAAT TTTTTTTATT TTACAGGCT TGACCCTTTT TAACTAGAAC GGTGACATTT
305659 TTCATGGTAG AAAAGAAGTG CTCAGGCTAC TTTTCAACAA AGGAGCAGAT GTAAACTACA TCTTTGAAAG
AAGTACCATC TTTCTTCCAC GAGTCCGATG AAAAGTTGTT TCCTCGTCTA CATTTGATGT AGAACTTTT
305729 AAATGGAAA TCAATACTTG TTTTGGAAAT GATTAAGAA AGTTACTCTG AGACACAAA GAGGTAGCTG
TTTACTTTTT AGTATATGAC AAAACCTTAA CTAATTTCTT TCAATGAGAC TCTGTGTTTT CTCCATCGAC
305799 AAGTGGTACT CTCAAAGGTA CGTACTAAT TAGCTATAAA AAGGATCCGG GTTAATTAAT TAGTCATCAG
TTCAACATGA GATTTCCAT GCACTGATTA ATCGATATTT TTCTTAGGCC CAATTAATTA ATCAGTAGTC
305869 GCAGGGCGAG AACGAGACTA TCTGCTCGTT AATTAATTAG AGCTTCTTTA TTCTATACTT AAAAAGTGAA
CGTCCCGCTC TTGCTCTGAT AGACGAGCAA TTAATTAATC TCGAAGAAAT AAGATATGAA TTTTTCATP
305939 AATAAATACA AAGGTTCTTG AGGGTTGTGT TAAATTTGAAA GCGAGAAAATA ATCATAAATP ATTTCAATAT
TTATTTATGT TTCCAAGAAC TCCAACACA ATTTAATCTT CGCTCTTTPAT TAGTATTTAA TAAAGTAATA
306009 CGCGATATCC GTTAAGTTTG TATCGTAATG GAAAGCAATA ATAAACAAATA CTATAAAGAC AGCAATCGGT
GCGTATATAG CAATTCAAAC ATAGCATTAC CTTTCGTTAT TATTTGTTAT GATATTTCTG TCGTTAGCCA

```

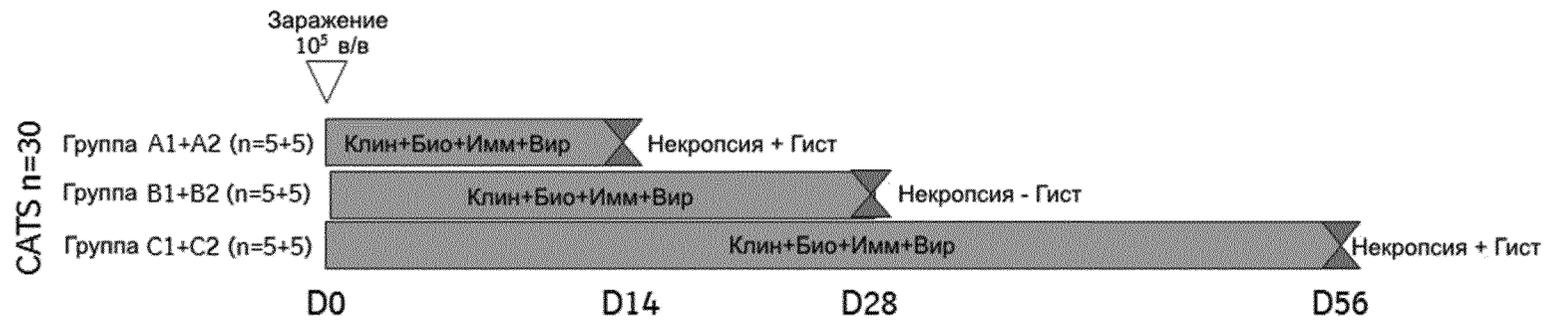
## Фигура 3 - продолжение

306079	ACTTCAGCAA	GATCCTGGAC	GAGAATAAGA	CAGTCAATAA	TCACCTGTAC	TCCCTGTCTA	TCAGGATCAT
	TGAAGTCGTT	CTAGGACCTG	CTCTTATTCT	GTCAGTTATT	AGTGGACATG	AGGGACAGAT	AGTCCTAGTA
306149	CACCGTGATC	GCCATCGTGG	TGTCCTGAT	CGCAACCACT	ATCASCATCA	TCAATGCCAT	CTCTGGCAGA
	GTGGCACTAG	CGGTAGCACC	ACAGGGACTA	GCGTTGGTGA	TAGTGATAGT	AGTTACGGTA	GAGACCCTCT
306219	ACCACTCTGA	ACAATAACAT	GGACATGCTG	CTGAACCAGC	AGGATAAGAT	CAATAACATC	AAAGAGATGA
	TGGTGAGACT	TGTTATTGTA	CCTGTACGAC	GACTTGGTCG	TCCTATTCTA	GTTATTGTAG	TTTCTCTACT
306289	TCTTCGACAG	GATCTATCCA	CTGATCAACG	CAATGAGCAC	CGAGCTGGGG	CTGCACATCC	CTACCCTGCT
	AGAAGCTGTC	CTAGATAGGT	GACTAGTTCG	GTTACTCGTG	GCTCGACCCC	GACGTGTAGG	GATGGGACGA
306359	GGACGAAC TG	ACTAAGTCCA	TCGATCAGAA	GATCAAAAATC	ATGACTCCAC	CTCTGGAAAC	CAGTACCTCT
	CCTGCTTGAC	TGATTCAAGT	AGCTAGTCTT	CTAGTTTTFAG	TACTGAGGTG	GAGACCTTTG	GTGATPGGAGA
306429	AATCTGAAC T	GGTGCATCAA	TCCCCCAAAC	GGAAATCATCG	TGGACCCAAA	AGGCTACTGT	GAGGGGCTGG
	TTAGACTTGA	CCACGTAGTT	AGGGGGTTTG	CCTTAGTAGC	ACCTGGGTTT	TCCGATGACA	CTCCCCGACC
306499	AACGTCCCAA	CCCTATAAAA	CTGCTGCTGG	ACCAGCTGGA	TATGCTGAGG	AAGAAAACATC	CGCGATCAA
	TTGACAGGTT	CTGGATATTT	GACGACGACC	TGGTTCGACCT	ATACGACTCC	TTCTTTTCGG	ACTAGTAGTT
306569	TAAGAAAATCC	ATCAACCAGT	GCAGACTGGT	GGATAGCTCC	AATATCGTGT	TCGCCACCGT	GAACATCCAG
	ATTCTTTAGG	TAGTTGGTCA	CGTCTGACCA	CCTATCGAGG	TTATAGCACA	AGCGGTGGCA	CTTGTAGGTC
306639	AGCACTCCATC	ACTTACTGAA	TCGTTGGGACT	ACCCTGTCCTG	ACCAGAGAAAT	CAGTTTCGGC	CAGGGTACTT
	TCGTGAGGAT	CCAAAGACTT	AGACCCCTGTA	TGGCACAGGT	TGGTCTCTTA	GTGAAAGCCT	GTCCCATGAA
306709	ACTCTAGCAC	CTATATCATC	ACTATCCAGG	AGGACCGTCT	GACCGATGTG	CAGTACAGAG	TGTTTGAAAT
	TGAGATCGTG	GATATAGTAG	TGATAGGTCC	TCCTGCCAGA	CTGGCTACAC	GTCAATGTCTC	ACAAACTTTA
306779	CGGCTATAFC	TCFGACCAGT	TCGGGACTTT	GCTTCTCTG	ATPCGTGAGCA	GGGTGCTGCC	CGCGATCAATG
	GCCGATATAG	AGACTGGTCA	AGCCCTGAAA	AGGAAGAGAC	TAGCACTCGT	CCCACGACGG	GCACCTTAC
306849	GTGCTGGGGA	TGGAGTCTCG	CACCTCTGACC	TCGTGATAAGT	TCGGCCGGGTA	CTTCCCTGTGC	ATGAATATCC
	CACGACCCCT	ACCTCAGGAC	GTGAGACTGG	AGCATATTCA	AGCCGCCCAT	GAAGGACACG	TACTTATAGG
306919	CCACCAGGTC	TATCTACGAC	TATGTGAACA	TCAGAGATCT	GAAGAGCCTG	TACGTGACCA	TCCCCACTA
	GGTGGTCCAG	ATAGATGCTG	ATACACTTGT	AGTCTCTAGA	CTTCTCGGAC	ATGCACTGGT	AGGGGGTGAT
306989	CGGCAAAATC	AATTACACTT	ATTTCAACTT	TGGGAAGGTG	AGGAGCCCAT	ATGAGATCGA	CAAAATCTGG
	GCCGTTTTAG	TTAATGTGAA	TAAAGTTGAA	ACCCTTCCAC	TCCTCGGGTG	TACTCTAGCT	GTTTTAGACC
307059	CTGACTTCTG	AAAGAGGACA	GATGATCAGC	GCTTACTCTG	CCGCATTTGT	GACTATCACC	ATCAGGAAC T
	GACTGAAGAC	TTTCTCCTGT	CTACTAGTCG	CCAATGAAGC	GGCGTAAAACA	CTGATAGTGG	TAGTCCCTGA
307129	ACAACAACFA	CCCTTACAAG	TGCCTGCACA	ACCCATGPTCT	GGAGAGAAGC	GAATCCTACT	GCAAGGGATG
	TGTTGTTGAT	GGGAATGTTT	ACGGACGTTG	TGGGTACAGA	CCTCTCTCTG	CTTAGGATGA	CGTTCCTTAC
307199	GTATAAGAAC	ATCACTGGTA	CCGACGATGT	GCCCATCTCTG	GCCCTACCTGC	TGGTGGAGAT	GAACGATGAG
	CATATCTCTG	TAGTGACCAT	GGCTGCTACA	CGGGTAGGAC	CGGATGGACG	ACCACCTCTA	CTTGTACTCT
307269	GAAGGTCCAC	TGATCACCTT	GGTGGAAATC	CCTCCCTACA	ATTATACTGC	ACCTAGCCAT	AACTCCCTGT
	CTTCCAGGTC	ACTAGTGGGA	CCACCTTTAG	GGAGGGATGT	TAATATGACG	TGGATCGGTA	TTGAGGGACA
307339	ACTATGACGA	ATCACTCAAC	AAGCTGATCA	TCACTACCTC	CCACATCGGA	TATATCCAGA	TCACGAGGTC
	TGATACTGCT	ATTCTAGTTG	TTGCGACTAGT	ATGATGGAG	GGTGTAGCCT	ATATAGGTC T	AGTTGCTCCA
307409	GCATGAAGTG	ATCGTGGGTG	ACAATCTGAA	GGCCATCCTG	CTGAACAGGC	TGAGCGATGA	GCACCCAACT
	CGTACTTCCAC	TAGCACCCAC	TGTTAGACTT	CCGGTAGGAC	GACTTGTCCG	ACTCGCTACT	CGTGGGTTGA
307479	CTGACCCGAT	GTAGGTTCAA	TCAGGAGATC	AAAGAAAAGAC	ATATCTCCGA	CGGCCCTGAT	ATCTCTAACA
	GACTGGCGTA	CATCCAAGTT	AGTCCCTTAG	TTTCTTTCTG	TATAGAGGCT	GCCGGACTAG	TAGAGATTGT
307549	GCGCCCTGAT	CGATATCCAG	GAGAGGATGT	ACGTGACCGT	GAAGGCAGTG	CCACCTATCG	GCAATATAAA
	GCGGGGACTA	GCTATAGGTC	CTCTCTTACA	TGCACCTGGCA	CTTCCGTCAC	GGTGGATAGC	CGTTAATATT
307619	CTTTACCGTG	GAAGTGCAT	CCAGATCTAA	TACTAGCTAC	GTGGGGCTGC	CTAGGCAGTT	CAACGCAAGA
	GAATGGCCAC	CTTGACGTTA	GGTCTAGATT	ATGATCGATG	CACCCCGACG	GATCCGCTAA	GTGGGTTCT
307689	TATGACAAAC	TGCATCTGGA	ATGCTTTGCC	TGGGATAGAT	CCTGGTGGTG	TGCACGTATC	CCCCAGTTTT
	ATACTGTTTTG	ACGTAGACCT	TACGAAAACGG	ACCCTATCTA	GGACCACCAC	ACGTGACTAG	GGGGTCAAAA
307759	CTCTGTCCTG	GAATGAGAGC	CTGTCCGTTG	ATACTGCTAT	TTTCAACCTG	ATAAAGTCTA	ACTAACTCGA
	GAGACAGGAC	CTTACTCTCG	GACAGGCACC	TATGACGATA	AAAAGTTGGAC	TATTTGACAT	TGATTGAGCT
307829	GTCTAGAATC	GATCCCGGGT	TTTTATGACT	AGTTAATCAC	GGCCGCTTAT	AAAGATCTAA	AATGCATAAT
	CAGATCTTAG	CTAGGGCCCA	AAAATACTGA	TCAATTAGTG	CCGGCGAATA	TTTCTAGATT	TTACGTATTA
307899	TTCTAAATAA	TGAAAAAAG	TACATCATGA	GCAACCGCTT	AGTATATTTT	ACAATGGAGA	TTAACGCTCT
	AAGATTTTAT	ACTTTTTTTC	ATGTAGTACT	CGTTGCCCAA	TCATATAAAA	TGTTAGCTCT	AATTTGCCGAGA
307969	ATACCGTTCT	ATGTTTATTT	ATTCAGATGA	TGTTTTAGAA	AAGAAAAGTTA	TTGAAATATGA	AAACTTTAAT
	TATGGCAAGA	TACAAAATAAC	TAAGTCTACT	ACAAAATCTT	TTCTTTCAAT	AACTTATACT	TTTGAAATTA
308039	GAAGATGAAG	ATGACGACGA	TGATTATTGT	TGTAATCTG	TTTTAGATGA	AGAAGATGAC	GCGCTAAAGT
	CTTCTACTTC	TACTGCTGCT	ACTAATAACA	ACATTTAGAC	AAAATCTACT	TCTTCTACTG	CCGATTTTCA
308109	ATACTATGGT	TACAAAGTAT	AAGTCTATAC	TACTAATGGC	GACTTGTGCA	AGAAGGTATA	GTATAGTGAA
	TATGATACCA	ATGTTTCATA	TTGAGATATG	ATGATTACCG	CTGAACACGT	TCTTCCATAT	CATATCACTT
308179	AATGTTGTTA	GATATGATTT	ATGAAAAACC	AAATAAATCA	GATCCATATC	TAAAGGTATC	TCCTTTGCAC
	TTACAACAAT	CTAATACTAA	TACTTTTTTG	TTTATTTAGT	CTAGGTATAG	ATTTCCATAG	AGGAAACGTG
308249	ATAATTTTCA	CTATTCCTAG	TTTAGAATAC	TTTTCAATAT	ATTTGTTTAC	AGCTGAAGAC	GAAAAAATA
	TATTAAGATA	GATAAGGATC	AAATCTTATG	AAAAGTAATA	TAAACAATATG	TCGACTTCTG	CTTTTTTTAT
308319	TATCGATAAT	AGAAGATTAT	GTTAACTCTG	CTAATAAGAT	GAAATTTGAA	GAGTCTGTGA	TA
	ATAGCTATTA	TCCTCTAATA	CAATTGAGAC	GATTATTTCTA	CTTTAACTTA	CTCAGACACT	AT

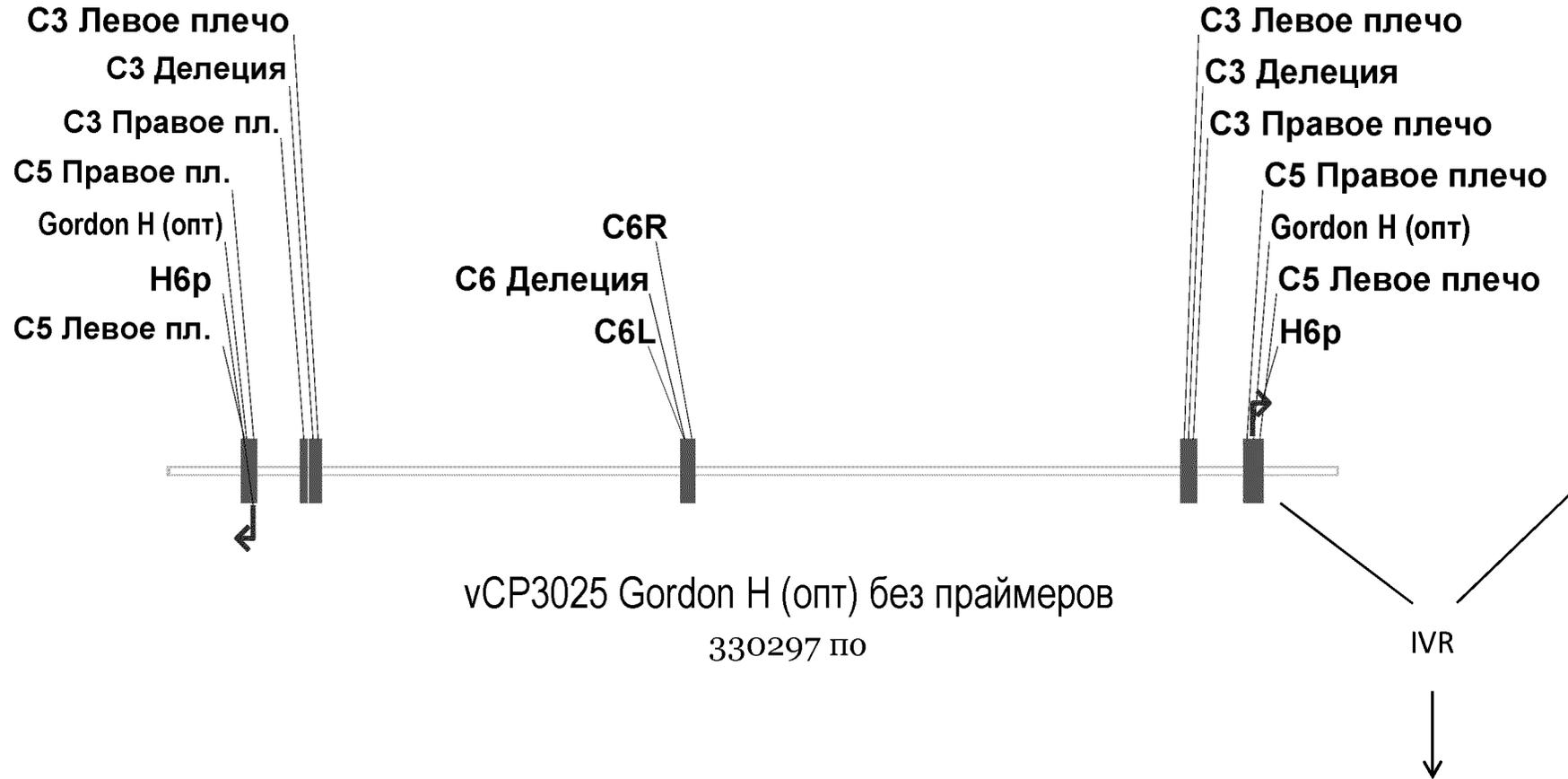




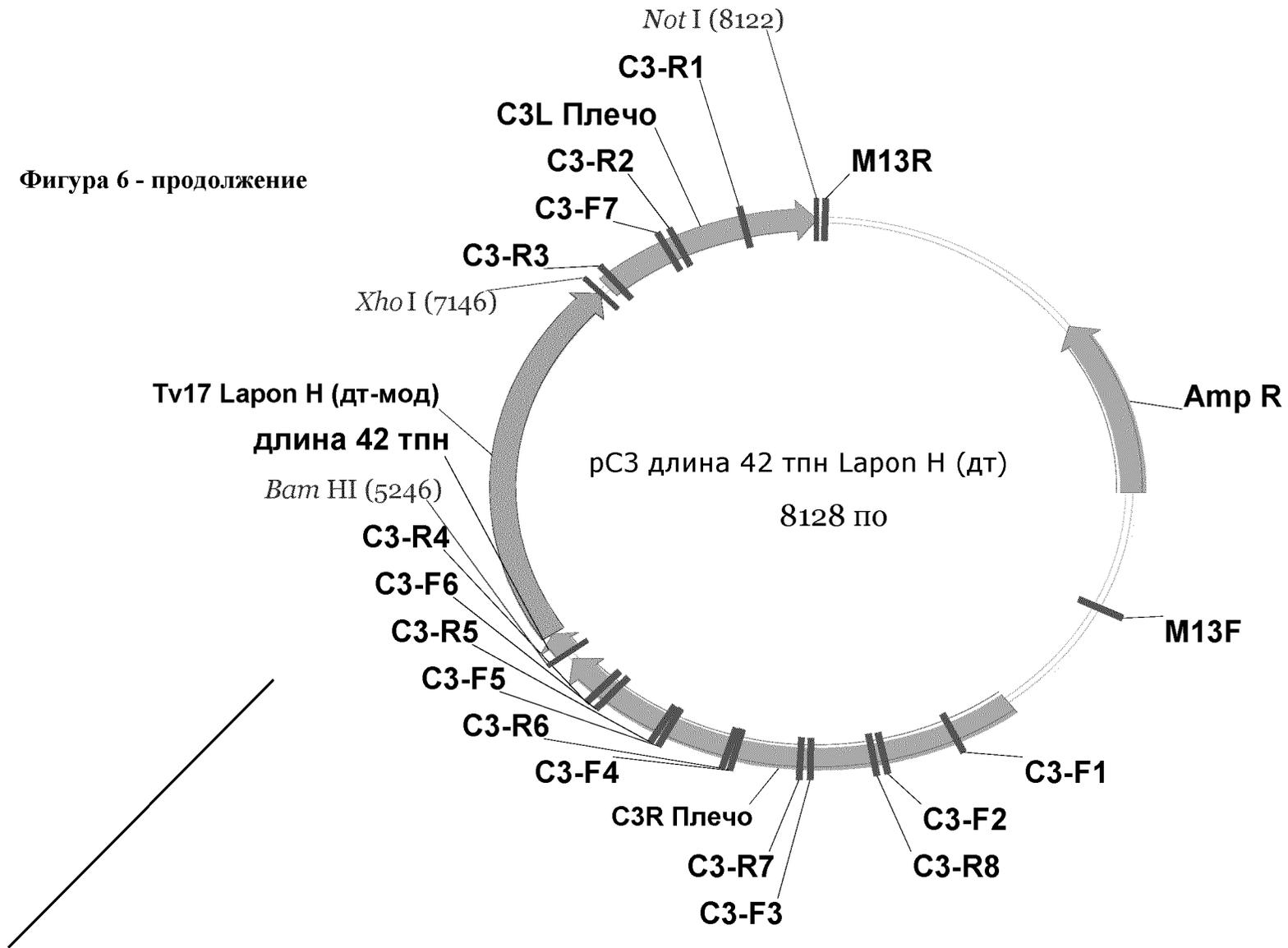
Фигура 5



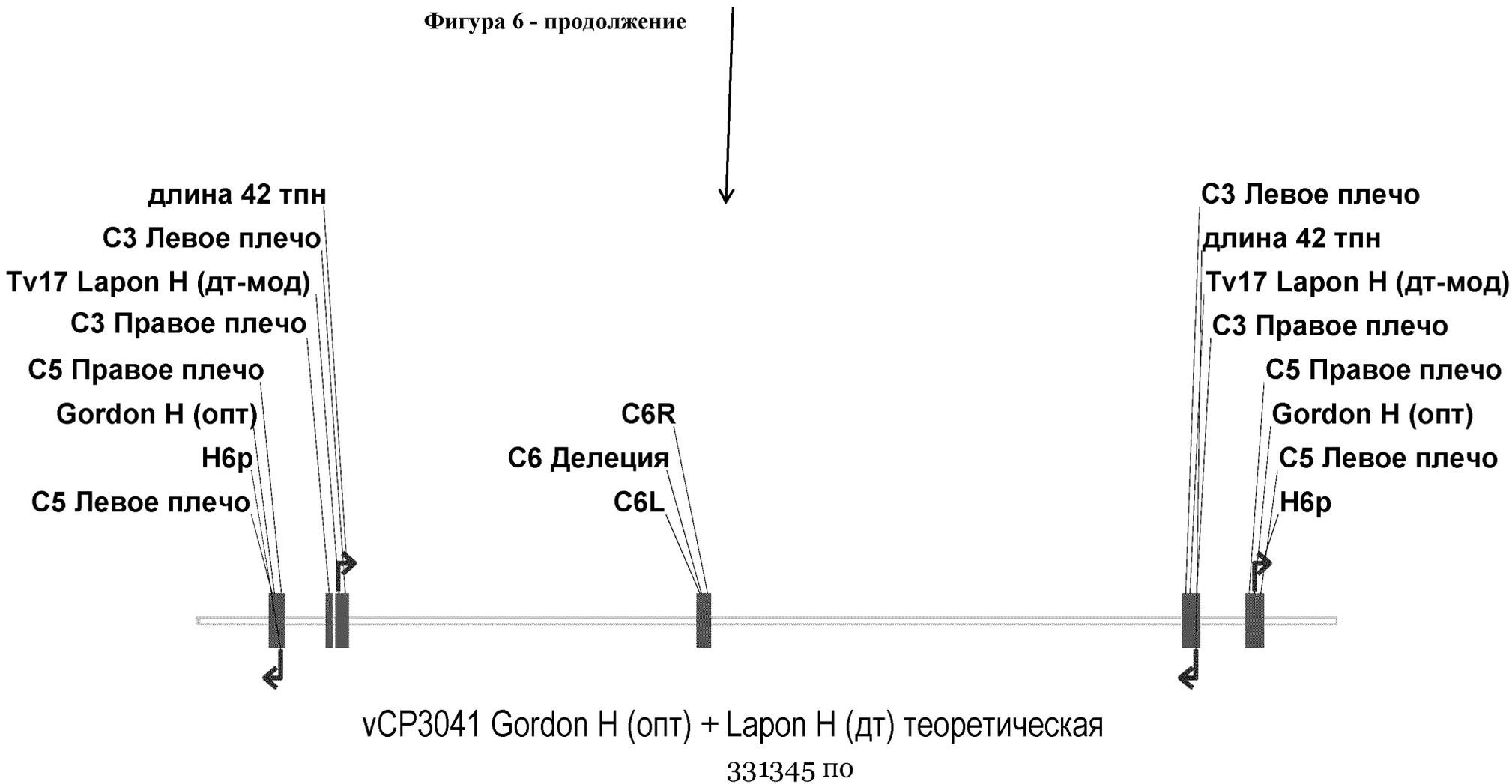
Фигура 6



Фигура 6 - продолжение



Фигура 6 - продолжение





## Фигура 7 - продолжение

40719 GATTCCACCAT CTGATAGAAA AAAAATTTAT TGGGAGAATA TGATAATATT TTGGGATTTT AAAATTGAAA  
 СТААГТГГТА ГАСТАТСТТТ ТТТТАААТА АСССТСТТА АСТАТТАТАА ААСССТАААГ ТТТТААСТТТ  
 40789 АТАТААААТ АСААТАААА АТГГАГТССА АСААСАТТАА АТАТТАСААА ГАССТТААТС ГГТАТСТТГГ  
 ТАТАТАТТАА ТГТТАТАТТТ ТАССТСАГГТ ТГТТГТААТТ ТАТААТГТТТ СТГАГАТТАГ ССАТАГААСС  
 40859 ТААААТАТТА ГАТГААСАСА АГАСАГТТАА ТААТСААТТГ ТАСАГГТТГА ГТАТТАААГТ ААТТАССАТТ  
 АТТТТАААТ СТАССТТГТГ ТСТГТСААТТ АТТАГТТААС АТГТССААСТ САТААТТТСА ТТААТГГТАА  
 40929 АТТГСАТТА ТТГТААГСТТ ААТТГСААСА АТААТААСТА ТТАТТААТГС САСААГТГГА АГААСТАСС  
 ТААСГАТААТ ААСАТТСАА ТТААСТТГТ ТАТТАТГГАТ ААТААТТАСГ ГТГТТАССТ ТСТТГАТГГГ  
 40999 ТАААСАГТАА ТАСАГАСАТА СТГСТТААГ АААГАГАТГА ГАТТСАТАГТ АТТСАТГААА ТГАТАТТТГА  
 АТТТГТСАТТ АТГТСТГТАТ ГАСГААТСГГ ТТТСТТАСТ САААГТАТСА ТААГТАСТТТ АСТАТАААСТ  
 41069 ССГТАТТТАТ ССТТТГАТАА СТГСТАТГАГ ТАСАГАГСТА ГГАССТТАСА ТТСТТАСТТТ АТТАГАТГАА  
 ГГСАТАААТА ГСАААСТАТТ ГАСГАТАСТС ССТГААГТАТ ААГАТАТТАА ААГАТАТТАА ТААТТААТТ  
 41139 СТТАСТАААГ СААТТАТТАА АААААТТААА АТААТГААТС СТСССГТТГА ТАСТГТААСА ТСТГАТСТТА  
 ГААТГАТТТС ГТТААСТТАГ ТТТТААТТТ ТАТТАСТТАГ ГААААААСТ АТГАСАТТТГ АГАСТАГААТ  
 41209 АСТГГТГТАТ САААСТСТТ ААТГГГАТТА ТАТТГГААСС АААААГТТАТ ТГСААААГА ТАААТТАТТ  
 ТГАСАСАТАА ААТТГГААА ТТААСТТААТ ААТААСТТГГ ТТТТСААТА АСГСТТАСТТ ТТААТТАТТ  
 41279 ТААААСТТАС АААТТАТТГС ТТГАТСАГТТ АГАТГТСТСА АГАААГАААТ СГСТСАТТАТ ААТАГАААГ  
 АТТТТГААТГ ТТТААТААА ААСТАГТСАА ТСАААГАТС СТТТТГСТТАС ТГТТААТАТА СААТТАСАС  
 41349 ААТАТСААС АГТГТСААТТ АГТТАТГАС ТСАААГАТСА СТТТТГСТТАС ТГТТААТАТА СААТТАСАС  
 ТТАТАГТТГГ ТАТТГАТААГ ТСАААСТТА АГТТТТААТ АААААААА АСААТТААТ ТААСТАТТА  
 41419 САААГТТТТТ АААТТТТГГТ САТАСАГТСА ГСААТСААСГ ТАТААСАТТТ ГГТСААААА СТТАТАГАТ  
 ГТТТСААААА ТТТАААААСА ГТАТГТСААТ СГТТАГТТГ АТАТТГТААА ССААТТАСТТ ГААТАТТАТ  
 41489 ТАСТТАТАТТ АТААСТАТТА АААААГАТГ ААТААТТААТ ГТТСААТАТС ГААТГТТТГА ААТТГГАТАТ  
 АТГААТАТАА ТАТТГАТААГ ТТСТТААСТТ ТАТТТААСТА СААААААА АСААТТААТ ТААСТАТТА  
 41559 АТСТСТГАТС АГТТТГГТТТ ТТТТТТТТТ ТТААТАГАТ СТГААААААТ ГССТТААСТТ АТГГТАТТГГ  
 ТАГАААСТТА ТСААААААА АААААААА ААТТАТТААТА ГАТТТТТТТТ ССААТАТТАА ТААСТАТТА  
 41629 ГААТГАААТС СТГААСТТТ АСГААТГАТ ГАСААААААА ГТАТТТТТТТ ТГАТАГААТА САТТААААА  
 СТТААСТТАА ГСААТГААА ТГСТТААСТТ САТАААААА АСАТААТТАА ААТТТГТТГ  
 41699 ГТСТТАТАТ ГАТТАТГТСА АТАТААААА ТТТГАААТСА СТТАААААА САСТТААСТТ ТТАТГГТААГ  
 САГАТАТАТА СТТАААААА ТАТАТТТТТ АААСТТААТ ГАТАТГТАТТ ГТГАААААА ААТААСТТТ  
 41769 ГТТААТТАТА СТТААСТТАА ТТТТТТТТТ АТТАААААА САСАТАГАТ ТГАТАААААТ ТГГТТААСТТ  
 СААТТААТТ ГААТГААГТТ АААААСТТТ ТААСТТТТТ ГТГАААААА АСАТААТТАА АСГАТТААА  
 41839 ССААААААА ТСАААТТАТТ ТСТГГТТАТТ ТТГСААААТТ ГТТСААААА АСАТААААА АТТАТААААА  
 ГГСТТТТТТ АГТТТААТАА АГААААТАА АААААААА АСААТГТТАА ГГТАААААА ТААТАТТАТТ  
 41909 ТТАТТТТТТ АААТГТТТГА АТААТТТТТ ТТТТГАААА ТСТГААААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 ААТАААААА ТТТАААААА ТАТТААААА АААААСТТТ ТААСТТТТТ АААААААА АСГАТТААА  
 41979 ААСАТАААА ГСААААААА ТГТТТТТТТ ТТААТАГАТ ТААСТАТТАА ААТТААААА АТТАТААААА  
 ТТГАТТАТТТ СГТГГГТААТ АСАААААА АААААААА АААААААА АСААТГТТАА ГГТАААААА  
 42049 СТТТАААТТА АСТТТТТТТ АТАААААА АААААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 ГАААТТААТТ ГАААААААА ТАТТААААА АААААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 42119 ТГАСАААААТ ААТАААААА ТААТТАААА АТТТААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 АСГТТТТТТ ТАТТААААА АТТААААА АТТААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 42189 ГТГАТТТТТ ГТГАТТААА АААААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 42259 ССТТААААА ТААТТАААА АТТААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 ГСААТТААА АТТААААА АТТААААА АСААТТААА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 42329 ТАТТГАТАТА СААААААА ТГТАТАТТА АСГТААААА АТГГТАТААГ  
 42399 ГТТГААТТТ АССТТАААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 СААТТААА АТТАААА АТТАААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42469 ААТТААААА ТГААТТААА ААТТТТТТ АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ТТААТТААА АССТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42539 ТТГААТТАА ТТТТТТТТ ТГТААТТАА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ААСТТААА АТТАААА АТТАААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42609 СТГАААААА ГГТТТТТТТ ГСАААААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ГСААТТААА АТТАААА АТТАААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42679 ТТАСАТААА АТТТАААА АСТААААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ААТТАААА АТТАААА АТТАААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42749 ТТТААААА АГТТАААА АААААААА ТАТТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 АААТТААА АТТАААА АТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42819 ТААТТАААА АСААТТААА ТТСТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 АТТААААА АТТАААА АТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42889 АТТААААА ТААААААА СААААААА ТТАААААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ТААААААА АТТАААА АТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 42959 АТГААААА АССТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ТААААААА АТТАААА АТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 43029 АСГТАААА ТААААААА ТТАААААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ТГАААААА АТТАААА АТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 43099 АСГААААА АССТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ  
 ТГАААААА АТТАААА АТТААА АСААТТААА АСГТАААА АТГГТАТААГ

## Фигура 7 - продолжение

43169 TTTGGTAAAG CACTTTGFAA AATTAGTTC TCTTTTTTA CTTCTAACAT GTTTGCAAGT ATATTTTTAA  
AAACCATTTC GTGAAACATT TTAATCAAGA AAGAAAAAAT GAAGATFGTA CAAACGTTCA TATAAAAAAT  
43239 TAACTGTAAT AAGCGTATAT AGATATGFAA AAATTACCCT TCCTGGATTT ACCTATAAAT ATGTTAACAT  
ATTGACATTA TTCGCATATA TCTATACATT TTTAATGGGA AGGACCTAAA TGGATATTTA TACAATTGTA  
43309 TAGAAATAFG TACATTACTA TATTTTTCAT AFGGATTAAT TCTATTATAC TAGGGATTCC TGCTCTTTAC  
ATCTTTATAC ATGFAATGAT ATAAAAAGTA TACCTAATAA AGATAATATG ATCCCTAAGG ACGAGAAATG  
43379 TTTAGAAATA CTATCGTAAC AAAAAATAAC GACACGCTGT GTATTAATCA TTATCATGAT AATAGAGAAA  
AAATCTTTAT GATAGCATFG TTTTTTATG CTGTGCGACA CATAATTAGT AATAGTACTA TTATCTCTTT  
43449 TTGCTGAATG GATTACAAA GTTATTATCT GTATCAGATT TATTTTAGGA TACCTACTAC CTACGATAAT  
AACGACTTAA CTAATGTTT CAATAATAGA CATAGCTAA ATAAAACTCT ATGGATGATG GATGCTATTA  
43519 TATACTCGTA TGCTATACGT TACTGATCTA CAGAACAAAC AATGCATCTA ATATATCTGA TAAGATATTC  
ATATGAGCAT ACGATATGCA ATGACTAGAT GTCTTGATFG TTACGTAGAT TATATAGACT ATTCCTATAAG