

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291391 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.25

(51) Int. Cl. C07K 14/47 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.11.04

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЗГА

(31) 62/930,417; 62/988,102; 63/018,060;
63/070,987

(72) Изобретатель:

Бредло Эми-Ли, Лови Израэль,
Скольник Джеффри, Янь Цзянь,
Ферраро Бернадетте, Уолтерс Джуэлл
(US)

(32) 2019.11.04; 2020.03.11; 2020.04.30;
2020.08.27

(33) US

(86) PCT/US2020/058891

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

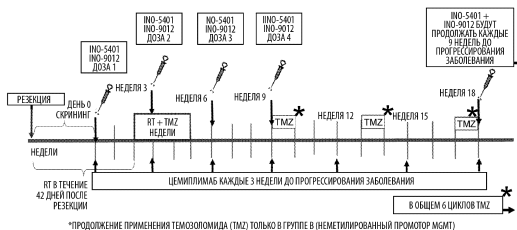
(87) WO 2021/092019 2021.05.14

(71) Заявитель:

ИНОВИО ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК.; РИДЖЕНЕРОН
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(57) В изобретении предложены молекулы нуклеиновой кислоты, белки, композиции и способы лечения рака мозга у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции содержат раковые антигены hTERT, WT-1 и PSMA. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции также содержат адъювант. Указанные способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, раковых антигенов. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способы дополнительно включают введение адъюванта и антитела к PD-1. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы дополнительно включают применение лучевой терапии и/или химиотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления изобретения клинически доказано, что способы являются безопасными, эффективными или как безопасными, так и эффективными.

СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ



A1

202291391

202291391

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574204EA/030

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЗГА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] В данной заявке заявляется приоритет по заявке на патент США № 63/070987, поданной 27 августа 2020 г.; заявке на патент США 63/018060, поданной 30 апреля 2020 г.; заявке на патент США 62/988102, поданной 11 марта 2020 г.; и заявке на патент США 62/930417, поданной 4 ноября 2019 г. Каждая из этих заявок включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит Перечень последовательностей, который представлен в электронном виде в формате ASCII и включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Копия указанного файла ASCII, созданная 4 ноября 2020 г., называется 104409_000581_SL.txt и имеет размер 89861 байт.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Данное изобретение относится к комбинированной терапии и способам лечения рака мозга.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Несмотря на достижения в терапии, глиобластома (GBM) остается одним из наиболее смертоносных раковых заболеваний. Имеющееся на данный момент лечение GBM представляет собой хирургическое вмешательство с последующей сопутствующей лучевой терапией (ЛТ) и химиотерапией темозоломидом (TMZ), который вводят раз в сутки в течение ЛТ, а затем в течение 6-12 поддерживающих циклов (адьювант) после завершения ЛТ для некоторых пациентов [Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. N Engl J Med 2005, 352:987-996].

[0005] Ингибиторы конечной точки, такие как ингибиторы запрограммированной смерти клеток (PD-1), демонстрируют повышенные частоты ответов при многих раковых заболеваниях, но не демонстрируют клиническую пользу при GBM.

[0006] Следовательно, существует необходимость в установлении и развитии способов лечения GBM для облегчения клинического применения и прогрессирования заболевания. Дополнительно, наиболее эффективные способы лечения необходимы для отсрочки прогрессирования заболевания и/или снижения смертности у субъектов, страдающих от рака.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] В данном изобретении предложены вакцины и способы их применения для профилактики или лечения рака. Рак может представлять собой рак мозга, например глиобластома. Вакцина предпочтительно включает по меньшей мере три раковых антигена, hTERT, WT-1 и PSMA. В некоторых вариантах осуществления изобретения вакцина также содержит адьювант, такой как ИЛ-12 и антитело к PD-1. Способ включает

введение раковых антигенов hTERT, WT-1 и PSMA, адъюванта и ингибитора контрольной точки рецептора программируемой смерти-1 (PD-1), такого как антитело к PD-1, субъекту, у которого диагностирован рак. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы предотвращают рост опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут снижать рост и/или размер опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут предотвращать метастазирование опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут усиливать клеточный иммунный ответ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы увеличивают выживаемость без наличия опухоли, выживаемость без прогрессирования, общую выживаемость или их любую комбинацию у субъекта.

[0008] В некоторых вариантах осуществления изобретения ИЛ-12 кодируется плазмидной ДНК, например INO-9012 или его биоаналогом или биоэквивалентом. В некоторых вариантах осуществления изобретения hTERT, WT-1 и PSMA кодируются одной или более плазмидными ДНК, например INO-5401 или его биоаналогом или биоэквивалентом. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1 представляет собой цемиплимаб или его биоаналог или биоэквивалент. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы дополнительно включают применение лучевой терапии и/или химиотерапевтического агента, например темозоломида или его биоэквивалента.

[0009] В некоторых вариантах осуществления изобретения клинически доказано, что способы являются безопасными, эффективными или как безопасными, так и эффективными.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0010] Сущность изобретения как и следующее подробное описание будут дополнительно понятны при их прочтении в сочетании с прилагаемыми графическими материалами. С целью иллюстрации раскрытых способов их иллюстративные варианты осуществления показаны на графических материалах; однако, способы не ограничены конкретными раскрытыми вариантами осуществления. На графических материалах:

[0011] Фигура 1 иллюстрирует дизайн исследования для примера.

[0012] Фигура 2 иллюстрирует демографические характеристики для популяции исследования для примера.

[0013] Фигура 3 иллюстрирует типичные изображения МРТ для двух пациентов, демонстрирующих повышение сигнала МРТ в моменты времени после первой дозы INO-5401+INO-9012 и цемиплимаба-rwlc, что может свидетельствовать об отеке или опухоли. Биопсия от нескольких пациентов демонстрирует связанные с лечением изменения с некрозом и смешанным воспалением; отсутствие митотической активности; и отсутствие доказательств жизнеспособной опухоли. Субъект, представленный изображениями МРТ в нижней части, демонстрировал подтверждение прогрессирования к 9 неделе, но излечение к 21 неделе. Субъекты с подобными результатами МРТ, которым проводили резекцию, демонстрировали только иммунный инфильтрат при отсутствии жизнеспособной опухоли.

[0014] Фигура 4 демонстрирует результаты ELISpot, подтверждающие комбинацию INO-5401 и цемиплимаба-gwlc как иммуногенную с величинами ИФН-g выше исходного уровня для всех 3 антигенов у 5/11 субъектов и для по меньшей мере одного антигена у 9 субъектов, полученными из данных за 12 месяцев.

[0015] Фигуры 5A, 5B и 5C демонстрируют результаты анализа распределения литических гранул, демонстрирующие частоту появления живых, антиген-специфических, активированных (CD38+) CD3+CD8+ Т-клеток с литическим потенциалом (экспрессирующие гранзим А, перфорин), полученные из данных за 12 месяцев. Фигура 5A иллюстрирует частоты появления живых, антиген-специфических, активированных (CD38+) CD3+CD8+ Т-клеток с литическим потенциалом (экспрессирование гранзима А, перфорина) от момента до лечения (до) и до наивысшей величины (пик) после лечения с помощью INO-5401 и цемиплимаба-gwlc. Каждый субъект представлен открытым кружком, полосы представляют среднее. Различие от до лечения до пикового значения, дельта, показано для каждого графика для антигена, а также вместе для 8 субъектов, которых подвергали анализу, (Фигура 5B) и для 5 субъектов с образцами, доступными до 12 недели (Фигура 5C). INO-5401 представляет собой сумму WT1, PSMA и hTERT. Коробчатые диаграммы простираются от 25-ого до 75-ого процентиля с горизонтальной линией на медиане и «+» на среднем значении.

[0016] Фигура 6 иллюстрирует визуальное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы А, пациентов с неметилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Кривая демонстрирует вероятность события в определенный период времени. Вероятность события численно представлена на у-оси, а временной интервал на х-оси. Показанное событие представляет собой выживаемость без прогрессирования.

Выживаемость без прогрессирования представляет собой отсутствие прогрессирования заболевания в данный момент времени для данного субъекта.

[0017] Фигура 7 иллюстрирует визуальное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы В, пациентов с метилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Кривая демонстрирует вероятность события в определенный период времени. Вероятность события численно представлена на у-оси, а временной интервал на х-оси. Показанное событие представляет собой выживаемость без прогрессирования. Выживаемость без прогрессирования представляет собой отсутствие прогрессирования заболевания в данный момент времени для данного субъекта.

[0018] Фигура 8 иллюстрирует визуальное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы А и группы В, пациентов с неметилированным или метилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Кривая демонстрирует вероятность события в определенный период времени. Вероятность события численно

представлена на у-оси, а временной интервал на х-оси. Показанное событие представляет собой выживаемость без прогрессирования. Выживаемость без прогрессирования представляет собой отсутствие прогрессирования заболевания в данный момент времени для данного субъекта.

[0019] Фигура 9 иллюстрирует табличное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы А, группы В и обеих групп вместе. Представлены общее количество субъектов на группу, количество событий, оценка события (ВБП6) и 95%-ый доверительный интервал (ДИ), при котором существует численная оценка события (ВБП6).

[0020] Фигура 10А иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за двенадцать месяцев для группы А, для пациентов с неметилованным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. **Фигура 10В** иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за восемнадцать месяцев для группы А, для пациентов с неметилованным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. Медианное последующее наблюдение в группе А составляет 17,8 месяцев. mITT включает любого субъекта, который получил ≥ 1 дозы терапии исследования. Затемнение представляет доверительную область на основании точечной оценки для выживаемости в указанный момент времени.

[0021] Фигура 11А иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за двенадцать месяцев для группы В, для пациентов с метилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. **Фигура 11В** иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за восемнадцать месяцев для группы В, для пациентов с метилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. Медианное последующее наблюдение в группе В составляет 15,6 месяцев. Проверено; два субъекта в группе В отказались от соглашения о последующем наблюдении на 3 недели. mITT включает любого субъекта, который получал ≥ 1 дозы терапии исследования. Затемнение представляет доверительные области на основании точечной оценки для выживаемости в указанный момент времени.

[0022] Фигура 12 иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за двенадцать месяцев для групп А+В вместе. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси.

[0023] Фигура 13 иллюстрирует данные об эффективности для общей выживаемости через 12 месяцев и 18 месяцев для группы А, для группы В и вместе. Фигура демонстрирует общее количество субъектов, которые, как сообщается, были живы через 12 месяцев и через 18 месяцев. Представлены общее количество субъектов, оценка события (ОВ12 или ОВ18) и 95%-ый доверительный интервал (ДИ), при котором существует численная оценка события (ОВ12 или ОВ18). 95%-ый ДИ рассчитывали с использованием точного метода Клоппера-Пирсона.

[0024] Фигура 14 иллюстрирует все побочные эффекты, как определено протоколом клинического исследования, ≥ 3 степени в соответствии с СТСАЕ NCI из примера.

Фигура 15 иллюстрирует побочные эффекты, связанные с иммунной системой, как определено протоколом клинического исследования из примера.

[0025] Фигуры 16А и 16В представляют результаты ELISpot по группам при сборе данных через 18 месяцев. В группе А у 19/22 (86%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась величина ИФН- γ выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (Фиг. 16А). В группе В у 16/17 (94%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась величина ИФН- γ выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (Фиг. 16В). Изображены исходные величины от максимального момента времени после лечения. Образцы собирали в недели Q3×4, а затем в недели Q12.

[0026] Фигуры 17А и 17В представляют результаты оценки периферических иммунных ответов после INO-5401 по группам с помощью проточной цитометрии (увеличение количества антиген-специфических CD8⁺ Т-клеток с литическим потенциалом) при сборе данных через 18 месяцев. В группе А у 13/19 (68%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась частота появления CD38+GrzA+Prf⁺ CD8⁺ Т-клеток выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (Фигура 17А). В группе В у 8/10 (80%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась частота появления CD38+GrzA+Prf⁺ CD8⁺Т-клеток выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (Фигура 17В). Изображены исходные величины от максимального момента времени после лечения. Образцы собирали в недели Q3×4, а затем в недели Q12.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0027] Раскрытые молекулы нуклеиновых кислот, белки, вакцины и способы можно без труда понять со ссылкой на следующее подробное описание, используемое в

сочетании с сопровождающими фигурами, которые образуют часть этого описания. Необходимо понимать, что раскрытые молекулы нуклеиновых кислот, белки, вакцины и способы не ограничены конкретными молекулами нуклеиновых кислот, белками, вакцинами и способами, описанными и/или показанными в данном документе, и что терминология, используемая в данном документе, предназначена для целей описания конкретных вариантов осуществления изобретения только посредством примера и не предполагается ограничивающей заявленные молекулы нуклеиновых кислот, белки, вакцины и способы.

[0028] Если не указано иное, подразумевается, что любое описание возможного механизма или режима действия или основания для улучшений является только иллюстративным, и раскрытые молекулы нуклеиновых кислот, белки, протеины, вакцины и способы не ограничены корректностью или некорректностью любого такого предлагаемого механизма или режима действия или основания для улучшения.

[0029] По всему тексту описания относятся к композициям и способам применения указанных композиций. Когда в раскрытии описывается или заявляется признак или вариант осуществления, связанный с композицией, такой признак или вариант осуществления равно применим к способам применения указанной композиции. Подобно, когда в раскрытии описывается или заявляется признак или вариант осуществления, связанный со способом применения композиции, такой признак или вариант осуществления равно применим к композиции.

[0030] Понятно, что некоторые признаки раскрытых молекул нуклеиновых кислот, белков, вакцин и способов, которые для ясности описаны в данном документе в различных вариантах осуществления изобретения, также могут быть объединены в один вариант осуществления изобретения.

[0031] И наоборот, различные признаки раскрытых молекул нуклеиновых кислот, белков, вакцин и способов, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления изобретения, также могут быть представлены отдельно или в любой подкомбинации.

[0032] В данном изобретении предложены вакцины и способы их применения для профилактики или лечения рака. Рак может представлять собой рак мозга, например глиобластома. Вакцина предпочтительно включает по меньшей мере три раковых антигена, hTERT, WT-1 и PSMA. В некоторых вариантах осуществления изобретения вакцина также содержит адъювант, такой как ИЛ-12 и антитело к PD-1. Способ включает введение раковых антигенов hTERT, WT-1 и PSMA, адъюванта и ингибитора контрольной точки рецептора программируемой смерти-1 (PD-1), такого как антитело к PD-1, субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы предотвращают рост опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут снижать рост и/или размер опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут предотвращать метастазирование опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут усиливать

клеточный иммунный ответ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы увеличивают выживаемость без наличия опухоли, выживаемость без прогрессирования, общую выживаемость или их любую комбинацию у субъекта.

[0033] В некоторых вариантах осуществления изобретения ИЛ-12 кодируется плазмидной ДНК, например INO-9012 или его биоаналогом или биоэквивалентом. В некоторых вариантах осуществления изобретения hTERT, WT-1 и PSMA кодируются одной или более плазмидными ДНК, например INO-5401 или его биоаналогом или биоэквивалентом. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1 представляет собой цемиплимаб или его биоаналог или биоэквивалент. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы дополнительно включают применение лучевой терапии и/или химиотерапевтического агента, например темозоломида или его биоэквивалента.

[0034] В некоторых вариантах осуществления изобретения клинически доказано, что способы являются безопасными, эффективными или как безопасными, так и эффективными.

[0035] Рекомбинантные раковые антигены могут индуцировать антиген-специфичные Т-клеточные ответы и/или ответы антител с высоким титром, таким образом индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на или является активным против рака или опухоли, экспрессирующей антиген. В некоторых вариантах осуществления изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может быть клеточным, гуморальным или как клеточным, так и гуморальным иммунным ответом. В некоторых вариантах осуществления изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию интерферона-гамма (ИФН- γ) и/или фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α). В других вариантах осуществления изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может снижать или ингибировать один или более факторов иммунной супрессии, которая стимулирует рост опухоли или ракового новообразования, экспрессирующего антиген, например, но не ограничиваясь этим: факторы, которые подавляют презентирование МНС, факторы, которые стимулируют антиген-специфичные регуляторные Т-клетки (Трег.), PD-L1, FasL, цитокины, такие как ИЛ-10 и TFG- β , макрофаги, ассоциированные с опухолями, фибробласты, ассоциированные с опухолями, растворимые факторы, продуцируемые иммунными супрессорными клетками, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулу иммунной контрольной точки.

[0036] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом в области техники. В случае противоречия следует руководствоваться данным документом, включая определения. Иллюстративные способы и материалы описаны ниже, хотя при практическом осуществлении или тестировании данного изобретения можно использовать способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие литературные

источники, упомянутые в данном документе, включены в полном объеме посредством ссылки. Материалы, способы и примеры, раскрытые в данном документе, предназначены только для иллюстрирования и не являются ограничивающими. Терминология, используемая в данном документе, предназначена для описания лишь конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения.

[0037] Предполагается, что термины «содержать(-ит)», «включать(-ют)», «имеющий», «имеет», «может», «вмещать(-ет)» и их варианты, при использовании в данном документе, являются открытыми переходными фразами, терминами или словами, которые не исключают возможность дополнительных действий или структур. Формы единственного числа включают формы множественного числа, если контекст явно не указывает на обратное. Данное описание также подразумевает другие варианты осуществления «содержащий», «состоящий из» и «состоящий по существу из» вариантов осуществления или элементов, представленных в данном документе, независимо от того, представлены они явно или нет.

[0038] Для перечисления численных интервалов в данном документе явно подразумевается каждое промежуточное число внутри интервала с той же степенью точности. Например, для интервала 6-9, подразумеваются числа 7 и 8 в дополнение к 6 и 9, а для интервала 6,0-7,0, явно подразумеваются числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0.

[0039] Некоторые количественные выражения, представленные в данном документе, не сопровождаются термином «около». Понятно, что независимо от того, используется термин «около» явно или нет, каждое указанное количество предназначено для обозначения фактической данной величины, а также, как предполагается, обозначает приближение к такой данной величине, которое может разумно предполагаться исходя из знаний в данной области техники, включая приближения вследствие условий эксперимента и/или измерений для такой величины.

[0040] «Адьювант», при использовании в данном документе, означает любую молекулу, добавляемую в иммуногенную композицию, описанную в данном документе, для усиления иммуногенности антигенов, кодируемых молекулами нуклеиновой кислоты, и кодирующих последовательностей нуклеиновой кислоты, описанных в данном документе.

[0041] «Биоаналог» (утвержденный эталонный продукт/биологическое лекарственное средство, т.е. эталонное лекарственное средство) относится к биологическому продукту, который является в высокой степени подобным эталонному продукту, безотносительно незначительных различий в клинически неактивных компонентах без клинически значимых различий между биоаналогом и эталонным продуктом относительно безопасности, чистоты и активности на основании данных, полученных из (a) аналитических исследований, которые демонстрируют, что биологический продукт является в высокой степени подобным эталонному продукту, несмотря на небольшие отличия клинически неактивных компонентов; (b) исследований

на животных (в том числе оценка токсичности); и/или (с) клинического исследования или исследований (в том числе оценка иммуногенности и фармакокинетики или фармакодинамики), которые являются достаточными, чтобы продемонстрировать безопасность, чистоту и активность одного или более подходящих условий применения, для которых эталонный продукт является разрешенным и предназначенным для использования и для которого выдача разрешения требуется для биоаналога. Биоаналог может представлять собой взаимозаменяемый продукт, который может быть замещен эталонным продуктом в аптеке без предписаний работника здравоохранения. Для того чтобы отвечать дополнительным стандартам «взаимозаменяемости», ожидается, что биоаналог дает тот же клинический результат, что и эталонный продукт у любого конкретного пациента, и, если биоаналог вводят более одного раза индивиду, риск с точки зрения безопасности или сниженной эффективности изменения или смены между применением биоаналога и эталонного продукта не больше, чем риск применения эталонного продукта без такого изменения или смены. Биоаналог действует тот же механизм действия для предложенных условий применения в той степени, в которой механизмы известны для эталонного продукта. Условие или условия применения, предписанные, рекомендуемые или предлагаемые на этикетке, предлагаемой для биоаналога, ранее были утверждены для эталонного продукта. Способ введения, лекарственная форма и/или эффективность биоаналога является той же, что и для эталонного продукта, и биоаналог производят, обрабатывают, пакуют или хранят в помещении, которое отвечает стандартам, разработанным так, чтобы гарантировать, что биоаналог является безопасным, чистым и активным. Биоаналог может содержать незначительные модификации в аминокислотной последовательности по сравнению с эталонным продуктом, такие как N- или C-концевые усечения, которые, как ожидается, не изменяют характеристики биоаналога.

[0042] Термин «антитело», при использовании в данном документе, включает молекулы иммуноглобулинов, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, взаимосвязанные дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). В типичном антителе каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращена в данном документе как HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращена в данном документе как LCVR или VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (CL1). Области VH и VL могут быть дополнительно разделены на области гиперпеременности, называемые областями, определяющими комплементарность, (CDR), попеременно с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными участками (FR). Каждый VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления изобретения FR антитела (или его антиген-

связывающего фрагмента) может быть идентичным последовательностям зародышевой линии человека или может быть природным образом или искусственно модифицирован. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основании параллельного анализа двух или более CDR.

[0043] Термин «антитело», при использовании в данном документе, также включает антиген-связывающие фрагменты полноразмерных молекул антител. Термины «антиген-связывающий участок» антитела, «антиген-связывающий фрагмент» антитела и тому подобное, при использовании в данном документе, включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативно, синтетический или генетически-инженерный полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном с образованием комплекса. Антиген-связывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из целых молекул антитела, используя любые стандартные методики, такие как протеолитическое расщепление или методики рекомбинантной генной инженерии, в том числе воздействие на и экспрессия ДНК, кодирующей переменный и необязательно константный домены антитела. Такая ДНК известна и/или легко доступна из, например, коммерческих источников, библиотек ДНК (в том числе, например, библиотек фагов-антител) или может быть синтезирована. ДНК можно секвенировать и подвергать химическому воздействию или с помощью методик молекулярной биологии, например, для расположения одного или более переменных и/или константных доменов в пригодную конфигурацию или для введения кодонов, создания цистеиновых остатков, модификации, добавления или удаления аминокислот и т.д.

[0044] Неограничивающие примеры антиген-связывающих фрагментов включают: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')₂; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные распознающие компоненты, состоящие из аминокислотных остатков, которые напоминают гиперпеременную область антитела (например, выделенную гиперпеременную область (CDR), такую как пептид CDR3), или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие искусственно созданные молекулы, такие как домен-специфичные антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела, прикрепленные к CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, бивалентные нанотела и т.д.), малые модульные иммунофармацевтические препараты (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы, также охвачены выражением «антиген-связывающий фрагмент», при использовании в данном документе.

[0045] Антиген-связывающий фрагмент антитела, как правило, будет содержать по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и будет в общем содержать по меньшей мере одну CDR, которая является смежной с или находится в рамке с одной или более каркасными последовательностями. В антиген-связывающих фрагментах, содержащих домен VH,

связанный с доменом VL, домены VH и VL могут быть расположены друг относительно друга любым пригодным образом. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры VH-VH, VH-VL или VL-VL. Альтернативно, антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен VH или VL.

[0046] В некоторых вариантах осуществления изобретения антиген-связывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые можно обнаружить в антиген-связывающем фрагменте антитела по данному изобретению, включают: (i) VH-CH1; (ii) VH-CH2; (iii) VH-CH3; (iv) VH-CH1-CH2; (v) VH-CH1-CH2-CH3; VH-CH2-CH3; (vii) VH-CL; (viii) VL-CH1; (ix) VL-CH2; (x) VL-CH3; (xi) VL-CH1-CH2; (xii) VL-CH2-CH2-CH3; (xiii) VL-CH2-CH3; и (xiv) VL-CL. В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любые иллюстративные конфигурации, перечисленные выше, переменный и константный домены могут быть или непосредственно связаны друг с другом или могут быть связаны с помощью полной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые приводят к гибкому или полугибкому соединению между соседними переменными и/или константными доменами в единой молекуле полипептида. Кроме того, антиген-связывающий фрагмент антитела по данному изобретению может содержать гомо-димер или гетеро-димер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменного и константного домена, перечисленных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или более мономерными доменами VH или VL (например, с помощью дисульфидной связи(-ей)).

[0047] «Кодирующая последовательность» или «кодирующая нуклеиновая кислота», при использовании в данном документе, означает нуклеиновые кислоты (молекулу РНК или ДНК), которая содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую белок. Кодирующая последовательность может дополнительно включать инициацию и терминацию сигналов, функционально связанных с регуляторными элементами, в том числе промотором и сигналом полиаденилирования, способным к прямой экспрессии в клетках индивида или млекопитающего, которому вводят нуклеиновую кислоту.

[0048] «Комплемент» или «комплементарность», при использовании в данном документе, может означать спаривание оснований по Ватсону-Крику (например, А-Т/У и С-Г) или Хугстину между нуклеотидами или аналогами нуклеотидов молекул нуклеиновых кислот.

[0049] «Консенсус» или «консенсусная последовательность», при использовании в данном документе, означает полипептидную последовательность на основании анализа выравнивания нескольких последовательностей для того же гена от различных организмов. Могут быть получены последовательности нуклеиновых кислот, которые

кодируют консенсусную полипептидную последовательность. Иммуногенные композиции, содержащие белки, которые содержат консенсусные последовательности, и/или молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют такие белки, можно применять для индуцирования крепкого иммунитета против антигена.

[0050] «Электропорация», «электропермеабиллизация» или «электрокинетическое усиление» («ЭП»), при использовании в данном документе взаимозаменяемо, означает использование трансмембранного импульса электрического поля для индуцирования микроскопических путей (пор) в биомембране; их наличие позволяет таким биомолекулам, как плазмиды, олигонуклеотиды, миРНК, лекарственные средства, ионы и вода, переходить с одной стороны клеточной мембраны на другую.

[0051] «Фрагмент», при использовании в данном документе по отношению к последовательностям нуклеиновых кислот, означает последовательность нуклеиновой кислоты или ее часть, которая кодирует полипептид, способный вызывать иммунный ответ у млекопитающего, который перекрестно реагирует с антигеном, раскрытым в данном документе. Фрагменты могут представлять собой фрагменты ДНК, выбранные из по меньшей мере одной из различных нуклеотидных последовательностей, которые кодируют фрагменты белка, представленные ниже. Фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% одной или более последовательностей нуклеиновых кислот, представленных ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагменты могут содержать по меньшей мере 20 нуклеотидов или более, по меньшей мере 30 нуклеотидов или более, по меньшей мере 40 нуклеотидов или более, по меньшей мере 50 нуклеотидов или более, по меньшей мере 60 нуклеотидов или более, по меньшей мере 70 нуклеотидов или более, по меньшей мере 80 нуклеотидов или более, по меньшей мере 90 нуклеотидов или более, по меньшей мере 100 нуклеотидов или более, по меньшей мере 150 нуклеотидов или более, по меньшей мере 200 нуклеотидов или более, по меньшей мере 250 нуклеотидов или более, по меньшей мере 300 нуклеотидов или более, по меньшей мере 350 нуклеотидов или более, по меньшей мере 400 нуклеотидов или более, по меньшей мере 450 нуклеотидов или более, по меньшей мере 500 нуклеотидов или более, по меньшей мере 550 нуклеотидов или более, по меньшей мере 600 нуклеотидов или более, по меньшей мере 650 нуклеотидов или более, по меньшей мере 700 нуклеотидов или более, по меньшей мере 750 нуклеотидов или более, по меньшей мере 800 нуклеотидов или более, по меньшей мере 850 нуклеотидов или более, по меньшей мере 900 нуклеотидов или более, по меньшей мере 950 нуклеотидов или более или по меньшей мере 1000 нуклеотидов или более по меньшей мере одной из последовательностей нуклеиновых кислот, представленных ниже.

[0052] «Фрагмент» или «иммуногенный фрагмент» по отношению к последовательностям полипептидов, означает полипептид, способный вызывать иммунный ответ у млекопитающего, который перекрестно реагирует с антигеном,

раскрытым в данном документе. Фрагмент может представлять собой полипептидные фрагменты, выбранные из по меньшей мере одной из различных аминокислотных последовательностей ниже. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% консенсусного белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 20 аминокислот или более, по меньшей мере 30 аминокислот или более, по меньшей мере 40 аминокислот или более, по меньшей мере 50 аминокислот или более, по меньшей мере 60 аминокислот или более, по меньшей мере 70 аминокислот или более, по меньшей мере 80 аминокислот или более, по меньшей мере 90 аминокислот или более, по меньшей мере 100 аминокислот или более, по меньшей мере 110 аминокислот или более, по меньшей мере 120 аминокислот или более, по меньшей мере 130 аминокислот или более, по меньшей мере 140 аминокислот или более, по меньшей мере 150 аминокислот или более, по меньшей мере 160 аминокислот или более, по меньшей мере 170 аминокислот или более, по меньшей мере 180 аминокислот или более белковой последовательности, раскрытой в данном документе.

[0053] При использовании в данном документе, термин «генетическая конструкция» относится к молекулам ДНК или РНК, которые содержат нуклеотидную последовательность, которая кодирует белок. Кодирующая последовательность включает инициацию и терминацию сигналов, функционально связанных с регуляторными элементами, в том числе промотором и сигналом полиаденилирования, способным к прямой экспрессии в клетках индивида, которому вводят молекулу нуклеиновой кислоты. При использовании в данном документе, термин «экспрессируемая форма» относится к генным конструкциям, которые содержат необходимые регуляторные элементы, функционально связанные с кодирующей последовательностью, которая кодирует белок, так что при наличии в клетке индивида кодирующая последовательность будет экспрессироваться.

[0054] Термин «гомология», при использовании в данном документе, относится к степени комплементарности. Гомология может быть частичной гомологией или полной гомологией (т.е. идентичность). Частично комплементарная последовательность, которая по меньшей мере частично ингибирует полностью комплементарную последовательность от гибридизации с целевой нуклеиновой кислотой, относится к использованию функционального термина «в значительной степени гомологичная». При использовании по отношению к последовательности двухцепочечной нуклеиновой кислоты, такой как кДНК или геномный клон, термин «гомологичный в значительной степени», при использовании в данном документе, относится к зонду, который может гибридизоваться с цепью последовательности двухцепочечной нуклеиновой кислоты в условиях низкой жесткости. При использовании по отношению к последовательности одноцепочечной нуклеиновой кислоты термин «практически гомологичный», при использовании в данном

документе, относится к зонду, который может гибридизоваться с (т.е. комплемент) шаблонной последовательностью одноцепочечной нуклеиновой кислоты в условиях низкой жесткости.

[0055] «Идентичный» или «идентичность», при использовании в данном документе в контексте двух или более нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей, означает, что последовательности обладают указанным процентным содержанием остатков, которые являются одинаковыми на протяжении указанного участка. Процентное содержание может быть рассчитано путем оптимального выравнивания двух последовательностей, сравнения двух последовательностей на протяжении указанного участка, определения количества положений, в которых идентичные остатки встречаются в обеих последовательностях, что дает количество совпадающих положений, деления количества совпадающих положений на общее количество положений в указанной области и умножения результата на 100, что дает процент идентичности последовательности. В случаях, когда две последовательности имеют разные длины, или выравнивание дает один или более сдвинутых концов, а указанная область сравнения включает только одну единственную последовательность, остатки единственной последовательности включены в знаменатель, но не в числитель расчета. При сравнении ДНК и РНК, тимин (Т) и урацил (U) могут считаться эквивалентными. Идентичность можно определить вручную или используя компьютеризированные алгоритмы определения последовательностей, такие как BLAST или BLAST 2.0.

[0056] «Практически комплементарный», при использовании в данном документе, означает, что первая последовательность по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична комплементу второй последовательности на протяжении области из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540 или более нуклеотидов или аминокислот, или что две последовательности гибридизуются в жестких условиях гибридизации.

[0057] «Практически идентичный», при использовании в данном документе, означает, что первая и вторая последовательности по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны на протяжении области из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540 или более нуклеотидов или аминокислот, или по отношению к нуклеиновым кислотам, если первая последовательность является практически комплементарной комплементу второй последовательности.

[0058] Термин «терапевтически эффективное количество» относится к терапевтически эффективному количеству биологической молекулы, соединения или композиции, которое может вызывать терапевтический эффект у субъекта-человека.

Терапевтически эффективное количество представляет собой количество, которое может лечить, ослаблять или предотвращать идентифицированное заболевание или патологическое состояние или демонстрировать обнаружимый терапевтический эффект. Терапевтически эффективное количество представляет собой количество, которое приводит к одному или более из: (a) снижение тяжести или длительности симптома или признака рака, например глиобластомы; (b) ингибирование роста опухоли или усиление некроза опухоли, уменьшение размеров опухоли и/или исчезновение опухоли; (c) задержка роста и развития опухоли; (d) ингибирование метастазирования опухоли; (e) профилактику рецидива роста опухоли; (f) увеличение выживаемости субъекта с раком; и/или (g) снижение применения или необходимости в традиционной противораковой терапии (например, снижение или устранение применения химиотерапевтических или цитотоксических агентов) по сравнению с нелеченными субъектами или субъектами, которым давали противораковую терапию в качестве монотерапии. Точное эффективное количество для субъекта будет зависеть от массы тела, размера и состояния здоровья субъекта; природы и степени патологического состояния; и терапевтического агента, выбранного для введения. Терапевтически эффективные количества для конкретной ситуации можно определить с помощью рутинного эксперимента, что находится в компетенции и выбирается на усмотрение практикующего врача.

[0059] При использовании в данном документе, «терапевтический эффект» представляет собой последствие медицинского лечения любого вида, результаты которого считаются желаемыми и полезными. Это является справедливым, независимо от того, результат был ожидаемым, неожиданным или даже непреднамеренным последствием лечения. Терапевтический эффект также может представлять собой объективно идентифицируемым улучшением, как указано клиницистом или другим квалифицированным наблюдателем.

[0060] «Вариант», используемый в данном документе по отношению к нуклеиновой кислоте, означает (i) часть или фрагмент упоминаемой нуклеотидной последовательности; (ii) комплемент упоминаемой нуклеотидной последовательности или его часть; (iii) нуклеиновую кислоту, которая в значительной степени идентична упоминаемой нуклеиновой кислоте, или ее комплемент; или (iv) нуклеиновую кислоту, которая гибридизуется в жестких условиях с упоминаемой нуклеиновой кислотой, ее комплементом или последовательностями, которые идентичны им в значительной степени. Вариант может представлять собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая в значительной степени идентична на протяжении полной длины полной последовательности гена или его фрагмента. Последовательность нуклеиновой кислоты может быть на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична на протяжении полной длины последовательности гена или его фрагмента.

[0061] «Вариант» по отношению к полипептиду представляет собой тот, который отличается по аминокислотной последовательности за счет вставки, делеции или

консервативной замены аминокислот, но сохраняет по меньшей мере один тип биологической активности упоминаемого полипептида. Вариант также может означать белок с аминокислотной последовательностью, которая в значительной степени идентична упоминаемому белку с аминокислотной последовательностью, которая сохраняет по меньшей мере один тип биологической активности. Вариант может представлять собой аминокислотную последовательность, которая в значительной степени идентична на протяжении полной длины аминокислотной последовательности или ее фрагмента. Аминокислотная последовательность может быть на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична на протяжении полной длины аминокислотной последовательности или ее фрагмента.

[0062] «Вектор», при использовании в данном документе, означает последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую начало репликации. Вектор может представлять собой вирусный вектор, бактериофаг, бактериальную искусственную хромосому или искусственную хромосому дрожжей. Вектор может представлять собой вектор ДНК или РНК. Вектор может представлять собой самореплицирующийся экстрахромосомный вектор, а в одном варианте осуществления изобретения представляет собой экспрессионную плазмиду. Вектор может содержать или включать одну или более гетерологичных последовательностей нуклеиновых кислот.

[0063] «Иммунный ответ», при использовании в данном документе, означает активацию иммунной системы хозяина, например, млекопитающего, в ответ на введение антигена. Иммунный ответ может быть в форме клеточного и гуморального ответа, или как того, так и другого.

[0064] «Нуклеиновая кислота», или «олигонуклеотид», или «полинуклеотид», при использовании в данном документе, означает по меньшей мере два нуклеотида, функционально связанные вместе. Изображение одинарной связи также определяет последовательность комплементарной нити. Таким образом, нуклеиновая кислота также охватывает комплементарную нить изображенной одиночной нити. Многие варианты нуклеиновой кислоты можно использовать с той же целью, что и данную нуклеиновую кислоту. Таким образом, нуклеиновая кислота также охватывает практически идентичные нуклеиновые кислоты и их комплементы. Одиночная нить обеспечивает зонд, который может гибридизоваться с целевой последовательностью в условиях жесткой гибридизации. Таким образом, нуклеиновая кислота охватывает зонд, который гибридизуется в жестких условиях гибридизации.

[0065] Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными или могут содержать участки как двухцепочечных, так и одноцепочечных последовательностей. Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК, как геномную, так и кДНК, РНК, или гибрид, при этом нуклеиновая кислота может содержать комбинации дезоксирибо- и рибонуклеотидов, и комбинации оснований, включая урацил, аденин, тимин, цитозин, гуанин, инозин, ксантин, гипоксантин, изоцитозин и изогуанин.

Нуклеиновые кислоты могут быть получены путем способов химического синтеза или с помощью рекомбинантных способов.

[0066] «Функционально связанный», при использовании в данном документе, означает, что экспрессия гена находится под контролем промотора, с которым он пространственно соединен. Промотор может быть расположен в направлении 5' (против хода транскрипции) или 3' (по ходу транскрипции) гена, который находится под контролем. Расстояние между промотором и геном приблизительно может быть таким же, как и расстояние между этим промотором и геном, который он контролирует, в гене, из которого промотор был получен. Как известно в данной области техники, изменения расстояния могут происходить без потери функции промотора.

[0067] «Пептид», «белок» или «полипептид», при использовании в данном документе, могут обозначать соединенную последовательность аминокислот и могут быть природными, синтетическими или модификацией или комбинацией природных и синтетических.

[0068] «Промотор», при использовании в данном документе, означает синтетическую или природную молекулу, которая способна придавать, активировать или усиливать экспрессию нуклеиновой кислоты в клетке. Промотор может содержать один или более специфических транскрипционных регуляторных последовательностей для дополнительного усиления экспрессии и/или изменения пространственной экспрессии того же. Промотор также может содержать дистальный энхансерный или репрессорный элемент, который может быть отдален на несколько тысяч пар оснований от стартового сайта транскрипции. Промотор может быть получен из различных источников, включая вирусы, бактерии, грибы, растения, насекомые и животные. Промотор может регулировать экспрессию генного компонента конститутивно или дифференциально по отношению к клетке, ткани или органу, в которых проходит экспрессия, или по отношению к стадии развития, в которую происходит экспрессия, или в ответ на внешний стимул, такой как физиологический стресс, патогены, ионы металлов или индуцирующие агенты.

Иллюстративные примеры промоторов включают промотор бактериофаг T7, промотор бактериофаг T3, промотор SP6, оператор-промотор lac, промотор tac, поздний промотор SV40, ранний промотор SV40, промотор RSV-LTR, промотор CMV IE, ранний промотор SV40 или поздний промотор SV40 и промотор CMV IE.

[0069] «Сигнальный пептид» и «лидерная последовательность» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к аминокислотным последовательностям, которые могут быть связаны с аминоконцом белка, представленного в данном документе. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности, как правило, направляют локализацию белка. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности, используемые в данном изобретении, могут усиливать секрецию белка из клетки, в которой он произведен. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности часто отщепляются от оставшейся части белка, часто именуемого зрелым белком, при секреции из клетки.

Сигнальные пептиды/лидерные последовательности связаны с аминоконцом (т.е. N-концом) белка.

[0070] При использовании в данном документе, выражение «субъект, нуждающийся в этом» означает человека или другое млекопитающее, которое демонстрирует один или более симптомов или признаков рака мозга, и/или у которого был диагностирован рак мозга, включая, например, глиобластому, и которому необходимо лечение. Во многих вариантах осуществления изобретения термин «субъект» может использоваться взаимозаменяемо с термином «пациент». Например, у субъекта-человека может быть диагностирована первичная или метастатическая опухоль и/или один или более симптомов или признаков, включая, но не ограничиваясь этим, необъяснимую потерю массы, общую слабость, постоянную усталость, потерю аппетита, лихорадку, ночную потливость, боль в костях, затрудненность дыхания, вздутие живота, боль/давление в груди, увеличение селезенки и увеличение уровня биомаркера, связанного с раком (например, CA125). Выражение включает субъектов с первичной или установившейся опухолью. Термин включает субъектов с первичными или метастатическими опухолями (злокачественные новообразования в прогрессирующей стадии). Например, экспрессия включает субъектов, у которых заболевание было диагностировано впервые. В некоторых вариантах осуществления изобретения выражение включает субъектов, для которых лечение в соответствии с раскрытыми способами, представляет собой первоначальное лечение (например, лечение «первой линии», при этом пациент не получал предыдущее системное лечение рака). В некоторых вариантах осуществления изобретения выражение включает субъектов, для которых лечение в соответствии с раскрытыми способами представляет собой лечение «второй линии», при этом пациента ранее лечили «стандартным способом лечения», включая, но не ограничиваясь этим, химиотерапию, хирургическое вмешательство и лучевую терапию.

[0071] При использовании в данном документе, термин «лечение», «лечащий» или тому подобное означает ослаблять симптомы, устранять причину симптомов или временно, или постоянно, задерживать или ингибировать рост опухоли, снижать количество опухолевых клеток или опухолевую нагрузку, стимулировать регрессию опухоли, вызывать уменьшение размера, некроз и/или исчезновение опухоли, предотвращать повторное развитие опухоли, предотвращать или ингибировать метастазирование, ингибировать метастатический рост опухоли и/или увеличивать длительность выживания субъекта.

[0072] При использовании в данном документе, фраза «в комбинации с» означает, что раковые антигены hTERT, PSMA и WT-1 вводят субъекту одновременно, непосредственно до или непосредственно после введения адъюванта, ингибитора конечной точки рецептора программируемой смерти-1 (PD-1), лучевой терапии и/или химиотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления изобретения раковые антигены вводят в виде совместного состава с адъювантом.

[0073] При использовании в данном документе, если не указано иное, термин

«клинически доказанный» (используется взаимозаменяемо или для модификации терминов «безопасный» и/или «эффективный») будет означать, что это доказано с помощью клинического исследования, при этом клиническое исследование отвечает стандартам Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США, ЕМА или соответствующих национальных регуляторных органов. Например, доказательство может быть предоставлено клиническим исследованием, описанным в примере, представленном в данном документе.

[0074] Термин «клинически доказанный безопасным», если это относится к дозе, режиму введения, лечению или способу с раковыми антигенами hTERT, PSMA, WT1 (например, вводимые как INO-5401 или его биоаналог или биоэквивалент) в комбинации с адъювантом, таким как ИЛ-12 (например, вводимый как INO-9012 или его биоаналог или биоэквивалент), и ингибитором контрольной точки рецептором программируемой смерти-1 (PD-1), таким как антитело к PD-1 (например, антитело к PD-1 REGN2810 или его биоаналог или биоэквивалент), относится к благоприятному отношению риск:польза с приемлемой частотой и/или приемлемой тяжестью возникших во время лечения нежелательных явлений (именуются как АЕ или TEAE) по сравнению со стандартом лечения или другим сравнительным способом лечения. Побочное явление представляет собой неблагоприятное медицинское явление у пациента, которому ввели медицинский продукт. Один индекс безопасности представляет собой частоту возникновения побочных явлений (АЕ) в соответствии с Национальным институтом рака (NCI), дифференцированных в соответствии с Общими критериями токсичности для побочных явлений СТСАЕ версии 4.03.

[0075] Термины «клинически доказанная эффективность» и «клинически доказанный эффективным», при использовании в данном документе в контексте дозы, режима дозирования, лечения или способа относится к эффективности конкретной дозы, дозировки или режима лечения. Эффективность можно измерить на основании изменения хода заболевания в ответ на агент по данному изобретению. Например, комбинация раковых антигенов hTERT, PSMA, WT1 и адъюванта (например, INO-5401 или его биоаналога или биоэквивалента в комбинации с INO-9012 или его биоаналогом или биоэквивалентом) с ингибитором контрольной точки PD-1, таким как антитело к PD-1, (например, антитело к PD-1 цемиплимаб или его биоаналог или биоэквивалент) вводят пациенту в количестве и в течение периода, достаточного для индуцирования улучшения, предпочтительно длительного улучшения, по меньшей мере одного показателя, который отражает тяжесть расстройства, которое подвергают лечению. Различные показатели, которые отражают степень недомогания, заболевания или патологического состояния субъекта можно оценить для определения того, достаточным ли является объем и время лечения. Такие показатели включают, например, клинически узнаваемые показатели тяжести, симптомов или проявлений обсуждаемого расстройства. Степень улучшения, как правило, определяется врачом, который может осуществить такое определение на основании признаков, симптомов, биопсии или других результатов тестирований, и

который также может применять опросники, которые дают субъекту, такие как опросники качества жизни, разработанные для конкретного заболевания. Например, комбинация раковых антигенов hTERT, PSMA, WT1 и адъюванта (например, INO-5401 или его биоаналога или биоэквивалента в комбинации с INO-9012 или его биоаналогом или биоэквивалентом) с антителом к PD-1 (например, антителом к PD-1 цемиплимабом или его биоаналогом или биоэквивалентом) можно вводить для достижения улучшения патологического состояния пациента, связанного с раком мозга, таким как глиобластома (GBM). Улучшения могут быть обозначены как улучшения индекса активности заболевания путем ослабления клинических симптомов или путем какого-либо другого измерения активности заболевания.

[0076] При использовании в данном документе «INO-5401» относится к иммунологической композиции трех плазмидных ДНК: плазмидной ДНК, содержащей вставку, кодирующую hTERT, функционально контролируемую промотором, плазмидной ДНК, содержащей вставку, кодирующую WT1, функционально контролируемую промотором, и плазмидную ДНК, содержащую вставку, кодируемую PSMA, функционально контролируемую промотором.

[0077] При использовании в данном документе, термин «лучевая терапия», также называемая «XRT», означает применение ионизирующего излучения для уничтожения раковых клеток, как правило как часть противораковой терапии. Для получения ионизирующего излучения используют рентгеновские лучи, гамма-лучи или заряженные частицы (например, протоны или электроны).

[0078] Лучевую терапию можно осуществлять с помощью устройства, помещенного вне организма пациента (наружная дистанционная лучевая терапия) или с помощью источника, помещенного внутри организма пациента (терапия внутренним облучением или брахитерапия) или посредством системных радиоизотопов, доставляемых внутривенно или перорально (терапия системными радиоизотопами). Лучевую терапию можно планировать и вводить в сочетании с техниками на основе получения изображений, такими как компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), для точного определения дозы и места применения облучения. В различных вариантах осуществления изобретения лучевая терапия выбрана из группы, состоящей из общей лучевой терапией всего тела, традиционной наружной дистанционной лучевой терапии, стереотактической радиохирургии, стереотактической лучевой терапии организма, 3-D конформационной лучевой терапии, лучевой терапии, модулированной по интенсивности, лучевой терапии с визуальным контролем, томотерапии, брахитерапии и системной лучевой терапии. В зависимости от предназначения в некоторых вариантах осуществления изобретения лучевая терапия является лечебной, вспомогательной или паллиативной. В конкретных вариантах осуществления изобретения термин «лучевая терапия» относится к гипофракционированной лучевой терапии.

Гипофракционированная лучевая терапия относится к схеме лучевой терапии, в

которой общая доза облучения разделена на большие дозы, и лечение применяют раз в сутки или реже.

Гипофракционированная лучевая терапия может обеспечивать большее количество лучевой терапии на дозу за меньшее количество доз, чем в стандартной лучевой терапии. В различных вариантах осуществления изобретения каждая фракция содержит 2-20 Грей. Например, доза облучения 50 Грей может быть разделена на 10 фракций, каждая содержит 5 Грей. В некоторых вариантах осуществления изобретения 2 или более фракций вводят несколько дней последовательно или подряд. В некоторых вариантах осуществления изобретения 2 или более фракции вводят один раз в 2 дня, один раз в 3 дня, один раз в 4 дня, один раз в 5 дней, один раз в 6 дней, один раз в 7 дней или в виде их комбинации.

[0079] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления в данном изобретении представлены способы лечения рака, такого как рак мозга (например, глиобластомы) у субъекта. Раскрытые способы включают введение субъекту иммуногенной композиции раковых антигенов обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), опухоли Вильмса-1 (WT-1) и простатаспецифического мембранного антигена (PSMA); адъюванта; и антитела к рецептору программируемой смерти клеток 1 (PD-1) или его антиген-связывающего фрагмента.

[0080] В данном изобретении раскрыты оптимизированные консенсусные последовательности раковых антигенов hTERT, WT- 1 и PSMA. В одном варианте осуществления изобретения антиген, кодируемый оптимизированной консенсусной последовательностью, способен вызывать иммунный ответ у млекопитающего. В одном варианте осуществления изобретения антиген, кодируемый оптимизированной консенсусной последовательностью, может содержать эпитоп(-ы), которые делают ее особенно эффективной в качестве иммуногена, против которого иммунный ответ может быть вызван.

[0081] В одном варианте осуществления изобретения представлен оптимизированный консенсусный PSMA, разработанный для нарушения толерантности к природному PSMA человека. В одном варианте осуществления изобретения человеческая оптимизированная консенсусная последовательность, кодирующая PSMA, является такой, как представлена в SEQ ID №: 11, SEQ ID №: 12, SEQ ID №: 21, SEQ ID №: 28. В одном варианте осуществления изобретения человеческий оптимизированный антиген, кодируемый PSMA, имеет такую аминокислотную последовательность, как представлена в SEQ ID №: 13, SEQ ID №: 14, SEQ ID №: 28.

[0082] В одном варианте осуществления изобретения оптимизированный консенсусный WT-1 разработан для нарушения толерантности к природному WT-1 человека. В одном варианте осуществления изобретения человеческая оптимизированная последовательность, кодирующая WT-1, является такой, как представлена в SEQ ID №: 15 или SEQ ID №: 27. В одном варианте осуществления изобретения человеческий оптимизированный антиген, кодируемый WT-1, имеет такую аминокислотную последовательность, как представлена в SEQ ID №: 16 или SEQ ID №: 26.

[0083] В одном варианте осуществления изобретения оптимизированный консенсусный TERT разработан для нарушения толерантности к природному TERT человека. В одном варианте осуществления изобретения человеческая оптимизированная последовательность, кодирующая TERT, является такой, как представлена в SEQ ID №: 17 или SEQ ID №: 19. В одном варианте осуществления изобретения человеческий оптимизированный антиген, кодируемый TERT, имеет такую аминокислотную последовательность, как представлена в SEQ ID №: 18 и SEQ ID №: 20.

[0084] Раскрытые вакцины могут дополнительно содержать адъювант. В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытые способы лечения дополнительно включают введение субъекту адъюванта. В некоторых вариантах осуществления изобретения адъювант представляет собой ИЛ12. ИЛ12 может быть включен в вакцину в форме его субъединиц p35 и p40. Адъювант ИЛ 12 может быть введен субъекту в виде субъединиц p35 и p40. Субъединицы p35 и p40 ИЛ12 могут быть закодированы одним и тем же экспрессионным вектором или отдельными экспрессионными векторами. В одном варианте осуществления изобретения последовательность, кодирующая p35 ИЛ12, является такой, как представлена в SEQ ID №: 22. В одном варианте осуществления изобретения субъединица p35 ИЛ12 имеет такую аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID №: 23. В одном варианте осуществления изобретения последовательность, кодирующая p40 ИЛ12, представлена в SEQ ID №: 24. В одном варианте осуществления изобретения субъединица p40 ИЛ12 имеет такую аминокислотную последовательность, как представлена в SEQ ID №: 25.

[0085] Раковые антигены TERT, WT-1, PSMA и/или адъювант могут быть представлены в вакцине или введены субъекту в виде полипептида, его фрагмента, его варианта, последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, ее фрагмента или варианта, или любой их комбинации. Раковый антиген может быть в любой форме, которая вызывает иммунный ответ у субъекта. Последовательность нуклеиновой кислоты может представлять собой ДНК, РНК, кДНК, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Последовательность нуклеиновой кислоты также включает дополнительные последовательности, которые кодируют последовательности линкеров или тегов, которые связаны с антигеном пептидной связью. Аминокислотная последовательность может представлять собой белок, пептид, их вариант, их фрагмент или их комбинацию.

[0086] Раковые антигены TERT, WT-1, PSMA и/или адъювант могут быть включены в вакцину или введены субъекту в виде полипептида, его фрагмента, его варианта, последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, ее фрагмента или варианта, или любой их комбинации. Раковый антиген может быть в любой форме, которая вызывает иммунный ответ у субъекта. Последовательность нуклеиновой кислоты может представлять собой ДНК, РНК, кДНК, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Последовательность нуклеиновой кислоты также включает

дополнительные последовательности, которые кодируют последовательности линкеров или тегов, которые связаны с антигеном пептидной связью. Аминокислотная последовательность может представлять собой белок, пептид, их вариант, их фрагмент или их комбинацию.

[0087] Раковые антигены TERT, WT-1, PSMA и/или ИЛ-12 могут быть включены в вакцину или введены в виде одной или более молекул нуклеиновых кислот, например, но не ограничиваясь этим, экспрессионного вектора(-ов). Экспрессионный вектор может представлять собой кольцевую плазмиду или линейную нуклеиновую кислоту. Экспрессионный вектор способен направлять экспрессию конкретной нуклеотидной последовательности в подходящие клетки субъекта. Экспрессионный вектор может содержать промотор, функционально связанный с нуклеотидной последовательностью, кодирующей антиген, которая может быть функционально связана с сигналами терминации. Экспрессионный вектор может также содержать последовательности, необходимые для надлежащей трансляции нуклеотидной последовательности. Экспрессионный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, представляющую интерес, может быть химерным, что означает, что по меньшей мере один из его компонентов является гетерологичным по отношению к по меньшей мере одному из его других компонентов. Экспрессия нуклеотидной последовательности в экспрессионной кассете может находиться под контролем конститутивного промотора, который инициирует транскрипцию только когда клетка-хозяин подвергается некоторому конкретному внешнему стимулу. В случае многоклеточного организма промотор также может быть специфичным к конкретной ткани или органу или стадии развития.

[0088] В одном варианте осуществления изобретения нуклеиновая кислота представляет собой молекулу РНК. Соответственно, в одном варианте осуществления в изобретении предложена молекула РНК, кодирующая один или более полипептидов, представляющих интерес. РНК могут содержать плюс-цепь. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления изобретения молекула РНК может быть транслирована клетками без необходимости в каких-либо промежуточных стадиях репликации, таких как обратная транскрипция. Молекула РНК, пригодная для изобретения, может иметь 5'-кэп (например, 7-метилгуанозин). Этот кэп может усиливать *in vivo* трансляцию РНК. 5'-Нуклеотид молекулы РНК, пригодной для изобретения, может содержать 5'-трифосфатную группу. В кэпированной РНК она может быть связана с 7-метилгуанозином посредством 5'-5'-мостика. Молекула РНК может содержать 3'-поли-А хвост. Она может также содержать поли-А полимеразную последовательность распознавания (например, AAUAAA) возле ее 3'-конца. Молекула РНК, пригодная для изобретения, может быть одноцепочечной. В некоторых вариантах осуществления изобретения молекула РНК представляет собой молекулу РНК саму по себе. В одном варианте осуществления изобретения молекула РНК включена в состав вектора.

[0089] В одном варианте осуществления изобретения РНК содержит 5'- и 3'-НТО. В одном варианте осуществления изобретения 5'-НТО имеет от нуля до 3000 нуклеотидов в

длину. Длину последовательностей 5'- и 3'-НТО, добавляемых к кодирующей области, можно изменять различными способами, в том числе, но не ограничиваясь этим, разработкой праймеров для ПЦР, которые присоединяются в различных областях НТО. С использованием этого подхода специалист в данной области техники может модифицировать длину 5'- и 3'-НТО, необходимую для достижения оптимальной эффективности трансляции после трансфекции транскрибируемой РНК.

[0090] 5'- и 3'-НТО могут быть природными, эндогенными 5'- и 3'-НТО для гена, представляющего интерес. Альтернативно, последовательности НТО, которые не являются эндогенными для гена, представляющего интерес, могут быть добавлены путем включения последовательностей НТО в прямой и обратный праймеры или путем любых других модификаций темплата. Применение последовательностей НТО, которые не являются эндогенными гену, представляющему интерес, могут быть пригодными для изменения стабильности и/или эффективности трансляции РНК. Например, известно, что элементы, богатые AU, в последовательностях 3'-НТО, могут снижать стабильность РНК. Следовательно, 3'-НТО могут быть выбраны или разработаны так, что увеличивается стабильность транскрибируемой РНК на основании свойств НТО, которые хорошо известны в данной области техники.

[0091] В одном варианте осуществления изобретения 5' НТО может содержать последовательность Козака эндогенного гена. Альтернативно, когда 5'-НТО, которая не является эндогенной гену, представляющему интерес, добавляют с помощью ПЦР, как описано выше, консенсусная последовательность Козака может быть перестроена путем добавления последовательности 5'-НТО. Последовательности Козака могут повышать эффективность трансляции некоторых транскриптов РНК, но, по-видимому, не являются необходимыми, чтобы все РНК могли эффективно транслироваться. Требования для последовательностей Козака для многих РНК известны в данной области техники. В других вариантах осуществления изобретения 5'-НТО может быть получена из вируса РНК, геном РНК которого является стабильным в клетках. В других вариантах осуществления изобретения различные аналоги нуклеотидов могут быть использованы в 3'- или 5'-НТО, чтобы препятствовать экзонуклеазной деградации РНК.

[0092] В одном варианте осуществления изобретения РНК имеет как кеп на 5'-конце, так и 3'-поли(А) хвост, который определяет связывание с рибосомами, инициацию трансляции и стабильность РНК в клетке.

[0093] В одном варианте осуществления изобретения РНК представляет собой модифицированную нуклеозидом РНК. Модифицированная нуклеозидами РНК имеет конкретные преимущества по сравнению с немодифицированной РНК, включая, например, повышенную стабильность, низкую или отсутствие врожденной иммуногенности и усиленную трансляцию.

[0094] Экспрессионный вектор может представлять собой плазмиду в кровотоке, которая может трансформировать клетку-мишень путем интеграции в клеточный геном или существовать экстрахромосомно (например, автономная реплицирующая плазида с

началом репликации). Вектор может представлять собой pVAX, pcDNA3.0 или провакс или любой другой экспрессионный вектор, способный экспрессировать ДНК, кодирующую антиген и придающую клетке возможность транслировать последовательность в антиген, который распознается иммунной системой.

[0095] Также в данном документе представлена иммуногенная композиция на основе линейной нуклеиновой кислоты или линейная экспрессионная кассета («LEC»), которая способна быть эффективно доставленной субъекту посредством электропорации и экспрессировать один или более желаемых антигенов. LEC может представлять собой любую линейную ДНК, лишенную любого фосфатного остова. ДНК может кодировать один или более антигенов. LEC может содержать промотор, интрон, стоп-кодон и/или сигнал полиаденилирования. Экспрессия антигена может контролироваться промотором. LEC может не содержать каких-либо генов устойчивости к антибиотикам и/или фосфатного остова. LEC может не содержать других нуклеотидных последовательностей, не связанных с экспрессией гена желаемого антигена. LEC может быть получен из любой плазмиды, способной к линеаризации. Плазида может быть способна экспрессировать антиген. Плазида может представлять собой pNP (Пуэрто-Рико/34) или pM2 (Новая Каледония/99). Плазида может представлять собой WLV009, pVAX, pcDNA3.0 или провакс или любой другой экспрессионный вектор, способный экспрессировать ДНК, кодирующую антиген и придающую клетке возможность транслировать последовательность в антиген, который распознается иммунной системой. LEC может представлять собой pcrM2. LEC может представлять собой pcrNP. pcrNP и pcrMR могут быть получены из pNP (Пуэрто-Рико/34) или pM2 (Новая Каледония/99), соответственно.

[0096] Вектор может содержать гетерологичную нуклеиновую кислоту, кодирующую описанные выше антигены, и может дополнительно содержать иницирующий кодон, который может быть расположен против хода транскрипции относительно одной или более последовательностей, кодирующих раковые антигены, и стоп-кодон, который может быть расположен по ходу транскрипции относительно кодирующей последовательности(-ей) описанных выше антигенов.

[0097] Вектор может иметь промотор. Промотор может представлять собой промотор, который способен запускать экспрессию гена и регулировать экспрессию выделенной нуклеиновой кислоты. Такой промотор представляет собой действующий в цис-положении элемент последовательности, необходимый для транскрипции посредством ДНК-зависимой полимеразы, которая транскрибирует антигенную последовательность, описанную в данном документе. Выбор промотора, используемого для прямой экспрессии гетерологичной нуклеиновой кислоты, зависит от конкретного применения. Промотор может быть расположен на том же расстоянии от начала транскрипции в векторе, на котором он расположен от сайта начала транскрипции в природных условиях. Однако, изменение этой длины может быть осуществлено без потери функции промотора.

[0098] Иницирующий и терминирующий кодон может быть в рамке с

кодирующей последовательностью(-ями) вышеописанных антигенов. Вектор также может содержать промотор, который функционально связан с кодирующей последовательностью(-ями) вышеописанных антигенов. Промотор, функционально связанный с кодирующей последовательностью(-ями) вышеописанных антигенов, может представлять собой промотор от вируса обезьян 40 (SV40), промотор вируса опухоли молочной железы мышей (MMTV), промотор вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), такой как промотор с длинным концевым повтором (LTR) бычьего вируса иммунодефицита (BIV), промотор вируса Молони, промотор вирус лейкоза птиц (ALV), промотор цитомегаловируса (CMV), такой немедленно-ранний промотор CMV, промотор вируса Эпштейна-Барра (EBV) или промотор вируса саркомы Рауса (RSV). Промотор может также представлять собой промотор гена человека, такого как актин человека, миозин человека, гемоглобин человека, креатинин мышц человека или металлотионеин человека. Промотор может также представлять собой тканеспецифичный промотор, такой как промотор, специфичный к мышечной ткани или коже, природный или синтетический. Примеры таких промоторов описаны в публикации патентной заявки США № US20040175727, содержание которой включено в данный документ в полном объеме.

[0099] Вектор также может содержать сигнал полиаденилирования, который может быть расположен по ходу транскрипции кодирующей последовательности(-ей) вышеописанных антигенов и/или антител. Сигнал полиаденилирования может представлять собой сигнал полиаденилирования SV40, сигнал полиаденилирования LTR, сигнал полиаденилирования гормона роста крупного рогатого скота (bGH), сигнал полиаденилирования гормона роста человека (hGH) или сигнал полиаденилирования β -глобина человека. Сигнал полиаденилирования SV40 может представлять собой сигнал полиаденилирования от вектора pCER4 (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния).

[0100] Вектор может также содержать энхансер, расположенный против хода транскрипции в вышеописанных антигенах.

[0101] Энхансер может быть необходим для экспрессии. Энхансер может представлять собой актин человека, миозин человека, гемоглобин человека, креатинин мышц человека или вирусный энхансер, такой как от CMV, HA, RSV или EBV.

[0102] Вектор может содержать энхансер и интрон с функциональными донорными или акцепторными сайтами сплайсированного фрагмента. Вектор может содержать область терминации транскрипции, расположенный против хода транскрипции структурного гена, чтобы обеспечить эффективную терминацию. Область терминации может быть получена из того же гена, что и последовательность промотора, или может быть получена из других генов.

[0103] Раскрытые способы могут включать введение нескольких копий одной молекулы нуклеиновой кислоты, такой как плазида, или нескольких копий двух или более различных молекул нуклеиновых кислот, таких как две или более различных плазмид. Например, способы могут включать введение двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти или более различных молекул нуклеиновых кислот.

[0104] Молекулы нуклеиновых кислот, используемые в соответствии с раскрытыми способами, такие как плазмиды, могут вместе содержать кодирующую последовательность для одного антигена или нескольких антигенов. В качестве примера, в одном варианте осуществления изобретения антигены представляют собой несколько антигенов, выбранных из TERT и одного или более дополнительных раковых антигенов. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения антигены представляют собой TERT и WT-1. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения антигены представляют собой TERT и PSMA. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения антигены представляют собой PSMA и один или более дополнительных раковых антигенов. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения антигены представляют собой PSMA и WT-1. В другом иллюстративном варианте осуществления изобретения антигены представляют собой TERT, WT-1 и PSMA.

[0105] Вектор может дополнительно содержать элементы или реагенты, которые препятствуют его встраиванию в хромосому. Вектор может содержать точку начала репликации млекопитающего для того, чтобы поддерживать вектор экстрахромосомно и продуцировать несколько копий вектора в клетке. Вектор может представлять собой pVAX1, pCER4 или pREP4 производства Invitrogen (Сан-Диего, Калифорния), который может содержать точку начала репликации вируса Эпштейна-Барра и кодирующую область ядерного антигена EBNA-1, которая может продуцировать многокопийную эписомальную репликацию без интеграции. Вектор может представлять собой вариант pVAX1 или pVax1 с такими изменениями, как вариант плазмиды, описанный в данном документе. Вариант плазмиды pVax1 представляет собой вариант основной векторной плазмиды из 2998 пар оснований pVAX1 (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния). Промотор CMV расположен в положениях оснований 137-724. Промотор/сайт прайминга T7 расположен в положениях оснований 664-683. Несколько сайтов клонирования расположены в положениях оснований 696-811.

[0106] Сигнал полиаденилирования бычьего GH расположен в положениях оснований 829-1053. Ген устойчивости к канамицину расположен в положениях оснований 1226-2020. Начало pUC расположено в положениях оснований 2320-2993.

[0107] На основании последовательности pVAX1, доступной в Invitrogen, были установлены следующие мутации в последовательности pVAX1, которые использовали как остов для плазмид 1-6, представленных в данном документе:

C>G241 в промоторе CMV

C>T 1942 остов, против хода транскрипции в сигнале полиаденилирования бычьего гормона роста (bGHpolyA)

A> - 2876 остов, против хода транскрипции в гене канамицина

C>T 3277 в мутации многокопийного количества точки начала репликации (Ori) pUC (см. Nucleic Acid Research 1985)

G>C 3753 в самом конце Ori pUC против хода транскрипции относительно сайта RNaseH

Пары оснований 2, 3 и 4 изменяются с АСТ на СТГ в остове против хода транскрипции промотора CMV. Остов вектора может представлять собой pAV0242. Вектор может представлять собой вектор аденовируса типа 5 (Ad5) с дефективной репликацией.

[0108] Вектор может также содержать регулируемую последовательность, которая может хорошо подходить для экспрессии гена в клетке млекопитающего или человека, в которую вводят вектор. Одна или более последовательностей раковых антигенов, раскрытых в данном документе, могут содержать кодон, который может позволить более эффективную транскрипцию кодирующей последовательности в клетке-хозяине.

[0109] Вектор может представлять собой pSE420 (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния), который можно использовать для продуцирования белков в *Escherichia coli* (*E. coli*). Вектор также может представлять собой pYES2 (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния), который можно использовать для продуцирования белков в штаммах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Вектор может представлять полную бакуловирусную экспрессионную систему MAXBAC™ (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния), которую можно использовать для продуцирования белка в клетках насекомых. Вектор также может представлять собой рсДНК I или рсДНК 3 (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния), которые можно использовать для продуцирования белка в клетках млекопитающих, таких как клетки яичника китайского хомячка (CHO). Вектор может представлять собой экспрессионные векторы или системы для продуцирования белка с помощью традиционных способов и легко доступных исходных материалов, в том числе Sambrook et al., *Molecular Cloning and Laboratory Manual*, Second Ed., Cold Spring Harbor (1989), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[0110] Иллюстративные плазмидные ДНК, кодирующие раковые антигены hTERT, WT-1 и/или PSMA, раскрыты в заявке США № 62/899543, поданной 12 сентября 2019 г., полное содержание которой раскрыто в данном документе посредством ссылки.

[0111] В соответствии с раскрытыми способами субъекту можно вводить от около 5 нанограмм до около 20 мг молекул(-ы) нуклеиновой кислоты, кодирующих антиген или антигены. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту можно вводить от около 5 мг до около 15 мг молекул(-ы) нуклеиновой кислоты, кодирующих антиген или антигены. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту можно вводить от около 9 мг до около 11 мг молекул(-ы) нуклеиновой кислоты, кодирующих антиген или антигены. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту можно вводить около 10 мг молекул(-ы) нуклеиновой кислоты, кодирующих антиген или антигены.

[0112] Плазмидные ДНК можно доставлять различными путями. Типичные пути доставки включают парентеральное введение, например внутрикожную, внутримышечную или подкожную доставку. Другие пути включают пероральное введение, внутриназальный и внутривагинальный пути. Для ДНК в частности вакцины, вакцина может быть доставлена в интерстициальное пространство тканей индивида (Felgner et al., патенты США 5580859 и 5703055, содержание которых включены в данный

документ посредством ссылки в полном объеме). Плазмидные ДНК также могут быть введены в мышцу или могут быть введены путем внутрикожной или подкожной инъекций, или трансдермально, например с помощью ионофореза. Также можно осуществлять эпидермальное введение плазмидных ДНК. Эпидермальное введение может включать механическое или химическое раздражение внешнего слоя эпидермиса для стимуляции иммунного ответа на раздражитель (Carson et al., патент США № 5679647, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки).

[0113] Плазмидные ДНК могут представлять собой жидкие препараты, такие как суспензия, сироп или настой. Вакцина также может представлять собой препарат для парентерального, подкожного, внутрикожного, внутримышечного или внутривенного введения (например, введения путем инъекции), например, стерильной суспензии или эмульсии.

[0114] Плазмидные ДНК могут быть включены в липосомы, микросферы или другие полимерные матрицы (Felgner et al., патент США № 5703055; Gregoriadis, *Liposome Technology*, Vols. I to III (2nd ed. 1993), содержание которых включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Липосомы могут состоять из фосфолипидов или других липидов и могут быть нетоксичными, физиологически приемлемыми и метаболизируемыми носителями, которые являются относительно простыми для получения и введения.

[0115] Плазмидные ДНК могут быть введены посредством электропорации, например, с помощью способа, описанного в патенте США № 7664545, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки. Электропорацию можно осуществлять с помощью способа и/или устройства, описанного в патентах США № 6302874; 5676646; 6241701; 6233482; 6216034; 6208893; 6192270; 6181964; 6150148; 6120493; 6096020; 6068650; и 5702359, содержание которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Электропорацию можно осуществлять наименее инвазивным устройством.

[0116] Наименее инвазивное устройство для электропорации («MID») может представлять собой устройство для инъектирования вакцины, описанной выше, и связанной жидкости в ткани организма. Устройство может содержать полую иглу, кассету ДНК и устройство доставки жидкости, при этом устройство приспособлено для приведения устройства для доставки жидкости в действие, чтобы согласованно (например, автоматически) инъектировать ДНК в ткани организма во время введения иглы в указанную ткань организма. В этом случае имеется преимущество, которое заключается в способности инъектировать ДНК и связанную жидкость постепенно, при этом введенная игла приводит к более равномерному распределению жидкости через ткани организма. Боль, ощущаемая во время инъектирования, может быть снижена вследствие распределения инъектируемой ДНК по большей площади.

[0117] MID может инъектировать плазмиду(-ы) ДНК в ткань без применения иглы.

MID может инъектировать вакцину в виде небольшого потока или струи с такой

силой, что вакцина пронзает поверхность ткани и поступает в нижележащую ткань и/или мышцу. Сила для небольшого потока или струи может быть обеспечена расширением сжатого газа, такого как диоксид углерода, через микроотверстие в пределах фракции второго. Примеры минимально инвазивных устройств электропорации и способов их применения описаны в опубликованной патентной заявке США № 20080234655; патентах США № 6520950; 7171264; 6208893; 6009347; 6120493; 7245963; 7328064; и 6763264, содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0118] MID может содержать инжектор, который создает высокоскоростную струю жидкости, которая безболезненно пронизывает ткань. Такие инжекторы без иглы являются коммерчески доступными. Примеры таких инжекторов без иглы, которые можно использовать в данном документе, включают те, которые описаны в патентах США № 3805783; 4447223; 5505697; и 4342310, содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0119] Желаемую вакцину в форме, пригодной для прямого или непрямого электротранспорта, можно вводить (например, инъектировать) с использованием инжектора без иглы в ткань, подвергаемую обработке, обычно путем приведения в контакт поверхности ткани с инжектором, чтобы осуществить доставку струи агента, с достаточной силой, чтобы вызвать проникновение вакцины в ткань. Например, если ткань, подлежащая лечению, представляет собой слизистую, кожу или мышцу, агент перемещают по направлению к поверхности слизистой или кожи с достаточной силой, чтобы агент мог проникнуть через роговой слой и в дермальные слои или в расположенную ниже ткань и мышцу, соответственно.

[0120] Инжекторы без иглы хорошо подходят для доставки плазмидных ДНК во все типы тканей, особенно в кожу или слизистую. В некоторых вариантах осуществления изобретения инжектор без иглы можно использовать, чтобы привести в движение жидкость, которая содержит плазмидные ДНК, к поверхности и в кожу или слизистую субъекта. Иллюстративные примеры различных типов тканей, которые можно лечить с использованием способов по изобретению, включают поджелудочную железу, гортань, носоглотку, гортаноглотку, ротовую часть глотки, губу, горло, легкое, сердце, почку, мышцу, молочную железу, кишечник, предстательную железу, вилочковую железу, яички, кожу, ткань слизистой, яичник, кровеносные сосуды или любую их комбинацию.

[0121] MID может содержать игольчатые электроды, которые электропорируют ткань. При возникновении импульса между несколькими парами электродов в матрице с несколькими электродами, например расположенными в форме прямоугольника или квадрата, наблюдаются улучшенные результаты по сравнению с импульсом между парой электродов.

Например, в патенте США № 5702359, имеющем название «Needle Electrodes for Mediated Delivery of Drugs and Genes», описана матрица игл, при этом во время терапевтического лечения импульс может возникать между несколькими парами игл. В указанной заявке, которая включена в данный документ посредством ссылки, словно

представлена в полном объеме, иглы были расположены в виде круглой матрицы, но имели соединители и переключатели, обеспечивающие возникновение импульса между противоположными парами игольчатых электродов. Для доставки рекомбинантных экспрессионных векторов в клетки можно применять пару игольчатых электродов. Такое устройство и система описаны в патенте США № 6763264, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки. Альтернативно, можно применять устройство с одной иглой, которое делает возможным инъектирование ДНК и электропорацию с помощью одной иглы, что напоминает нормальную иглу для инъекции, и использовать импульсы более низкого напряжения, чем те, которые доставляются в используемых на данный момент устройствах, таким образом снижая восприятие электрического заряда, ощущаемое пациентом.

[0122] MID может содержать одну или более электродных матриц. Матрицы могут содержать две или более игл того же диаметра или различных диаметров. Иглы могут быть равномерно или неравномерно расположены друг от друга. Иглы могут составлять от 0,005 дюйма до 0,03 дюйма, от 0,01 дюйма до 0,025 дюйма; или от 0,015 дюйма до 0,020 дюйма. Игла может составлять 0,0175 дюйма в диаметре. Иглы могут быть расположены на расстоянии 0,5 мм, 1,0 мм, 1,5 мм, 2,0 мм, 2,5 мм, 3,0 мм, 3,5 мм, 4,0 мм или более друг от друга.

[0123] MID может состоять из импульсного генератора и двух или более инжекторов-игл, которые доставляют плазмидные(-ую) ДНК и импульсы электропорации в одну стадию. Импульсный генератор может давать возможность гибко программировать импульс и параметры инъекции посредством кодирующей карты, управляемой персональным компьютером, а также обширной записи и хранения данных об электропорации и пациенте. Импульсный генератор может доставлять множество вольтовых импульсов в течение коротких периодов времени. Например, импульсный генератор может доставлять три 15-вольтовых импульса длительностью 100 мс. Пример такого MID представляет собой систему Elgen 1000 производства Inovio Biomedical Corporation, которая описана в патенте США № 7328064, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки.

[0124] MID может представлять собой устройство и систему CELLECTRA® (Inovio Pharmaceuticals, Блу-Белл, Пенсильвания), которое представляет собой модульную электродную систему, облегчающую введение макромолекулы, такой как ДНК, в клетки выбранной ткани в организме или растении. Модулярная электродная система может содержать совокупность игольчатых электродов; гиподермальную иглу; электрический соединитель, который обеспечивает проводящую связь от программируемого регулятора импульса постоянного тока до совокупности игольчатых электродов; и источник энергии. Оператор может взять совокупность игольчатых электродов, которые расположены на подложке и прочно вставить их выбранную ткань в организме или растении. Затем макромолекулы доставляют посредством гиподермальной иглы в выбранную ткань. Активируют программируемый регулятор импульса постоянного тока и к совокупности

игольчатых электродов прилагают электрический импульс постоянного тока. Приложенный электрический импульс постоянного тока облегчает введение макромолекулы в клетку между совокупностью электродов. Гибель клеток вследствие перегрева клеток минимизируется путем ограничения рассеивания энергии в ткани посредством импульсов постоянного тока. Устройство и система CELLECTRA® описаны в патенте США № 7 245 963, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки.

[0125] MID может представлять собой систему Elgen 1000 (Inovio Pharmaceuticals). Система Elgen 1000 может содержать устройство, которое обеспечивает полую иглу; и устройство доставки жидкости, при этом устройство приспособлено для приведения устройства для доставки жидкости в действие, чтобы согласованно (например, автоматически) инъецировать жидкость, описанные в данном документе плазмидные(-ую) ДНК, в ткани организма во время введения иглы в указанную ткань организма. Преимущество заключается в способности инъецировать жидкость постепенно, при этом введенная игла приводит к более равномерному распределению жидкости через ткани организма. Также полагают, что боль, ощущаемая во время инъецирования, снижена вследствие распределения объема инъецируемой жидкости по большей площади.

[0126] В дополнение, автоматическое введение жидкости облегчает автоматический мониторинг и регистрацию фактической дозы инъецируемой жидкости. Эти данные можно хранить с использованием управляющего устройства для целей документирования, если необходимо.

[0127] Понятно, что скорость инъецирования может быть или линейной, или нелинейной, и что инъекцию можно осуществлять после того, как иглы были введены в кожу субъекта, подлежащего лечению, в то время как они будут введены дальше в ткань организма.

[0128] Пригодные ткани, в которые можно инъецировать жидкость с помощью устройства по данному изобретению, включают ткани опухоли, ткани кожи или печени, но также могут представлять собой мышечную ткань.

[0129] Устройство дополнительно содержит средство введения иглы для управления введением иглы в ткань организма. Скорость инъецирования жидкости контролируется скоростью введения иглы.

Это имеет то преимущество, что как введение иглы, так и инъецирование жидкости может контролироваться таким образом, что скорость введения может совпадать со скоростью инъецирования, если необходимо. Также это облегчает использование устройства пользователем. Если необходимо, можно предоставить устройства для автоматического введения иглы в ткань организма.

[0130] Пользователь может выбрать, когда осуществлять инъекцию жидкости. Однако идеально осуществлять инъекцию, когда кончик иглы достиг мышечной ткани и устройство может включать способы детектирования, когда иглу вставили на достаточную глубину для осуществления инъекции жидкости. Это означает, что

инъекцию жидкости можно запрограммировать осуществлять автоматически, когда игла достигла желаемой глубины (что, как правило, будет представлять собой глубину, на которой начинается мышечная ткань). Глубина, на которой начинается мышечная ткань, может, например, быть принята за заранее заданную глубину введения иглы, например величину 4 мм, которая подразумевается достаточной для того, чтобы игла прошла через слой кожи.

[0131] Устройство детектирования может содержать ультразвуковой зонд. Устройство детектирования может содержать устройство для детектирования изменения импеданса или сопротивления. В этом случае устройство может не записывать глубину иглы в ткани организма, а скорее быть настроенным детектировать изменения импеданса или сопротивления по мере того, как игла движется от тканей различного типа в организме в мышцу. Любая из этих альтернатив обеспечивает относительно точное и простое в управлении устройство детектирования, которое может осуществлять инъекцию. Глубина введения иглы может быть дополнительно записана, если необходимо, и может быть использована для контроля инъекции жидкости, так что определяется объем жидкости, которую необходимо ввести, тогда как глубина введения иглы записывается.

[0132] Устройство может дополнительно содержать основание для поддержания иглы; и корпус для приема основания, при этом основание может перемещаться относительно корпуса, так что игла втягивается внутрь корпуса, когда основание находится в первом заднем положении относительно корпуса, а игла простирается из корпуса, когда основание находится во втором переднем положении в корпусе. Это является преимуществом для пользователя, поскольку устройство можно выровнять на коже пациента, а затем иглы можно вставить в кожу пациента путем перемещения корпуса относительно основания.

[0133] Как указано выше, желательно достичь контролируемой скорости инъектирования жидкости, так что жидкость равномерно распределяется по всей длине иглы, когда она введена в кожу. Средство доставки жидкости может включать устройство движения поршня, приспособленное для инъектирования жидкости с контролируемой скоростью. Устройство движения поршня может быть, например, активировано серводвигателем. Однако устройство движения поршня может приводиться в действие основанием, которое перемещается в осевом направлении относительно корпуса. Понятно, что можно предоставить альтернативное устройство для доставки жидкости. Таким образом, например, закрытый контейнер, который может находиться под давлением для доставки жидкости с контролируемой или неконтролируемой скоростью может быть представлен вместо шприца или системы с поршнем.

[0134] Описанное выше устройство может быть использовано для многих типов инъекций. Однако оно считается особенно эффективным в области электропорации и, следовательно, может дополнительно включать устройство для приложения напряжения к игле. Это позволяет использовать иглу не только для инъекции, но также в качестве

электрода во время электропорации. Это является особенно предпочтительным, поскольку означает, что электрическое поле прикладывают к той же области, что и инъецируемую жидкость. Традиционно для электропорации существует проблема, которая заключается в том, что очень сложно аккуратно выровнять электрод с ранее введенной жидкостью, и следовательно, пользователи обычно инъецируют больший объем жидкости, чем требуется, на большую площадь, и прикладывают электрическое поле на большую площадь, чтобы попытаться гарантировать перекрытие между инъецируемым веществом и электрическим полем. С использованием данного изобретения можно снижать как объем инъецируемой жидкости, так и размер прилагаемого электрического поля, при этом достигая хорошего соответствия между электрическим полем и жидкостью.

[0135] При введении молекул(-ы) нуклеиновой кислоты, кодирующих раковые антигены hTERT, PSMA и WT-1, субъекту, трансфицированные клетки будут экспрессировать и секретировать один или более раковых антигенов. Эти секретируемые белки или синтетические антигены будут распознаны как чужеродные иммунной системой, что будет устанавливать иммунный ответ, который может включать: антитела, полученные против одного или более раковых антигенов и Т-клеточный ответ, который является специфичным к одному или более раковым антигенам. В некоторых примерах млекопитающее, которому вводят иммуногенную композицию, обсуждаемую в данном документе, будет обладать примированной иммунной системой и при иммунизации одним или более раковыми антигенами, как раскрыто в данном документе, примированная иммунная система будет обеспечивать быстрое очищение от последующих раковых антигенов, как раскрыто в данном документе, посредством гуморальных, клеточных, или как гуморальных, так и клеточных ответов.

[0136] Рекомбинантный раковый антиген может индуцировать антиген-специфичные Т-клеточные ответы и/или ответы антител с высоким титром, таким образом индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на или является активным против рака или опухоли, экспрессирующей антиген. В некоторых вариантах осуществления изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может быть клеточным, гуморальным или как клеточным, так и гуморальным иммунным ответом. В некоторых вариантах осуществления изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию интерферона-гамма (ИФН- γ) и/или фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α). В других вариантах осуществления изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может снижать или ингибировать один или более факторов иммунной супрессии, которая стимулирует рост опухоли или ракового новообразования, экспрессирующего антиген, например, но не ограничиваясь этим: факторы, которые подавляют презентирование МНС, факторы, которые стимулируют антиген-специфичные регуляторные Т-клетки (Трег.), PD-L1, FasL, цитокины, такие как ИЛ-10 и TFG- β , макрофаги, ассоциированные с опухолями, фибробласты, ассоциированные с опухолями, растворимые факторы, продуцируемые иммунными супрессорными клетками, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и

молекулу иммунной контрольной точки.

[0137] Раскрытые вакцины могут дополнительно содержать антитело к PD-1. Раскрытые способы лечения могут дополнительно содержать введение субъекту антитела к PD-1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения антитело к PD-1 содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), переменную область легкой цепи (LCVR), и/или гиперпеременные области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности любого из антител к PD-1, как представлено в патентной публикации США № 20150203579, включенной в полном объеме. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1, которое можно использовать в контексте раскрытых способов, содержит гиперпеременные области тяжелой цепи (HCDR) переменной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID №: 1, и гиперпеременные области легкой цепи (LCDR) переменной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID №: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения антитело к PD-1 содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), при этом HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 8. В других вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1 содержит HCVR, содержащую SEQ ID №: 1, и LCVR, содержащую SEQ ID №: 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы по данному изобретению включают применение антитела к PD-1, при этом антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 9. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 10. Иллюстративное антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 10, является полностью человеческим антителом к PD-1, известным как REGN2810, а также известно как цемиплимаб или цемиплимаб-rwlc.

[0138] В соответствии с некоторыми иллюстративными вариантами осуществления изобретения способы по данному изобретению включают применение REGN2810 или его биоаналога или биоэквивалента. Термин «биоэквивалентный», при использовании в данном документе, относится к антителам к PD-1 или PD-1-связывающим белкам или их фрагментам, которые являются фармацевтически эквивалентными или фармацевтически альтернативными, скорость и/или длительность абсорбции которых не демонстрирует значительного различия с таковыми для REGN2810 при введении в той же молярной дозе в одинаковых экспериментальных условиях, как в виде однократной дозы, так и в виде

нескольких доз. В контексте изобретения термин относится к антиген-связывающим белкам, которые связываются с PD-1, которые не обладают клинически значимыми различиями с REGN2810, по их безопасности, чистоте и/или активности.

[0139] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения антитело к PD-1 человека содержит HCVR, последовательность которой на 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID №: 1.

[0140] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения антитело к PD-1 человека содержит LCVR, последовательность которой на 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID №: 2.

[0141] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения антитело к PD-1 человека содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 1, имеющую не более 5 аминокислотных замен. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения антитело к PD-1 человека содержит LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 2, имеющую не более 2 аминокислотных замен.

[0142] Идентичность последовательности может быть измерена любым способом, известным в данной области техники (например, GAP, BESTFIT и BLAST).

[0143] Данное изобретение также включает применение антител к PD-1 в способах для лечения рака, при этом антитела к PD-1 включают варианты любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, содержащих одну или более консервативных аминокислотных замен. Например, данное изобретение включает применение антител к PD-1, содержащих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, с, например, 10 или меньше, 8 или меньше, 6 или меньше, 4 или меньше и т.д. консервативными аминокислотными заменами относительно любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

[0144] Количество антитела к PD-1, вводимого субъекту в соответствии с раскрытыми способами, может представлять собой терапевтически эффективное количество. При использовании в данном документе, фраза «терапевтически эффективное количество» антитела к PD-1 представляет собой количество, которое приводит к одному или более из:

(а) снижение тяжести или длительности симптома или признака рака, например глиобластомы; (b) ингибирование роста опухоли или усиление некроза опухоли, уменьшение размера опухоли и/или исчезновение опухоли; (c) задержка роста и развития опухоли; (d) ингибирование метастазирования опухоли; (e) профилактика повторного роста опухоли; (f) увеличение выживаемости субъекта с раком; и/или (g) ослабление применения или необходимости в традиционной противораковой терапии (например, снижение или устранение применения химиотерапевтических или цитотоксических агентов) по сравнению с нелеченным субъектом или субъектом, которому ввели антитело в качестве монотерапии.

[0145] В случае антитела к PD-1 или его антиген-связывающего фрагмента терапевтически эффективное количество может составлять от около 0,05 мг до около 600 мг, от около 1 мг до около 500 мг, от около 10 мг до около 450 мг, от около 50 мг до около 400 мг, от около 75 мг до около 350 мг или от около 100 мг до около 300 мг антитела. Например, в различные варианты осуществления изобретения количество антитела к PD-1 составляет около 0,05 мг, около 0,1 мг, около 1,0 мг, около 1,5 мг, около 2,0 мг, около 10 мг, около 20 мг, около 30 мг, около 40 мг, около 50 мг, около 60 мг, около 70 мг, около 80 мг, около 90 мг, около 100 мг, около 110 мг, около 120 мг, около 130 мг, около 140 мг, около 150 мг, около 160 мг, около 170 мг, около 180 мг, около 190 мг, около 200 мг, около 210 мг, около 220 мг, около 230 мг, около 240 мг, около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг, около 400 мг, около 410 мг, около 420 мг, около 430 мг, около 440 мг, около 450 мг, около 460 мг, около 470 мг, около 480 мг, около 490 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг или около 600 мг антитела к PD-1. В одном варианте осуществления изобретения 250 мг антитела к PD-1 вводят в соответствии со способами по данному изобретению. В одном варианте осуществления изобретения 200 мг антитела к PD-1 вводят в соответствии со способами по данному изобретению. В одном варианте осуществления изобретения 350 мг антитела к PD-1 вводят в соответствии со способами по данному изобретению.

[0146] Антитело к PD-1 можно вводить субъекту в виде нескольких доз, например, как часть конкретного терапевтического режима дозирования. Например, терапевтический режим дозирования может включать введение одной или более доз антитела к PD-1 субъекту с частотой около одного раза в сутки, один раз каждые два дня, один раз каждые три дня, один раз каждые четыре дня, один раз каждые пять дней, один раз каждые шесть дней, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели, один раз в месяц, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца, один раз каждые четыре месяца или реже.

[0147] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1 содержится в фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции по изобретению могут быть введены в состав с пригодными носителями, вспомогательными веществами и другими агентами, которые обеспечивают приемлемый перенос, доставку, переносимость и тому подобное. Большое количество подходящих составов можно найти в руководстве, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Истон, Пенсильвания. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, липиды, везикулы, содержащие липиды (катионные или анионные) (такие как LIPOFECTIN™), ДНК-конъюгаты, безводные абсорбирующие пасты, эмульсии «масло-в-воде» и «вода-в-масле», эмульсии карбовакса (полиэтиленгликоли с различными молекулярными массами), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell et al. "Compendium of

excipients for parenteral formulations” PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

[0148] Известны различные системы доставки, и их можно использовать для введения антитела к PD-1, например, инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные к экспрессии мутантных вирусов, опосредованный рецептором эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваясь этим, интрадермальный, внутримышечный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композицию можно вводить любым традиционным путем, например с помощью инфузии или болюсной инъекции, с помощью абсорбции через эпителиальную и кожно-слизистую оболочки (например, слизистую ротовой полости, слизистую прямой и тонкой кишки и т.д.) и можно вводить вместе с другими биологически активными агентами.

[0149] Антитело к PD-1 по данному изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно с помощью стандартной иглы или шприца. Кроме того, по отношению к подкожной доставке, устройство для введения в виде ручки явно имеет применения при доставке антитела к PD-1. Такое устройство для доставки в виде ручки может быть многоразовым или одноразовым. В многоразовом устройстве для доставки в виде ручки используют заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию антитела к PD-1. После того, как вся фармацевтическая композиция в картридже была введена, и картридж опустел, пустой картридж можно выбросить и заменить на новый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Устройство для доставки в виде ручки можно использовать повторно. В одноразовом устройстве для доставки в виде ручки нет заменяемого картриджа. Скорее, одноразовое устройство для доставки в виде ручки поставляют предварительно заполненным фармацевтической композицией, удерживаемой в резервуаре устройства. После опустошения резервуара с фармацевтической композицией устройство полностью выбрасывают.

[0150] В некоторых ситуациях антитело к PD-1 можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления изобретения можно применять насос. В другом варианте осуществления изобретения можно использовать полимерные материалы; см. *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Fla. В другом варианте осуществления изобретения систему с контролируемой доставкой можно размещать вблизи мишени, в таком случае необходима только часть системной дозы (см., например, Goodson, 1984, в *Medical Applications of Controlled Release*, supra, vol. 2, pp. 115-138). Другие системы с контролируемой доставкой обсуждаются в обзоре Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533.

[0151] Инъецируемые препараты антитела к PD-1 могут включать лекарственные формы для внутривенной, подкожной, внутрикожной и внутримышечной инъекций, капельных инфузий и т.д. Эти инъецируемые препараты могут быть получены с помощью известных способов. Например, инъецируемые препараты могут быть получены, например, путем растворения, суспендирования или эмульгирования антитела или его

соли, описанных выше, в стерильной водной среде или в маслянистой среде, традиционно используемой для инъекций. В качестве водной среды для инъекций используют, например, физиологический раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные агенты и т.д., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим агентом, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество [например, полисорбат 80, HCO-50 (аддукт полиоксиэтилена (50 моль) с гидрогенизированным касторовым маслом)] и т.д. В качестве масляной среды применяют, например, кунжутное масло, соевое масло и т.д., которые можно использовать в комбинации с солюбилизирующим агентом, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Таким образом приготовленной инъекцией предпочтительно заполняют подходящую ампулу.

[0152] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к PD-1 введено в состав фармацевтической композиции для применения при внутривенном введении.

[0153] В некоторых вариантах осуществления изобретения способы дополнительно включают применение лучевой терапии для субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения одну или более доз лучевой терапии вводят субъекту с частотой около одного раза в сутки, один раз каждые два дня, один раз каждые три дня, один раз каждые четыре дня, один раз каждые пять дней, один раз каждые шесть дней, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели, один раз в месяц, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца, один раз каждые четыре месяца или реже.

[0154] В некоторых вариантах осуществления изобретения лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят 20-60 Грей в виде 2-20 фракций. В некоторых вариантах осуществления изобретения гипофракционированная лучевая терапия содержит 15 фракций. В некоторых вариантах осуществления изобретения 15 фракций вводят в течение 15-25 дней подряд. В некоторых вариантах осуществления изобретения 15 фракций вводят в течение 21 дней подряд.

[0155] В некоторых вариантах осуществления изобретения способы дополнительно включают введение химиотерапевтического агента субъекту, например, темозоломида (TMZ). Химиотерапевтический агент можно вводить одновременно с лучевой терапией. Например, TMZ вводят в суточной дозе 75 мг/м^2 совместно с гипофракционированной лучевой терапией. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту с опухолью с метилированным промотором MGMT будут вводить поддерживающую терапию с помощью химиотерапевтического агента. Например, после лучевой терапии субъекты с опухолью с метилированным промотором MGMT могут получать TMZ в начальной дозе $150 \text{ мг/м}^2/\text{сутки}$ в течение 6 циклов в первые 5 дней 28-дневного цикла (5 дней «лечение», 23 дня «отдых») с повышением в каждом поддерживающем цикле на 50

мг/м²/доза до максимум 200 мг/м²/доза в отсутствие гематологической токсичности. В некоторых вариантах осуществления изобретения поддерживающая терапия будет начинаться через приблизительно от трех до пяти недель, предпочтительно около 4 недель, после последней дозы лучевой терапии.

[0156] В конкретных вариантах осуществления изобретения раскрытые способы могут опосредовать клиренс или предотвращать рост опухолевых клеток путем индуцирования (1) гуморального иммунитета посредством В-клеточных ответов для создания антител, которые блокируют выработку моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), тем самым замедляя развитие супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) и подавляя рост опухоли; (2) увеличения цитотоксичных Т-лимфоцитов, таких как CD8⁺ (CTL), для атаки и уничтожения опухолевых клеток; (3) увеличения ответов Т-хелперных клеток;

(4) и увеличения воспалительных ответов посредством ИФН- γ и ТФН- α ; или (5) любой комбинации вышеперечисленного. Способы могут увеличивать выживаемость без прогрессирования на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44% и 45%. Способ может уменьшать опухолевую массу на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% после иммунизации. Способы могут предотвращать и блокировать увеличение моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP- 1), цитокина, секретируемого супрессорными клетками миелоидного происхождения. Способ может увеличивать выживаемость без опухоли на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60%.

[0157] Раскрытые способы могут увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта в от около 50 раз до около 6000 раз, от около 50 раз до около 5500 раз, от около 50 раз до около 5000 раз, от около 50 раз до около 4500 раз, от около 100 раз до около 6000 раз, от около 150 раз до около 6000 раз, от около 200 раз до около 6000 раз, от около 250 раз до около 6000 раз или от около 300 раз до около 6000 раз по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, для которого не применяли указанный способ или применяли стандартный способ лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта в около 50 раз, 100 раз, 150 раз, 200 раз, 250 раз, 300 раз, 350 раз, 400 раз, 450 раз, 500 раз, 550 раз, 600 раз, 650 раз, 700 раз, 750 раз, 800 раз, 850 раз, 900 раз, 950 раз, 1000 раз, 1100 раз, 1200 раз, 1300 раз, 1400 раз, 1500 раз, 1600 раз, 1700 раз, 1800 раз, 1900 раз, 2000 раз, 2100 раз, 2200 раз, 2300 раз, 2400 раз, 2500 раз, 2600 раз, 2700 раз, 2800 раз, 2900 раз, 3000 раз, 3100 раз, 3200 раз, 3300 раз, 3400 раз, 3500 раз, 3600 раз, 3700 раз, 3800 раз, 3900 раз, 4000 раз, 4100 раз, 4200 раз, 4300 раз, 4400 раз, 4500 раз, 4600 раз, 4700 раз, 4800 раз, 4900 раз, 5000 раз, 5100 раз, 5200 раз, 5300 раз, 5400 раз, 5500 раз, 5600 раз, 5700 раз, 5800 раз, 5900 раз или 6000 раз по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, для которого не применяли указанный способ или применяли стандартный способ лечения.

[0158] В некоторых вариантах осуществления изобретения способы могут увеличивать выживаемость без наличия опухоли, уменьшать массу опухоли, увеличивать выживаемость без прогрессирования, увеличивать общую выживаемость или их комбинацию у субъекта. Способы могут увеличивать выживаемость без образования опухоли на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% у субъекта. Способы могут снижать массу опухоли на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69% и 70% у субъекта. Способы могут увеличивать выживаемость без прогрессирования на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% у субъекта. Способы могут увеличивать общую выживаемость на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% у субъекта.

[0159] В некоторых вариантах осуществления изобретения клинически доказано, что способы являются безопасными, эффективными или как безопасными, так и эффективными.

ПРИМЕР

Цели

[0160] Главная цель: Оценить безопасность и переносимость INO-5401 и INO-9012, доставляемых путем внутримышечной (в/м) инъекции после ЭП с использованием CELLECTRA® 2000 в комбинации с цемиплимабом-gwlc у взрослых субъектов с впервые выявленной GBM.

[0161] Первичная конечная точка(-и) и оценки:

Частота возникновения побочных эффектов (ПЭ), ранжированная в соответствии с Общими критериями токсичности для нежелательных явлений (CTCAE), версии 4.03, классифицированная в соответствии с классом системы органов, предпочтительным членом, тяжестью и отношением к экспериментальному лечению.

Клинически значимые изменения лабораторных параметров безопасности относительно исходного уровня.

[0162] Вторичные цели:

Оценить предварительную клиническую эффективность и иммуногенность INO-5401 и INO-9012, доставляемых путем в/м инъекции после ЭП с использованием CELLECTRA® 2000 в комбинации с цемиплимабом-gwlc, у взрослых субъектов с впервые выявленной GBM.

Оценить предварительную иммуногенность INO-5401 и INO-9012, доставляемых

путем в/м инъекции после ЭП с использованием CELLECTRA® 2000 в комбинации с REGN2810, у взрослых субъектов с впервые выявленной GBM.

[0163] Вторичная конечная точка(-и) и оценки:

Общая выживаемость через 18 месяцев (OB18);

Антиген-специфичные клеточные иммунные ответы, оцененные с помощью:

Т-лимфоцитов, секретирующих интерферон-γ, в мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК) с помощью ELISpot;

Т-клеточного фенотипа (например, активирующая и цитолитическая клетка, встречаемость супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC)) в МКПК с помощью проточной цитометрии;

секвенирования рецепторов Т-клеток (TCR) из МКПК для оценки разнообразия и предполагаемой антигенной специфичности;

Антиген-специфичных гуморальных ответов (например, активация В-клеток/секреция антител).

[0164] Поисковая цель(-и):

Обнаружить корреляцию между клинической эффективностью и генетикой и/или биомаркерами опухоли.

Дополнительно оценить эффективность INO-5401 и INO-9012, доставляемых путем в/м инъекции после ЭП с использованием CELLECTRA® 2000 в комбинации с REGN2810 и гипофракционированной лучевой терапией, у взрослых субъектов с впервые выявленной GBM. Поисковая конечная точка(-и):

Опухоль-инфильтрующие лимфоциты (TIL) и иммуносуппресивные элементы, где возможно;

Экспрессия опухолевых онкопротеинов, включая, но не ограничиваясь ими, экспрессия опухоли hTERT, WT1 и PSMA с помощью ИГХ, иммунофлуоресценции (ИФ) или секвенирования генома;

Сигнатуры микроРНК в плазме и/или сыворотке крови;

Опухолевые клетки в кровотоке, эндотелиальные клетки в кровотоке и/или раковые клетки, ассоциированные с макрофаг-подобными клетками из периферической крови в кровотоке, где возможно;

Оценка периферических Т-клеток, специфичных к опухольассоциированному антигену (ТАА), с помощью секвенирования РНК;

Оценка цитокиновых профилей из плазмы и/или сыворотки;

Выживаемость без прогрессирования, как оценено в соответствии с критериями RANO (Оценка ответа в нейроонкологии) и критериями оценки ответов иммунотерапии в нейроонкологии (iRANO);

Общая выживаемость (OB).

[0165] Дизайн исследования

[0166] Исследование, описанное в этом примере, соответствует клиническим исследованиям под правительственным номером NCT03491683. Данные, представленные

в данном документе, связанные с этим исследованием, отражают состояние этого исследования на время подачи заявки. В этом исследовании пациентам с впервые диагностированной GBM предоставляли терапию с образованием антиген-специфичных Т-клеток, INO-5401 в комбинации с INO-9012, с последующей электропорацией с помощью устройства CELLECTRA® 2000, вместе с ингибитором контрольной точки PD-1, цемиплимабом-gwlc, вместе с лучевой терапией и темозоломидом, чтобы оценить переносимость, иммуногенность и противоопухолевую активность комбинации. Этическое утверждение комитетом по этике NYU; регистрационный номер i17-00764.

[0167] Это открытое, многоцентровое исследование фазы 1/2 для оценки безопасности, иммуногенности и предварительной эффективности INO-5401 и INO-9012 в комбинации с цемиплимабом (также известен как REGN2810) у субъектов с впервые диагностированной GBM. Всем пациентам было предоставлено информированное согласие в письменном виде.

[0168] Субъекты начинали иммунотерапию с использованием REGN2810 при характерном гистологическом диагнозе GBM и нормальном восстановлении после хирургического вмешательства. Субъектов распределяли по группам на основании результатов анализа метилирования гена MGMT, выполненного в CLIA-сертифицированной лаборатории, который был доступен до завершения ЛТ. Начало иммунотерапии обозначают как день 0. REGN2810 вводили внутривенно (в/в) каждые три недели до прогрессирования заболевания, определенного с помощью iRANO (оценка иммунного ответа в нейроонкологии), неприемлемой токсичности, отзыва согласия или смерти.

[0169] В день 0 субъекты получали INO-5401 и INO-9012 внутримышечно (в/м) с последующей электропорацией (ЭП). Вводили INO-5401 и INO-9012 с последующей ЭП каждые три недели в течение четырех доз, а затем каждые 9 недель до прогрессирования заболевания, определенного с помощью iRANO, неприемлемой токсичности, отзыва согласия или смерти.

[0170] Темозоломид вводили всем субъектам как с промотором метилирования MGMT, так и без него, если клинически не противопоказано, во время лучевой терапии. Лучевую терапию (ЛТ) начинали не позднее чем через 42 дня после хирургического вмешательства. Лучевую терапию начинали приблизительно через 1-2 недели после дня 0 и продолжали приблизительно три недели. Темозоломид (TMZ) давали один раз в сутки во время лучевой терапии (TMZ/ЛТ). Субъекты с промотором метилирования MGMT получали поддержку (адьювант) TMZ в течение 6 циклов после восстановления от TMZ/ЛТ. Поддержку (адьювант) TMZ вводили в течение первых 5 дней 28-дневного цикла. Это исследование включало две группы: Группа А, состоящая из субъектов с неметилированным промотором MGMT, и группа В, состоящая из субъектов с метилированным промотором MGMT.

[0171] *Популяция исследования*

[0172] Каждый потенциальный субъект удовлетворял всем из следующих

критериев для включения в указанное исследование:

Обзор выбора пациентов

[0173] Взрослые с впервые диагностированной GBM, которым была произведена окончательная операция и которые могут получать стандартную терапию. Оцененное количество субъектов: 52. Группа А: Неметилированный промотор MGMT (N=32 для 30 оцениваемых субъектов). Группа В: Метилированный промотор MGMT (N=20 для 19 оцениваемых субъектов).

[0174] Критерии включения:

Субъекты должны предоставить утвержденное IRB информированное согласие в письменном виде в соответствии с рекомендациями учреждения;

Иметь возраст 18 лет или более на день подписания информированного согласия и быть способным и готовым выполнять все процедуры исследования;

Впервые диагностированный рак мозга с гистопатологическим диагнозом глиобластомой (GBM);

Оценка общего состояния по Карнофски (KPS) ≥ 70 на исходном уровне;

Получать эквивалентную дозу дексаметазона ≤ 2 мг в сутки, постоянную или уменьшающуюся в течение $\geq$ трех дней до дня 0;

Восстановление от эффектов предыдущего хирургического лечения GBM, что определяется исследователем;

ЭКГ без клинически значимых признаков, как оценено исследователем, выполненное в течение 28 дней от подписания формы информированного согласия (ФИС);

Нормальное функционирование органов, что продемонстрировано гематологическими, почечными, печеночными параметрами, как определено в Таблице ниже, полученными в течение 28 дней до первого лечения исследования;

(АЧН) Абсолютное число нейтрофилов	$\geq 1500/\text{мм}^3$
Тромбоциты	$\geq 100000/\text{мм}^3$
Гемоглобин	≥ 9 г/дл
Креатинин или Измеренный или рассчитанный клиренс креатинина или GFR*	$\leq 1,5$ X верхняя граница нормы (ВГН), или ≥ 50 мл/мин для субъекта с уровнем креатинина $> 1,5$ X ВГН учреждения
Общий билирубин	$\leq 1,5$ X ВГН
АСТ (SGOT) и АЛТ (SGPT)	$\leq 2,5$ X ВГН

*Клиренс креатинина необходимо рассчитывать на основании уравнения Кокрофта-Голта

По соглашению во время исследования мужчины не могут зачать ребенка, а женщины не могут быть или становятся беременными, если они имеют возможность

деторождения. Субъекты должны быть не способны к деторождению (≥ 12 месяцев аменорея, не вызванная терапией, подтвержденная фолликулостимулирующим гормоном [ФСГ], если не находится на гормон-заместительной терапии); или бесплодны вследствие хирургического вмешательства (вазектомия у мужчин или отсутствие яичников и/или матки у женщин); или согласие применять один высокоэффективный или комбинированный способы контрацепции, которые приводят к интенсивности отказов $< 1\%$ в год в течение периода лечения и по меньшей мере через 12 недель после последней дозы. Периодическое воздержание (например, календарный, овуляционный, симптотермальный или постовуляционный способы) и полное воздержание не являются приемлемыми способами контрацепции. Примеры способов контрацепции с ожидаемой частотой отказов $< 1\%$ в год включает стерилизацию мужчин и гормональные имплантаты. Альтернативно, надлежащее применение комбинированных пероральных или инъектируемых гормональных контрацептивов и некоторых внутриматочных противозачаточных средств (IUD) или двух способов (например, двух барьерных способов, таких как презерватив и шейный колпачок) можно объединять для достижения интенсивности отказов $< 1\%$ в год (барьерные способы всегда должны быть дополнены применением спермицида);

Способность переносить магнитно-резонансную томографию (МРТ).

[0175] Критерии исключения:

Увеличение остаточной опухоли более чем 1 см x 1 см после проведенной операции

Многоочаговое заболевание или лептоменингеальное заболевание (LM) на МРТ после операции;

Не способны начать получать лучевую терапию в течение 42 дней после хирургической резекции опухоли;

Получают эквивалентную дозу дексаметазона > 2 мг в сутки;

Предыдущее лечение агентом, который блокирует путь PD-1/PD-L1 в любой момент в прошлом.

Получение ранее утвержденного или исследуемого агента, модулирующего иммунную систему (например, антитело к ФНО, терапевтические противораковые вакцины, лечение цитокинами (отличными от Г-КСФ или эритропоэтина) или агенты, которые нацелены на цитотоксический антиген Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4), 4-1BB (CD137), P13K-дельта или OX-40) в течение 28 дней после получения первой дозы лечения;

Получали предшествующее лечение иделалисиком в любой момент времени в прошлом;

Прошлой, текущее или планируемое лечение с использованием полей облучения опухолей (Optune; NovoTTF); онколитическое вирусное лечение; или предшествующее воздействие исследуемым агентом или устройством, в том числе пластинками Gliadel (кармустин) для имплантирования для химиотерапии; в течение 28 дней после получения

первой дозы лечения;

Аллергия или гиперчувствительность к REGN2810 или любому из его вспомогательных веществ;

Задokumentированные аллергические реакции или реакция острой гиперчувствительности в анамнезе, которая относится к лечению антителами;

Существующее или недавнее (в пределах 5 лет) свидетельство наличия аутоиммунного заболевания для которого требуется лечение системными иммуносуппрессивными лекарственными препаратами, которые могут иметь риск возникновения нежелательных явлений, связанных с иммунной системой (irAEs), за исключением: витилиго, детской астмы, которая была вылечена, диабета 1 типа, остаточного гипотиреоза, который требует только замещения гормона, или псориаза, который не требует системного лечения;

Диагноз иммунодефицита или лечение с использованием системной иммуносуппресивной терапии в течение 28 дней до первой дозы лечения исследования, отличного от дексаметазона, для лежащего в основе заболевания, которое исследуют, как указано в критериях включения;

Положительный серологический тест на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) или инфекция ВИЧ в анамнезе; или положительные тесты на поверхностный антиген вируса гепатита В (sAg ВГВ) или на рибонуклеиновую кислоту вируса гепатита С (РНК ВГС), указывающий на активную или хроническую инфекцию, поскольку эти инфекции могут мешать способности закреплять подходящий иммунный ответ на вакцинацию;

Текущее злокачественное новообразование в другом месте за исключением нормально пролеченных базального или плоскоклеточного рака кожи или карциномы шейки матки *in situ* без свидетельств заболевания в пределах 3 лет. Пациенты, перенесшие рак, которые подвергались радикальной терапии для лечения предшествующего злокачественного новообразования, нет свидетельств заболевания в течение 3 лет и, по-видимому, имеют небольшой риск повторного возникновения, имеют право участвовать в исследовании;

Получение любой вакцины в течение 4 недель до первой дозы лечения исследования за исключением инактивированной вакцины гриппа, которую можно вводить вплоть до 2 недель до этого;

Клинически значимое, с медицинской точки зрения нестабильное заболевание, которое, по мнению исследователя, будет подвергать опасности безопасность субъекта, мешать оценкам исследования или оценке конечной точки или иным образом влиять на правильность результатов исследования (например, хроническая почечная недостаточность, ангина, ишемия или инфаркт миокарда, заболевание сердца III/IV класса в соответствии с Нью-Йоркской кардиологической ассоциацией (NYHA)); или любые сердечные синдромы преждевременного возбуждения (такие как синдром Вольффа-Паркинсона-Уайта; кардиомиопатия или клинически значимые аритмии);

Пневмонит в анамнезе в течение последних 5 лет;

Острое или хроническое кровотечение или нарушение свертывания крови, которые будут служить противопоказаниями в/м инъекций или применения противосвертывающих средств (например, антикоагулянты или антитромбоцитарные препараты, исключая безрецептурный аспирин или нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, такие как ибупрофен) за 2 недели до дня 0;

Менее чем два приемлемых сайта, доступных для в/м инъекции, учитывая дельтовидную и переднелатеральную четырехглавую мышцы. Следующие места являются неприемлемыми:

Тату, рубцы или гипертрофические рубцы, расположенные в пределах 2 см предполагаемого сайта лечения;

Кардиовертер-дефибриллятор или электрокардиостимулятор (для профилактики угрожающей жизни аритмии), которые расположены на той же стороне дельтовидного места инъекции (только если по мнению кардиолога не считается приемлемым);

Металлические имплантаты или имплантируемое медицинское устройство в предполагаемое место осуществления лечения (т.е. область ЭП);

Активное применение лекарственных средств или зависимость от них, которая по мнению исследователя будет мешать следовать требованиям исследования;

Лишение свободы или принудительное задержание (вынужденное заключение) для лечения или психиатрического, или физического (т.е. инфекционной болезни) заболевания;

Беременность или кормление грудью на данный момент;

Как определено исследователем, любое медицинское или физиологическое или немедицинское патологическое состояние, которое может мешать способности субъекта принимать участие в исследовании или влияет на безопасность субъекта.

[0176] Дозировка и введение

Исследовательские лекарственные продукты

Продукт	Состав	Единицы
INO-5401	В общем 10,0 ± 0,5 мг/мл плазмиды (pGX1108, pGX1404, pGX1434; 1:1:1 мас./мас.) в 165 мМ хлорида натрия и 16,5 мМ цитрата натрия	1,4 мл/ 2 мл флакон
INO-9012	10,0 ± 0,5 мг/мл pGX6001 в воде для инъекций	0,2 мл/ 2 мл флакон
REGN2810	REGN2810 поставляется в виде стерильного жидкого раствора в количестве 5,5 мл в стеклянном флаконе 10 мл (50 мг/мл) для в/в введения. REGN2810 также можно поставлять в виде стерильного жидкого раствора в количестве 7,44 мл в стеклянном флаконе 10 мл (50 мг/мл) для в/в введения.	5,5 мл/10 мл флакон или 7,44 мл/10 мл флакон

[0177] Активные фармацевтические ингредиенты (АФИ) в INO-5401 представляют собой последовательности плазмид ДНК, которые были разработаны и сконструированы с

использованием патентованной синтетической консенсусной (SynCon®) технологии. Этот процесс включает синтетически получаемые консенсусные гены для многих штаммов и оптимизированные вставки ДНК на генетическом уровне, чтобы достичь высокой экспрессии в клетках человека. Плазмиды INO-5401 являются следующими:

pGX1108, плазида для экспрессии простата-специфического мембранного антигена (PSMA; SEQ ID №: 28). 3 мг pGX1108 будут присутствовать в каждой дозе 10 мг лечения исследования (INO-5401+INO-9012).

pGX1404, плазида для экспрессии антигена гена опухоли Вильмса-1 (WT1) (SEQ ID №: 26). 3 мг pGX1404 будут присутствовать в каждой дозе 10 мг лечения исследования.

pGX1434, плазида для экспрессии обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT) (SEQ ID №: 20). 3 мг pGX1434 будут присутствовать в каждой дозе 10 мг лечения исследования.

[0178] АФИ в лекарственном продукте INO-9012 представляет собой pGX6001, плазмиду ДНК для экспрессии белковых субъединиц p35 и p40 ИЛ-12 человека. 1 мг pGX6001 будет присутствовать в каждой дозе 10 мг лечения исследования. Оба ДНК плазмидных продукта INO-5401 и INO-9012 вводят с использованием шприца и исследовательского устройства электропорации (ЭП) CELLECTRA® 2000.

[0179] Цемиплимаб-gwlc (REGN2810) представляет собой ковалентный гетеротетрамер, состоящий из двух тяжелых цепей человека, связанных дисульфидными связями, каждая из которых ковалентно связана посредством дисульфидных связей с легкой цепью каппа человека. Антитело обладает приблизительной молекулярной массой 143,6 кДа на основании первичной последовательности. На каждой тяжелой цепи, расположенной в константной области участка Fc молекулы, есть один N-связанный сайт гликозилирования.

[0180] Тяжелая цепь REGN2810 обладает константной областью изотипа IgG4. Вариабельные домены тяжелой и легкой цепей объединяют с образованием сайта, связывающего PD-1, в антителе. Получение антител с помощью мышей VelocImmune® осуществляют с помощью стандартных техник после иммунизации PD-1. Гены, кодирующие тяжелые и легкие цепи REGN2810, вводили в клетки CHO, и для этого антитела получали стабильно экспрессирующую клеточную линию с более высоким титром (клеточная линия 2). Для обеих клеточных линий рекомбинантные клетки CHO выращивали в суспензионной культуре и химически индуцировали для инициации экспрессии антитела и секреции в среду клеточной культуры. Антитела собирают посредством фильтрации и очищают через ряд колонок для препаративной хроматографии и стадий фильтрования для получения лекарственного вещества. Лекарственное вещество затем вводят в состав и фильтруют в стерилизующих условиях для получения готового лекарственного продукта.

[0181] REGN2810 (50 мг/мл) вводили в состав водного буферного раствора при pH 6,0, содержащего 10 mM гистидина, 5% (мас./объем) сахарозы, 1,5% (мас./объем) L-пролина и 0,2% (мас./объем) полисорбата 80. REGN2810 поставляется в виде стерильного

жидкого раствора в количестве 5,5 мл в стеклянном флаконе 10 или 20 мл для в/в введения. Из каждого флакона, содержащего 250 мг REGN2810, можно отобрать максимальный объем 5,0 мл. Семь мл необходимо для обеспечения дозы 350 мг REGN2810, таким образом необходимо использовать 2 флакона при поставке флаконов по 5 мл. REGN2810 (50 мг/мл) можно также поставлять в виде стерильного жидкого раствора в количестве 7,44 мл в стеклянном флаконе 10 или 20 мл для в/в введения. Из каждого флакона, содержащего 350 мг REGN2810, можно отобрать максимальный объем 7,0 мл.

[0182] *Лечение*

[0183] Субъекты, которые отвечают всем критериям включения и ни одному из критериев исключения, начали иммунотерапию с помощью REGN2810 и INO-5401+INO-9012 в день 0. REGN2810 вводили в/в каждые три недели в дозе 350 мг на дозу в отсутствие хранения дозы до прогрессирования заболевания, как определено с помощью iRANO, неприемлемой токсичности, отзыва соглашения или смерти. Вводили в/м INO-5401 и INO-9012 с последующей ЭП каждые три недели в течение четырех доз, а затем каждые 9 недель в дозе 10 мг ДНК на дозу в отсутствие хранения дозы до прогрессирования заболевания, определенного с помощью iRANO, неприемлемой токсичности, отзыва согласия или смерти. ЛТ начинали не позднее чем через 42 дня после хирургического вмешательства и приблизительно через 1-2 недели после дня 0. ЛТ продолжали в течение приблизительно трех недель. Общая доза ЛТ составляла 40 Грей в течение 3 недель.

[0184] TMZ один раз в сутки с лучевой терапией (TMZ/ЛТ) начинали не позднее чем через 42 дня после хирургического вмешательства и приблизительно через 2 недели после 0 дня. TMZ/ЛТ продолжали в течение приблизительно трех недель. TMZ вводили в дозе 75 мг/м²/доза без снижения дозы. Затем субъектам следует получать поддерживающий (адьювант) TMZ в течение дополнительных 6 циклов. Группа В получала TMZ с последующей радиотерапией вплоть до шести циклов. Поддерживающий (адьювант) TMZ вводили субъектам в группе В в течение первых 5 дней 28-дневного цикла при 150-200 мг/м²/доза, с последующим восстановлением количества клеток периферической крови от TMZ/ЛТ в соответствии со стандартными рекомендациями лечения с помощью TMZ.

[0185] День 0 (первая доза INO 5401, INO 9012 и REGN2810) состоялся по меньшей мере через 14 дней после завершения резекции первичной опухоли и восстановления субъекта после хирургического вмешательства, но не позднее чем на 28 день после операции.

[0186] Субъектам, которые прервали одну терапию (или INO-5401+INO-9012, или REGN2810) по причинам, отличным от прогрессирования, было разрешено продолжать другую терапию после консультации с медицинскими работниками.

[0187] **Фиг. 1** иллюстрирует дизайн исследования для групп А и В.

INO-5401 (по 3 мг плазмид hTERT, WT-1 и PSMA) в сочетании с 1 мг INO-9012 (ИЛ-12), что в целом составляет 10 мг ДНК, которые вводили посредством

внутримышечной (в/м) инъекции после электропорации (ЭП) с использованием устройства CELLECTRA® 2000, и доставляли каждые три недели в виде четырех доз, затем каждые 9 недель.

Химиолучевое лечение: Лучевую терапию (ЛТ) применяли по гипофракционированной схеме (40 Грей в течение трех недель)

Темозоломид (TMZ) одновременно с лучевой терапией (группы А и В), затем шесть поддерживающих (адьювант) циклов (только группа В)

[0188] Цемплимаб-gwlc (REGN2810) вводили в/в в дозе 350 мг каждые три недели (Q3W) в течение приблизительно 30 минут, начиная с дня 0, и продолжали до прогрессирования заболевания, как определено по неприемлемой токсичности в соответствии с iRANO, отзыва соглашения или смерти.

[0189] INO-5401 представляет собой смесь трех отдельных синтетических плазмид, которые нацелены на белки WT1, PSMA и hTERT. Каждую плазмиду вводили в дозе 3 мг ДНК в общем количестве 9 мг ДНК на дозу INO-5401. INO-5401 вводили в/в в день 0, неделю 3, неделю 6 и неделю 9, а затем каждые 9 недель после этого, и продолжали до прогрессирования заболевания, как определено в соответствии с iRANO, неприемлемой токсичности, отзыва соглашения или смерти. INO-9012 представляет собой синтетическую плазмиду, которая экспрессирует ИЛ-12 человека, и ее вводят в дозе 1 мг ДНК в/в вместе с INO-5401. Общая доза ДНК в каждой дозе INO-5401+INO-9012, при смешивании и введении вместе, составляла 10 мг. INO-5401 (по 3 мг плазмид hTERT, WT-1 и PSMA) в сочетании с 1 мг INO-9012 (ИЛ-12), что в целом составляет 10 мг ДНК, которые вводили посредством внутримышечной (в/м) инъекции после электропорации (ЭП) с использованием устройства CELLECTRA® 2000, и доставляли каждые три недели в виде четырех доз, затем каждые 9 недель.

[0190] Все субъекты получали в общем 40 Грей в виде 15 фракций (три недели).

[0191] Гипофракционированную лучевую терапию (hfЛТ) начинали не позднее чем через 42 дня после хирургического вмешательства.

Лучевую терапию осуществляли в течение трех недель.

[0192] Все пациенты получали TMZ независимо от статуса метилирования MGMT, если клинически не противопоказано, во время лучевой терапии. TMZ вводили при 75 мг/м² раз в сутки перорально в течение 21 дня подряд (7 дней в неделю в течение трех недель) в комбинации с терапией hfЛТ.

[0193] После лучевой терапии субъекты с метилированным промотором MGMT (группа В) продолжали поддерживающую терапию с помощью TMZ в начальной дозе 150 мг/м²/сутки в течение 6 циклов в первые 5 дней 28-дневного цикла (5 дней «лечение», 23 дня «отдых») с повышением в каждом поддерживающем цикле на 50 мг/м²/доза до максимум 200 мг/м²/доза в отсутствие гематологической токсичности. Поддерживающий (адьювантный) TMZ начинали давать приблизительно через четыре недели после последней дозы ЛТ ($\pm$ 3 дня) и последующего восстановления количества клеток периферической крови в соответствии с рекомендациями по лечению с помощью TMZ.

Дозу определяли с использованием фактической площади поверхности тела (BSA), рассчитанной в квадратных метрах в начале каждого цикла лечения.

[0194] Суточную дозу округляли до ближайших 5 мг.

[0195] *Оценки эффективности/Конечные точки ELISpot*

[0196] ELISpot применяли для получения количественной меры того, присутствуют ли антиген-специфичные Т-клетки в образце мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК). МКПК отбирали у субъектов в недели исследования 0, 3, 6, 9, 12 и 24 и анализировали с помощью ELISpot ИФН- γ . При сборе данных через 12 месяцев показаны антиген-специфичные пятнообразующие единицы (ПОЕ) для ИФН γ на миллион МКПК от до (перед) и до наивысшей (максимальной) величины после лечения с помощью INO-5401 и цемиплимаба-gwlc от 8 субъектов с образцом до недели 24. Каждый субъект представлен открытым кружком, полосы представляют среднее. Различие от до лечения до максимального значения, дельта, показано для каждого графика для антигена, а также вместе для 11 субъектов, которых подвергали анализу, и для 8 с образцами, доступными до 24 недели. При сборе данных через 18 месяцев показаны антиген-специфичные пятнообразующие единицы (ПОЕ) для ИФН γ на миллион МКПК от до (перед) и до наивысшей (максимальной) величины после лечения с помощью INO-5401 и цемиплимаба-gwlc от 39 субъектов. Каждый субъект представлен открытым кружком, полосы представляют среднее. Различие от до лечения до максимального значения, дельта, показано для каждого графика для антигена, а также вместе для 39 субъектов. INO-5401 представляет собой сумму WT1, PSMA и hTERT. Коробчатые диаграммы простираются от 25-ого до 75-ого перцентиля с горизонтальной линией на медиане и «+» на среднем значении.

[0197] *Концентрация литических гранул*

[0198] Определение концентрации литических гранул осуществляли для выявления статуса активации и литического потенциала антиген-специфических Т-клеток, присутствующих в образцах МКПК, собранных от субъектов в недели исследования 0, 3, 6, 9, 12 и 24. МКПК стимулировали с использованием перекрывающихся пептидных библиотек для антигенов INO-5401 (hTERT, PSMA и WT1) или соответствующих контролей в отсутствие любых экзогенных цитокинов. Через 5 дней клетки окрашивали антителами и оценивали с помощью проточной цитометрии. Встречаемость живых антиген-специфичных, активированных (CD38+) CD3+CD8+ Т-клеток с литическим потенциалом (экспрессирование гранзима А, перфорин) от величины до лечения (до) до наивысшей величины (максимальной) после лечения с использованием INO-5401 и цемиплимаба-gwlc от 8 субъектов определяли во время сбора данных через 12 месяцев и от 29 субъектов во время сбора данных через 18 месяцев.

[0199] *Оценка безопасности*

[0200] Побочные явления (АЕ), классифицированные в соответствии с Общими критериями токсичности для нежелательных явлений (СТСАЕ) версии 4.03, классифицированными по классу системы органов, предпочтительному термину, тяжести и связи с лечением исследования; и клинически значимыми изменениями лабораторных параметров безопасности относительно исходного уровня.

[0201] Вводное исследование по изучению безопасности осуществляли с использованием схемы Rolling 6, которая вовлекает до шести субъектов в каждую группу (А и В в общем до 12 субъектов). Набор был ступенчатым с периодом ожидания длительностью одна неделя между набором первого и второго субъекта и снова между вторым и третьим субъектом в каждой группе. Каждого субъекта оценивали до 9 недели. К 9 недели субъект получил три дозы REGN2810, три дозы INO-5401+INO-9012 и завершил ЛТ.

[0202] Когда первые три субъекта из этих шести в каждой группе завершили оценки 9 недели в отсутствие ограничивающей дозу токсичности (DLT), следующий обзор всех доступных данных по безопасности от этих пациентов, полученных от медицинских работников, назначаемых спонсором и Regeneron Pharmaceuticals, и координирование с главным исследователем, набор в указанную группу начинается в полном объеме. Однако, если до первых трех субъектов в каждой группе, завершающей неделю 9, у одного субъекта из первых шести в той группе будет наблюдаться DLT, то набор должен был ограничиваться шестью субъектами в указанной группе, до того момента, когда все шесть субъектов достигли 9 недели и были оценены относительно DLT.

[0203] Если у второго субъекта среди первых 6 наблюдался DLT в той же группе за первые 9 недель, набор в указанную группу был остановлен, и медицинский наблюдатель, назначаемый спонсором, в дополнение к главному исследователю (PI) и исследователю(-ям) в месте(-ах) пребывания субъекта, будут обсуждать указанный случай и решать, необходимо ли модифицировать дозу лекарственного средства исследования или сопутствующего лекарственного средства (ЛТ/TMZ) в указанной группе или приостановить дополнительное вовлечение в указанную группу. Если необходимо осуществлять изменение в протокол, вовлечение необходимо было только возобновить после исправления протокола и подтверждения исправленного протокола с помощью IRB.

[0204] DLT определяют как:

Негематологическая токсичность

Увеит ≥ 2 степени.

Негематологическая токсичность ≥ 3 степени; за исключением:

Тошнота, рвота или диарея 3 степени, если только не является непрерывной (длительность >7 дней) несмотря на максимальную степень поддерживающей терапии, как предписано лечащим врачом.

Нарушение лабораторных показателей ≥ 3 степени, которые рассматриваются клинически незначимыми и не отвечают критериям НЯ.

Реакции, связанные с инфузией, 3 степени, которые отвечают медицинскому лечению.

Нежелательные явления, связанные с иммунной системой, 3 степени (IRAE), отличные от увеита, которые улучшаются в пределах 14 дней до степени ≤ 2 с медицинским лечением (включая лечение с помощью стероидов).

Гематологическая токсичность

Нейтропения 4 степени > 7 дней

Тромбоцитопения 4 степени или тромбоцитопения 3 степени с кровотечением

Фебрильная нейтропения ≥ 3 степени (лихорадка $\geq 38,5^\circ\text{C}$ с абсолютным числом нейтрофилов $[\text{АЧН}] < 1000/\text{мм}^3$) или нейтропения ≥ 3 степени с задокументированной инфекцией.

[0205] Явления, которые лечащий исследователь считает связанными с лежащей в основе опухолью, совместно вводимым препаратом или коморбидным явлением, и явления, связанные с терапией лечения (INO-5401, INO-9012 или REGN 2810), но по меньшей мере вероятно связанные или с темозоломидом, или с ЛТ, не рассматривались как DLT. Для пациентов, у которых наблюдался DLT, было прекращено дальнейшее лечение исследования, и они были введены в фазу последующего наблюдения после исследования. Нежелательные явления, которые отвечают критериям DLT, но осуществляются вне окна DLT, классифицированы как неприемлемые НЯ, и лечения исследования необходимо было прекратить.

[0206] После вводного периода изучения безопасности, если в любой момент курса этого клинического исследования, $\geq 30\%$ субъектов в любой группе ощущали дозоограничивающую токсичность, по-видимому, связанную с исследуемым лекарственным средством (средствами), используемым в исследовании, зачисление в одну или обе группы должно быть остановлено, и медицинский наблюдатель, в дополнение к главному исследователю (PI) и исследователю(-ям) в месте(-ах) нахождения субъектов должны будут обсудить профиль безопасности лекарственного средства (средств) исследования, и необходимо было принять решение, модифицировать ли дозу лекарственного средства исследования или сопутствующего лекарственного средства (ЛТ/TMZ) в одной или более группах или приостановить последующее зачисление в одну или обе группы. Если необходимо осуществлять изменение в протокол, набор необходимо было только возобновить после исправления протокола и подтверждения исправленного протокола с помощью IRB.

[0207] *Медицинские и клинические оценки*

[0208] Сопутствующие медицинские препараты собирали от момента подписания ICF и во все последующие визиты исследования до прекращения исследования.

[0209] Оценку всех НЯ осуществляли от времени подписания ICF и до 30 дней после последней дозы INO-5401+INO-9012 или REGN2810, смотря что позже, за исключением AESI, и SAE, как определено в этом протоколе, которые необходимо было получать до 6 месяцев после последней дозы INO-5401+INO-9012 или REGN2810, смотря

что позже. НЯ оценивали с использованием CTCAE NCI версии 4.03.

[0210] *Физические оценки*

[0211] Полный осмотр, в том числе полный неврологический осмотр (оценка черепно-мозгового нерва, глубокий сухожильный рефлекс, мышечная сила и чувство) и статус по шкале Карновского (KPS), проводили каждые 3 недели.

[0212] *Медицинская оценка реакций после лечения*

[0213] В день 0 определяли показатели жизненно-важных функций до лечения с помощью REGN2810 и INO-5401+INO-9012, в конце инфузии REGN2810 и каждые 30 минут в течение первых 4 часов после инфузии REGN2810, а также через 30 минут после инъекции INO-5401+INO-9012 с помощью ЭП. Во время остальных визитов исследователь оценивал локальные и системные реакции в течение 30 минут после каждого лечения (REGN2810 и/или INO-5401+INO-9012) и в указанные визиты в соответствии со схемой событий.

[0214] *Показатели жизненно-важных функций*

[0215] Показатели жизненно-важных функций, в том числе температуру тела, интенсивность дыхания, кровяное давление и частоту сердечных сокращений, измеряли во все визиты лечения исследования.

[0216] *Масса, высота и индекс массы тела*

[0217] Массу (кг) и высоту (см) регистрировали во время скринингового визита. Массу регистрировали в каждый дополнительный визит лечения от дня 0 до конца исследования.

[0218] Индекс массы тела оценивали в день 0, недели 3, 6, 9, 18 и каждые 9 недель после недели 18, тогда как субъект получал процедуру ЭП, на фоне необходимости оценить калибр иглы.

[0219] *ЭКГ в 12 отведениях*

[0220] ЭКГ осуществляли при скрининге за 28 дней до дня 0 для всех субъектов для определения пригодности субъекта. Аномальные ЭКГ необходимо было интерпретировать как клинически значимые или клинически не значимые. Аномальные ЭКГ при скрининге необходимо было обсудить с медицинским наблюдателем для определения пригодности субъекта.

[0221] *Тест на беременность*

[0222] Для женщин со способностью к деторождению был получен отрицательный результат теста на беременность в сыворотке (тест должен иметь чувствительность по меньшей мере 25 мМЕ/мл) при скрининговом визите и до каждого введения INO-5401+INO-9012 и REGN2810. Если в любой момент тест на β -ХГЧ (беременность) был положительным, указывая на то, что субъект является беременной, не применяли никакого дополнительного лечения исследования, но субъект должна была придерживаться длительности исследования и далее для определения результата беременности (по соглашению с субъектом).

[0223] *Лабораторные оценки*

[0224] Образцы крови собирали, как указано в Схеме событий исследования.

[0225] Скрининг лабораторных показателей можно проводить в визит № 1 (день 0), если они происходят в течение 7 дней от дня 0. В противном случае все лабораторные показатели, связанные с любым визитом в процессе лечения (ОАК и биохимия), получали не более чем за 72 часа до лечения и рассматривались/оценивались исследователем до лечения.

Общий анализ крови (ОАК) должен включать:

Число лейкоцитов (WBC) с дифференциалом

Число эритроцитов (RBC)

Гемоглобин, гематокрит

Число тромбоцитов

Биохимические исследования сыворотки должны включать:

Уровень глюкозы

Уровень альбумина

Общий белок

SGPT (сывороточная глутамат-пируват трансаминаза; АЛТ)

SGOT (сывороточная глутамат-оксалоацетат трансаминаза; АСТ)

Уровень щелочной фосфатазы

Билирубин (общий)

Конъюгированный билирубин

BUN (азот мочевины крови)

Кальций

Креатинин

Электролиты (натрий, калий, хлорид, диоксид углерода или гидрокарбонат)

Уровень липазы

Уровень амилазы

СРК

Оценки, которые нужно выполнить только при скрининге:

Скрининговый тест на ВИЧ (иммунохимический анализ с антителами); или документирование этих результатов в медицинскую карту;

Серологические исследования на гепатит В: HBsAg (поверхностный антиген к гепатиту В); или документирование этих результатов в медицинскую карту;

Иммунохимический анализ с антителами к гепатиту С; или документирование этих результатов в медицинскую карту;

Общий анализ мочи, в том числе удельная плотность, глюкоза, кровь и кетоны;

Активированное частичное тромбопластиновое время (aPTT), INR.

[0226] Оценки иммуногенности периферической крови

[0227] Были получены образцы цельной крови и сыворотки. Образцы для иммунологического анализа отбирали при скрининге, в день 0, недели 3, 6, 9, 12, а затем каждые 12 недель (недели 24, 36, 48 и т.д.).

[0228] Т-клеточные ответы оценивали с использованием антиген-специфического анализа ELISpot для ИФН- γ с использованием перекрывающихся пептидных библиотек, охватывающих антигены INO-5401 (hTERT, WT-1 и PSMA). Дополнительно, оценивали ответы РВМС против набора известных антигенных эпитопов, выделенных из цитомегаловируса, вируса Эпштейна-Барра и гриппа (CEF), чтобы установить общее состояние клеточного иммунитета во время исследования.

[0229] Т-клеточные ответы оценивали посредством проточной цитометрии с использованием перекрывающихся пептидных библиотек, охватывающих антигены INO-5401. Анализы с помощью проточной цитометрии могут включать изучение влияния иммунотерапии на способность Т-клеток субъекта проявлять фенотипические маркеры, связанные с цитолитическим потенциалом, активацией или истощением после стимуляции пептидами, соответствующими антигенам INO-5401. Маркеры, используемые для этой цели, включают CD3, CD4, CD8, CD137, CD69, CD38, PD-1, гранулизин, гранзим А, гранзим В и перфорин. Эти маркеры могут изменяться соотносительно с новыми данными, которые становятся доступными, что является информативным для этой оценки.

[0230] Оценка наличия клеток, которые, как известно, играют роль в иммунной супрессии, может осуществляться посредством применения проточной цитометрии. Анализы с помощью проточной цитометрии могут включать изучение влияния этих клеток на индукцию или увеличение иммунного ответа после иммунотерапии. Маркеры, используемые для этой цели, включают CD3, CD16, CD19, CD20, CD56, CD11b, CD14, CD15, CD33 и HLA-DR. Эти маркеры могут изменяться соотносительно с новыми данными, которые становятся доступными, что является информативным для этой оценки.

[0231] Секвенирование TCR из МКПК для оценки разнообразия и предполагаемой антигенной специфичности осуществляли на цельных МКПК с предварительной *in vitro* стимуляцией или без нее.

[0232] Гуморальные ответы оценивали посредством применения твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) или других способов детектирования секреции антиген-специфичных антител и/или применения проточной цитометрии для фенотипирования В-клеток. Анализ ТАА-специфичных Т-клеток можно осуществлять посредством выделения этих клеток на основании экспрессии таких маркеров, как CD137 или другие. При выделении секвенирование РНК можно осуществлять, чтобы понять уникальный транскриптом этих клеток. Анализ цитокиновых профилей из периферической крови может быть осуществлен с использованием оценочной платформы, такой как Luminex.

[0233] Иммунологическое исследование ткани

[0234] Иммунная инфильтрация и наличие иммуномодулирующих факторов в неопластической ткани до и после введения доз INO-5401 исследовали посредством ряда оценок, которые могут включать:

Экспрессию PD-L1 и онкопротеинов опухоли и инфильтрующие иммунные клетки с помощью ИНС, иммунофлуоресценции (ИФ) или секвенирования генома

Характеризацию инфильтрата TIL (CD3, CD8, CD4) с помощью RNAScope

Оценку Treg опухоли, популяции миелоидных иммунных супрессивных клеток и экспрессии Т-клеточных иммунных контрольных точек с помощью RNAScope

Секвенирование Т-клеточного рецептора в удаленной опухолевой ткани для определения корреляции с любыми ранее существующими клональными Т-клеточными популяциями с изменениями в разнообразии Т-клеток в периферической крови, связанными с лечением

[0235] Биомаркеры

[0236] Оценки биомаркеров выполняли из образцов периферической крови и тканей, упомянутых выше и собранных в соответствии с инструкциями, приведенными в лабораторном руководстве. Иммуногистохимическую оценку экспрессии белков hTERT, WT1 и/или PSMA в образцах тканей от вовлеченных субъектов осуществляли пропорционально наличию достаточного количества образца и продолжительной уместности, что подтверждается доступными данными. Статус IDH-1 необходимо было определять на опухолевой ткани, если она доступна. Сигнатуры микроРНК в плазме и/или сыворотке крови необходимо было оценивать, чтобы определить сигнатуры, специфичные к заболеванию и/или терапии, которые предсказывают ход заболевания и/или ответ на лечение с помощью INO-5401, а также изменения, запускаемые INO-5401. В этом способе можно использовать секвенирование РНК.

[0237] Можно осуществлять оценку опухолевых клеток в кровотоке, эндотелиальных клеток в кровотоке и/или раковых клеток, ассоциированных с макрофаг-подобными клетками из периферической крови в кровотоке. Для этой цели можно применять фильтры для гель-фильтрации, и маркеры могут включать GFAP, CD45, виментин, PD-L1, CD146, TIE-2 и возможно другие.

[0238] Клинические оценки

[0239] Клинические оценки ответа заболевания проводили во все визиты исследования (что оценивалось по клиническим признакам и симптомам прогрессирования заболевания). МРТ для прогрессирования заболевания получали для всех субъектов через 9 недель после дня 0 (± 3 дня) и каждые 3 месяца после этого, если только не наблюдалось псевдопрогрессирование по оценкам iRANO. В этом случае необходимо было сделать повторный подтверждающий МРТ-скан через 3 месяца после подозреваемого псевдопрогрессирования.

[0240] ОБЩАЯ ВЫЖИВАЕМОСТЬ

[0241] Для всех субъектов прослеживали выживаемость. После завершения визита в конце курса лечения требовалась документация о состоянии выживаемости каждые 6 месяцев и в 18 месяцев после дня 0. Следующие способы были приемлемы для документирования выживаемости: телефонный звонок; персональный контакт; заказное письмо; или документирование визита, подтвержденного в медицинской карте.

[0242] ПРОГРЕССИРОВАНИЕ

[0243] Прогрессирование оценивали с помощью как RANO, так и iRANO. За

пациентами, которые отсеялись до прогрессирования, наблюдали касательно прогрессирования и выживаемости.

[0244] RANO И iRANO: ОЦЕНКА (ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО) ОТВЕТА В НЕЙРООНКОЛОГИИ

[0245] В этом исследовании применяли оба критерия RANO и iRANO. Критерии радиологической оценки для нейроонкологии (RANO) были предложены в 2010 г. для улучшения оценки развития трудностей визуализации для субъектов со злокачественной глиомой [Wen, et al., J Clin Oncol 2010,28:1963-1972.]. Критерии RANO обеспечивают руководство для определения псевдопрогрессирования, которое случается у около 10-20% субъектов с впервые поставленным диагнозом GBM после радиотерапии и терапии TMZ. Клиническая польза, включая длительную выживаемость и регрессию опухоли, все еще может происходить после исходного прогрессирования заболевания или после появления нового очага. Критерии iRANO были разработаны многонациональной и многопрофильной группой экспертов в нейроонкологии-иммунотерапии (рабочая группа RANO), которая установила руководство для определения прогрессирования опухоли в иммунотерапевтических исследованиях в нейроонкологии [Okada, et al. Lancet Oncol 2015,16:e534-542; Reardon, et al. Neuro Oncology 2014, 16 (Suppl 2)]. Рабочий комитет iRANO рекомендует для субъектов с установленным ранним прогрессированием (лечение с использованием иммунотерапии менее 6 месяцев), включая субъектов, у которых развиваются новые очаги, но у которых нет значительного нейрологического спада, подтверждать радиографическое прогрессирование посредством последующей визуализации через 3 месяца после исходного радиографического подтверждения прогрессирования заболевания для снижения вероятности преждевременного обнаружения прогрессирования заболевания у субъектов с псевдопрогрессированием или отсроченным ответом. Среди таких субъектов те, у кого подтверждено дальнейшее радиографическое прогрессирование на основании сравнения со сканом, на котором впервые был обнаружен факт прогрессирования заболевания, или у кого развился значительный клинический спад в любой момент, были классифицированы как имеющие прогрессирующее заболевание с датой прогрессирования заболевания, датированной обратно первой датой, когда субъекты соответствовали критериям радиографического прогрессирования.

[0246] В этом исследовании исследователи использовали критерии iRANO, когда решали останавливать применение лекарственного средства исследования вопреки подозреваемому прогрессированию в соответствии с критериями для прогрессирования RANO и iRANO.

[0247] | ШКАЛА NANO: НЕЙРОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА В НЕЙРООНКОЛОГИИ

| Шкалу NANO использовали только в сочетании с критериями iRANO и

[0248] RANO.

[0249] Хотя обе шкалы RANO и iRANO указывают, что клинический статус

должен быть включен в общую оценку, никакая из шкал не обеспечивает специфические параметры, как это осуществить. Международная группа нейроонкологов составила черновик критериев NANO в качестве цели и количественной меры неврологической функции, поддающейся оценке во время рутинного осмотра. Шкала NANO включает оценку восьми соответствующих неврологических доменов на основании прямого наблюдения/тестирования, проведенного во время обычных посещений учреждения. Показатель определяет критерии для домен-специфичных и общих показателей ответа, прогрессирования, стабильного заболевания и «не оценено». Эти критерии обеспечивают подробную и объективную меру неврологической функции, которую можно оценить в клинических исследованиях и терапевтических мероприятиях [Nayak, et al., *Neuro Oncol* 2017,19:625-635]. Это исследование включало оценку применения шкалы NANO, когда оценивают RANO и iRANO.

[0250] НЯ определяют как любое нежелательное медицинское явление у пациента или субъекта клинического исследования, которому вводят фармацевтический продукт и который необязательно должен иметь причинную взаимосвязь с этим лечением. Следовательно, НЯ может представлять собой любой неблагоприятный и ненамеренный признак (включая аномальные лабораторные показатели, например), симптом или заболевание, временно связанное с применением медицинского продукта, рассматриваемого или нет в связи с медицинским продуктом.

[0251] В этом исследовании за НЯ наблюдали, их классифицировали и обобщали. Медицинское патологическое состояние/заболевания, имеющиеся до начала исследуемого препарата, рассматривали относительно НЯ только, если они ухудшались после начала лечения исследования. Неожиданное НЯ представляет собой не идентифицированное в эталонных документах по безопасности исследуемых лекарственных средств или соответствующих разделах IB. На протяжении курса исследования за всеми НЯ наблюдали и сообщали в ИРК НЯ, в том числе серьезность, тяжесть события, предпринятые действия и взаимосвязь с IP. За НЯ следили до излечения или стабильности, и выход был задокументирован в соответствующей ИРК. Все НЯ были записаны с помощью стандартной медицинской терминологии, а не с собственных слов субъекта.

[0252] НЯ включают следующее:

Осложнения до или после лечения, которые возникают в результате процедуры, утвержденной в протоколе.

Любое существующее патологическое состояние, которое становится более тяжелым или изменения природы в процессе или как результат фазы исследования лекарственного препарата.

Осложнения беременности. НЯ не включают следующее:

Выполненные медицинские или хирургические процедуры (например, хирургическое вмешательство, эндоскопия, удаление зуба, переливание); патологическое состояние, которое приводит к указанной процедуре может рассматриваться НЯ.

Заболевания, патологические состояния или аномалии лабораторных показателей, присутствующих или обнаруженных до скринингового посещения, которые не ухудшаются.

Ситуации, когда нежелательное медицинское явление не происходит (например, госпитализация на плановую операцию, госпитализация по социальным соображениям и/или ради удобства).

Передозировка исследуемого лекарственного средства без клинических последствий.

Любое медицинское патологическое состояние или клинически значимый аномальный лабораторный показатель со временем возникновения до подписания ФИС не является НЯ, если оно не ухудшается. Это задокументировано в медицинской карте ИРК.

Неосложненная беременность.

Индуктированное искусственное прерывание беременности без медицинской причины (задокументировано в ИРК беременности).

[0253] Регистрировали все НЯ, которые произошли от момента подписания соглашения и в течение всего исследования и через 30 дней (6 месяцев для НЯ, связанных с иммунной системой; irAE) после последней дозы.

[0254] Серьезное нежелательное явление (SAE) представляет собой НЯ, которое соответствует одному из следующих состояний:

Смерть в течение периода наблюдения, определенного протоколом (исключая смерть из-за прогрессирования заболевания);

Немедленно угрожает жизни (например, у субъекта был по мнению исследователя непосредственный риск смерти от явления, когда оно произошло);

Требует госпитализации субъекта или пролонгирования существующей госпитализации в течение периода наблюдения, определяемого протоколом (в том числе любая ночевка в больнице независимо от длительности пребывания, даже если госпитализация является только мерой предосторожности, которая позволит длительное наблюдение). Однако госпитализация (в том числе госпитализацию для рекомендуемой процедуры) для существующего патологического состояния, которое не ухудшается, не относится к SAE;

Приводит к постоянной или значимой неспособности/недееспособности (значимое нарушение чьей-либо способности осуществлять функции нормальной жизни);

Приводит к наследственной аномалии или врожденному пороку развития;

В противном случае важное медицинское явление, которое может не приводить к смерти, быть угрожающим жизни или требовать проведения госпитализации, но на основании адекватного медицинского суждения может подвергать опасности субъекта и может требовать медицинского или хирургического вмешательства для профилактики одного из исходов, перечисленных выше. Примеры таких медицинских явлений включают:

Аллергический бронхоспазм, который требует интенсивного лечения в пункте

медицинской помощи или

дома;

Гиперчувствительность немедленного типа или судороги, которые не приводят к госпитализации;

Развитие зависимости от лекарственных средств или лекарственной зависимости.

Следует отметить следующие уточнения

SAE:

Смерть представляет собой исход НЯ, а не НЯ само по себе.

Субъект может не находиться на IP, когда возникло нежелательное явление.

Дозирование может быть представлено как циклы лечения или временно прерываться до начала SAE, но может давать вклад в нежелательное явление.

«Угрожающий жизни» означает, что у субъекта есть непосредственный риск смерти от

нежелательного явления, когда оно произошло. Это не включает явление, которое может приводить к смерти, если оно произошло с большей тяжестью.

Осложнения, которые происходят в процессе госпитализаций, представляют собой НЯ. Если осложнение продлевает госпитализацию, оно представляет собой SAE.

Госпитализация означает, что субъект формально был принят в больницу по медицинским причинам на любой период времени.

[0255] Исследователь сделал попытку установить диагноз нежелательного явления на основании признаков, симптомов и/или другой клинической информации. В таких случаях диагноз необходимо было задокументировать как НЯ и/или SAE, а не отдельные признаки/симптомы.

[0256] СТАТИСТИЧЕСКИЙ И АНАЛИТИЧЕСКИЙ ПЛАН

[0257] Это несравнительное (INO-5401+INO 9012 в комбинации с REGN2810), немаскированное, многоцентровое исследование у субъектов с впервые диагностированной GBM с опухолью с неметилированным промотором MGMT (группа A) и с опухолью с метилированным промотором MGMT (группа B). Первичный анализ исследования относительно безопасности и переносимости INO-5401 и INO-9012 в комбинации с REGN2810. Вторичный анализ исследования оценивал эффективность INO-5401 и INO-9012 в комбинации с REGN2810 с использованием OB18 и с использованием биомаркеров иммуногенности (ELISpot/проточная цитометрия/секвенирование TCR/антиген-специфичные гуморальные ответы).

[0258] Исследовательские анализы касаются коррелятивной ассоциации между клиническим ответом и генетикой и биомаркерами опухоли. Выживаемость без прогрессирования, как оценено с помощью критериев RANO (Оценка ответа в нейроонкологии), и общую выживаемость также оценивали в качестве исследовательских конечных точек.

[0259] СТАТИСТИЧЕСКИЕ ГИПОТЕЗЫ

[0260] Каждая группа в этом исследовании имела отдельную независимую

гипотезу для оценки вторичной конечной точки общей выживаемости через 18 месяцев (ОВ18). Настоящий эффект лечения для ОВ18 определяют как p , где p обозначает истинную вероятность ОВ18 для популяции в каждой группе. Затем для субъектов с неметилированным промотором MGMT (группа А), гипотеза старшинства над историческим контролем представляет собой: $H_0: p \leq 0,45$ в сравнении с $H_1: p > 0,45$, а для субъектов с метилированным промотором MGMT (группа В), гипотеза старшинства над историческим контролем представляет собой: $H_0: p \leq 0,60$ в сравнении с $H_1: p > 0,60$.

[0261] АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ/НАБОР ДАННЫХ

[0262] Анализы популяций представляли собой:

Модифицированная популяция всех субъектов, получающих лечение, (mITT) включает всех субъектов, которые получают по меньшей мере одну дозу лечения исследования. Популяция mITT будет применяться для анализа вторичной конечной точки ОВ18, а также исследовательских конечных точек эффективности, в том числе ОВ и ВБП.

Популяция по протоколу (PP) состоит из субъектов, которые получают по меньшей мере три из первых четырех доз лечения исследования и которые не нарушают протокол. Анализ популяции PP будет рассматриваться как поддерживающий соответствующую популяцию mITT для анализа эффективности. Субъекты, исключенные из популяции PP, будут идентифицированы и задокументированы до закрытия базы данных исследования. Набор анализа безопасности включает всех субъектов, которые получают по меньшей мере одну дозу или INO-5401, или INO-9012, или лечения исследования REGN2810. Субъектов будут анализировать касательно лечения, которое они получали.

[0263] ОПИСАНИЕ СТАТИСТИЧЕСКИХ СПОСОБОВ АНАЛИЗА ПЕРВИЧНОЙ КОНЕЧНОЙ ТОЧКИ БЕЗОПАСНОСТИ

[0264] Первичные анализы для этого исследования представляют собой анализы безопасности возникших во время лечения нежелательных явлений (TEAE) и клинически значимые изменения лабораторных параметров безопасности относительно исходного уровня.

[0265] TEAE определяют для этого исследования как любые НЯ, которые происходят в или после дня 0 вплоть до 30 дней после последней дозы лечения исследования за исключением irAE, AESI и SAE, которые могут происходить вплоть до 6 месяцев после последней дозы лечения исследования. Все TEAE будут обобщены для субъектов в наборе анализа безопасности по частоте, процентной доле и 95%-ым доверительным интервалам Клоппера-Пирсона в каждой группе и в обеих группах вместе.

[0266] Эти частоты будут представлены в общем и отдельно по номеру дозы и будут отображать в общем по классу системы органов и по предпочтительному термину процент пораженных субъектов. Дополнительные частоты будут присутствовать по отношению к максимальной тяжести и к наиболее сильной взаимосвязи с лечением исследования. Неоднократное возникновение одного и того же НЯ у одного субъекта будет считаться только один раз, следуя подходу наихудшего случая по отношению к

тяжести и взаимосвязи с лечением исследования. Все серьезные TEAE будут также обобщены, как указано выше.

[0267] Любые НЯ с утерянными или не полностью известными датами начала/окончания будут включены в полное обобщение НЯ, но исключены из расчета длительности НЯ. Длительность НЯ будет рассчитана как дата окончания НЯ - дата начала НЯ+1 день. AE, irAE, AESI и SAE, которые не являются TEAE или серьезными TEAE, будут присутствовать в списках.

[0268] Переменные лабораторных ответов будут описательно обобщены в соответствии с моментом времени и как изменения относительно исходного уровня, включая 95%-ые доверительные интервалы. Также будут представлены смещения относительно исходного уровня в соответствии с CTCv4. Лабораторные величины, которые считали клинически значимыми, будут присутствовать в списках.

[0269] Все из анализов безопасности будут проведены на субъектах в наборе анализа

безопасности.

[0270] АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ КОНЕЧНОЙ ТОЧКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ

[0271] Вторичная конечная точка OV18 обобщена с использованием частоты, процентной доли, 95%-ого доверительного интервала Клоппера-Пирсона и p-величины для каждой группы. Субъектов считают перенесшими заболевание, если они, как определено, остались живыми через 18 месяцев (548 дней).

[0272] Приходят к заключению, что наблюдается превосходство, если односторонняя p-величина составляет $< 0,025$. OV18 анализировали на субъектах как в mITT, так и в популяции по протоколу, и все субъекты mITT/PP были включены в знаменатель OV18.

[0273] Клеточные и гуморальные иммунные ответы будут представлены с использованием описательной статистики в каждый момент времени и для изменений относительно исходного уровня.

[0274] АНАЛИЗ ДРУГИХ ДАННЫХ О БЕЗОПАСНОСТИ

[0275] Процент субъектов с аномальными показателями в анамнезе будут обобщены по системе организма и предпочтительному термину для каждой группы для субъектов в популяции изучения безопасности.

[0276] Предшествующие лекарственные препараты представляют собой те, которые были использованы до начала исследования (через 28 дней до дня 0). Сопутствующие лекарственные препараты представляют собой те, которые используются в курсе исследования (в или после дня 0). Неполные даты начала приема предшествующих и сопутствующих лекарственных препаратов будут приняты за наиболее раннюю дату, сопоставимую с неполной датой. Неполные даты окончания приема предшествующих и сопутствующих лекарственных препаратов будут приняты за наиболее позднюю дату, сопоставимую с неполной датой. Данные для всех предшествующих и сопутствующих лекарственных препаратов будут обобщены с

процентными долями для каждой группы для субъектов в популяции изучения безопасности.

[0277] Измерения показателей жизненно важных функций, а также изменения относительно исходного уровня будут описательно обобщены по моменту времени для каждой группы для субъектов в наборе анализа безопасности. Процент субъектов с ненормальными показателями физического осмотра в каждый момент времени будет описательно обобщен в общем и в каждой группе по системам организма для субъектов в наборе анализа безопасности.

[0278] ЭКГ и серологический тест на вирусы при скрининге и тест на беременность в сыворотке в каждый момент времени будут описательно обобщены в общем и в каждой группе.

[0279] ФАРМАКОКИНЕТИКА

[0280] Фармакокинетика субъекта будет обобщена по группам и в общем для всех вовлеченных субъектов и будет включать количество и долю вовлеченных субъектов, количество и долю тех, кто получил каждую планируемую дозу, и количество тех, кто завершил исследование. Количество и доля субъектов, которые прекратили лечение, будет обобщена в целом и по причинам. Также будет представлено количество в каждой популяции анализа.

[0281] ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ И ДРУГИЕ ИСХОДНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

[0282] Данные о демографических и исходных характеристиках были описательно обобщены по группам для субъектов в наборе анализа безопасности.

[0283] ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ АНАЛИЗЫ

[0284] Выживаемость без прогрессирования, оцененная с помощью RANO (определено как время от дня 0 до даты смерти по любой причине или прогрессирования, смотря что возникнет первым) и ОВ (определено как время от дня 0 до даты смерти по любой причине) были обобщены с помощью статистических способов Каплана-Мейера в каждой группе и в общем. Субъектов оценивали относительно ВБП при отмене соглашения или в момент оценки последнего прогрессирования, когда, как считали, у субъекта не наблюдалось прогрессирования.

Субъектов, которые не были обозначены как умершие, оценивали относительно ОВ при отмене соглашения или в последний момент времени, когда было известно, что субъект жив. Выживаемость без прогрессирования и ОВ анализировали в популяциях mITT и по протоколу.

[0285] Исследование генетики опухоли и/или ответы биомаркеров были представлены с использованием описательной статистики в каждый момент времени и как изменения относительно исходного уровня для популяции mITT и для популяции по протоколу.

[0286] ОВ18, ВБП и ОВ моделировали с использованием логистических регрессионных моделей и моделей Соx РН относительно исследовательских ответов для изучения связей. Переменные исходного уровня, такие как демографические

характеристики пациентов или характеристики заболевания пациентов, были включены в модели, как возможные искажающие результаты факторы. Отдельно, клеточные и иммунные ответы были использованы в качестве каузальных переменных.

[0287] РЕЗУЛЬТАТЫ

[0288] Демографические характеристики вовлеченных в исследование пациентов представлены на **Фиг. 2** (Таблица демографических характеристик). Оценка транскриптов гена из опухолей при наличии диагноза подтверждала экспрессию антигенов, кодируемых INO-5401, и различный иммунный профиль генов. У 5 из 47 субъектов (811%) с доступной для оценки опухолью наблюдалась экспрессия транскрипта одного или более антигенов, связанных с опухолью, кодируемых INO-5401 (WT1, PSMA и hTERT). У 43 из 47 субъектов (89%) с доступной для оценки опухолью наблюдалась экспрессия транскрипта двух (2) или более антигенов, связанных с опухолью, кодируемых INO-5401 (WT1, PSMA и hTERT). У 19 из 47 субъектов (40%) наблюдалась экспрессия транскрипта всех трех антигенов, ассоциированных с опухолью. Ни у одного из субъектов не наблюдалась экспрессия PD-1 без сопутствующей экспрессии PD-L1. У 27 из 47 субъектов (57%) наблюдалась экспрессия PD-L1 без сопутствующей экспрессии PD-1. У 20 из 47 (43%) наблюдалась совместная экспрессия PD-1 и PD-L1. Нормализованные количества считывания транскрипта >1 считали «положительными».

[0289] *Получение MPT-изображений*

[0290] У нескольких пациентов наблюдалось псевдопрогрессирование с радиографическим проявлением прогрессирования на MPT без подтверждения опухоли при повторной биопсии. Изображения от иллюстративных пациентов увеличивают сигнал MPT в моменты времени после первой дозы INO-5401+INO-9012 и цемиплимаба-gwlc, что может свидетельствовать об отеке или опухоли. Биопсия нескольких пациентов демонстрирует связанные с лечением изменения с некрозом и смешанным воспалением; отсутствие митотической активности; и отсутствие доказательств жизнеспособной опухоли. Иллюстративные изображения от двух пациентов представлены на **Фиг. 3**.

[0291] ELISpot

[0292] ELISpot применяли для получения количественной меры того, присутствуют ли антиген-специфичные Т-клетки в образце мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК). МКПК отбирают у субъектов в недели исследования 0, 3, 6, 9, 12 и 24 и анализируют с помощью ELISpot ИФН- γ . При сборе данных через 12 месяцев показаны антиген-специфичные пятнообразующие единицы (ПОЕ) для ИФН γ на миллион МКПК от до (перед) и до наивысшей (максимальной) величины после лечения с помощью INO-5401 и цемиплимаба-gwlc от 8 субъектов с образцом до 24 недели (**Фиг. 4**). Каждый субъект представлен открытым кружком, полосы представляют среднее. Различие от до лечения до максимального значения, дельта, показано для каждого графика для антигена, а также вместе для 11 субъектов, которых подвергали анализу, и для 8 с образцами, доступными до 24 недели. INO-5401 представляет собой сумму WT1, PSMA и hTERT. Коробчатые диаграммы простираются от 25-ого до 75-ого процентиля с горизонтальной линией на

медиане и «+» на среднем значении. Результаты ELISpot подтверждают, что комбинация INO-5401 и цемиплимаба-gwlc является иммуногенной с величинами ИФН-g выше исходной линии для всех 3 антигенов у 5/11 субъектов и для по меньшей мере одного антигена у 9 субъектов, как показано на **Фиг. 4**.

[0293] Оценка периферических иммунных ответов после применения INO-5401 по группам при сборе данных через 18 месяцев выявила антиген-специфичные Т-клеточные ответы с помощью ELISpot для интерферона-гамма (продуцирование цитокинов в ответ на каждый компонент INO-5401). Результаты оценки периферических иммунных ответов после применения INO-5401 с помощью ELISpot по группам представлены на **Фиг. 16А и 16В**. Изображены исходные величины от максимального момента времени после лечения. В группе А у 19/22 (86%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась величина ИФН-g выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (**Фиг. 16А**). В группе В у 16/17 (94%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась величина ИФН-g выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (**Фиг. 16В**).

[0294] *Концентрация литических гранул*

[0295] Определение концентрации литических гранул осуществляли для выявления статуса активации и литического потенциала антиген-специфических Т-клеток, присутствующих в образцах МКПК, собранных от субъектов в недели исследования 0, 3, 6, 9, 12 и 24. МКПК стимулировали с использованием перекрывающихся пептидных библиотек для антигенов INO-5401 (hTERT, PSMA и WT1) или соответствующих контролей в отсутствие любых экзогенных цитокинов. Через 5 дней клетки окрашивали антителами и оценивали с помощью проточной цитометрии. Частоты появления живых, антиген-специфических, активированных (CD38+) CD3+CD8+ Т-клеток с литическим потенциалом (экспрессирование гранзима А, перфорина) показаны от момента до лечения на исходном уровне (до) и до наивысшей величины (максимум) после лечения с помощью INO-5401 и цемиплимаба-gwlc от 8 субъектов для каждого антигена (**Фиг. 5А**). Каждый субъект представлен открытым кружком, полосы представляют среднее. Различие от величины до лечения до максимального значения, дельта, показано для каждого антигена, а также INO-5401 при сборе данных через 12 месяцев для 8 субъектов, которых подвергали анализу, (**Фиг. 5В**) и для 5/8 субъектов с образцами, доступными до 12 недели (**Фиг. 5С**). INO-5401 представляет собой сумму WT1, PSMA и hTERT. Коробчатые диаграммы простираются от 25-ого до 75-ого перцентиля с горизонтальной линией на медиане и «+» на среднем значении. У пяти субъектов наблюдалась частота появления активированных CD8+Т-клеток с литическим потенциалом (CD38+Prf+GrzA+) выше исходного уровня (до) к более чем одному антигену; у троих субъектов наблюдалась частота появления активированных CD8+Т-клеток с литическим потенциалом (CD38+Prf+GrzA+) выше исходного уровня ко всем трем антигенам. У троих субъектов не наблюдалось ответа выше исходного уровня к какому-либо антигену во все моменты времени.

[0296] Оценка периферических иммунных ответов после применения INO-5401 по группам при сборе данных через 18 месяцев выявила антиген-специфичные Т-клеточные ответы с помощью проточной цитометрии (увеличение антиген-специфичных CD8⁺ Т-клеток с литическим потенциалом). В группе А у 13/19 (68%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась частота появления CD38+GrzA+Prf⁺ CD8⁺ Т-клеток выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (**Фиг. 17А**). В группе В у 8/10 (80%) исследованных субъектов к тому моменту времени наблюдалась частота появления CD38+GrzA+Prf⁺ CD8⁺Т-клеток выше исходного уровня к одному или более антигенам INO-5401 (**Фиг. 17В**). Образцы собирали в недели Q3×4, а затем в недели Q12. Изображены исходные величины от максимального момента времени после лечения.

[0297] *Выживаемость без прогрессирования*

[0298] **Фиг. 6** иллюстрирует визуальное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы А, пациентов с неметилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Кривая демонстрирует вероятность события в определенный период времени. Вероятность события численно представлена на у-оси, а временной интервал на х-оси. Показанное событие представляет собой выживаемость без прогрессирования.

Выживаемость без прогрессирования представляет собой отсутствие прогрессирования заболевания в данный момент времени для данного субъекта.

[0299] **Фиг. 7** иллюстрирует визуальное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы В, пациентов с метилированным промотором гена Об- метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Кривая демонстрирует вероятность события в определенный период времени. Вероятность события численно представлена на у-оси, а временной интервал на х-оси. Показанное событие представляет собой выживаемость без прогрессирования. Выживаемость без прогрессирования представляет собой отсутствие прогрессирования заболевания в данный момент времени для данного субъекта.

[0300] **Фиг. 8** иллюстрирует визуальное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы А и группы В, пациентов с неметилированным или метилированным промотором гена Об-метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Кривая демонстрирует вероятность события в определенный период времени. Вероятность события численно представлена на у-оси, а временной интервал на х-оси. Показанное событие представляет собой выживаемость без прогрессирования. Выживаемость без прогрессирования представляет собой отсутствие прогрессирования заболевания в данный момент времени для данного субъекта.

[0301] **Фиг. 9** иллюстрирует табличное представление оценки выживаемости без прогрессирования по методу Каплана-Мейера через шесть месяцев (ВБП6) для группы А, группы В и обеих групп вместе. Представлены общее количество субъектов на группу, количество событий, оценка события (ВБП6) и 95%-ый доверительный интервал (ДИ),

при котором существует численная оценка события (ВБП6).

[0302] Подтвержденное прогрессирование заболевания (ПЗ, PD) определяют путем подтверждения последовательными сканами ПЗ в течение ≥ 4 недель от исходного события ПЗ или как прогрессирование в соответствии биопсией. Субъекты, которые завершили исследование по любой причине до 6 месяцев, отличной от ПЗ, были включены как подтвержденные события прогрессирования, в том числе два (2) субъекта в группе В, которые прекратили исследование в третью неделю (3) и отклонили длительное последующее наблюдение.

[0303] *Общая выживаемость*

[0304] Все анализы эффективности (ОВ12, ОВ18 и Каплан-Мейер) осуществляли для субъектов в модифицированной группе всех пациентов, получающих лечение (mITT), которую определяют как всех субъектов, которые получили по меньшей мере одну дозу планируемого лечения. Общую выживаемость через двенадцать месяцев (ОВ12) сводили в таблицу как долю субъектов, которые живы через 12 месяцев, от всех субъектов с риском смерти на момент начала исследования. Субъекты, которые выбыли из исследования, рассматривались как неблагоприятные исходы (т.е. смерти). Все субъекты в группе А, которые выбыли из исследования до 12 месяцев, также умерли до 12 месяцев последующего наблюдения. 95%-ые доверительные интервалы (ДИ) рассчитывали с использованием точного метода Клоппера-Пирсона. Общую выживаемость через восемнадцать месяцев (ОВ18) сводили в таблицу как долю субъектов, которые живы через 18 месяцев, от всех субъектов с риском смерти на начало исследования. 95%-ые доверительные интервалы (ДИ) рассчитывали с использованием точного метода Клоппера-Пирсона.

[0305] **Фиг. 10А** иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за двенадцать месяцев для группы А, для пациентов с неметилированным промотором гена О6- метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. **Фиг. 10В** иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за восемнадцать месяцев для группы А, для пациентов с неметилированным промотором гена О6- метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. Медианное последующее наблюдение в группе А составляет 17,8 месяцев. mITT включает любого субъекта, который получил ≥ 1 дозы терапии исследования. Затемнение представляет доверительную область на основании точечной оценки для выживаемости в указанный момент времени.

[0306] **Фиг. 11А** иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за двенадцать месяцев для группы В, для

пациентов с метилированным промотором гена Об- метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. **Фиг. 11В** иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за восемнадцать месяцев для группы В, для пациентов с метилированным промотором гена Об- метилгуанинметилтрансферазы в их опухолевых клетках. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси. Медианное последующее наблюдение в группе В составляет 15,6 месяцев. Проверено; два субъекта в группе В отказались от соглашения о последующем наблюдении на 3 недели. mITT включает любого субъекта, который получал ≥ 1 дозы терапии исследования. Затемнение представляет доверительные области на основании точечной оценки для выживаемости в указанный момент времени.

[0307] Фиг. 12 иллюстрирует визуальное представление оценки общей выживаемости по методу Каплана-Мейера за двенадцать месяцев для групп А+В вместе. Ступенчатая кривая демонстрирует возможность выживания вплоть до и вне конкретной временной точки. Вероятность выживаемости численно представлена на у-оси, а время выживаемости в днях на х-оси.

[0308] Фиг. 13 иллюстрирует данные об эффективности для общей выживаемости через 12 месяцев и 18 месяцев для группы А, для группы В и вместе. Фигура демонстрирует общее количество субъектов, которые, как сообщается, были живы через 12 месяцев и через 18 месяцев. Представлены общее количество субъектов, оценка события (ОВ12 или ОВ18) и 95%-ый доверительный интервал (ДИ), при котором существует численная оценка события (ОВ12 или ОВ18). 95%-ый ДИ рассчитывали с использованием точного метода Клоппера-Пирсона.

[0309] Данные о безопасности

[0310] Данные о безопасности были сведены в таблицу от субъектов, которые были членами группы анализа безопасности, определяемой как принимающей по меньшей мере одну дозу исследуемого продукта (IP).

[0311] Все побочные эффекты, как определено протоколом клинического исследования, $\geq$ степени 3 в соответствии с СТСАЕ NCI показаны на **Фиг. 14**. Побочные эффекты, связанные с иммунной системой, как определено протоколом клинического исследования, идентифицированы на **Фиг. 15**.

[0312] Наиболее распространенные побочные эффекты степени ≥ 3 , сообщаемые для субъектов, представляли собой: снижение числа тромбоцитов (11,5%), снижение числа лимфоцитов (11,5%), воспаление опухоли (7,7%), эпилептический припадок (7,7%), повышение АЛТ (7,7%). Сообщалось о несвязанном событии уросепсиса 5 степени. Сообщалось только об одном SAE, связанном с INO-5401+INO-9012, лихорадке. У 48% субъектов, для которых сообщались irAE, наиболее часто наблюдалось повышение АЛТ

(9,6%), повышение АСТ (7,7%), диарея (7,7%), лихорадка (7,7%) и воспаление опухоли (7,7%). 71% сообщаемых SAE и irAE происходило за первые 12 недель лечения.

[0313] Выводы

[0314] У пациентов с впервые диагностированной GBM INO-5401+INO-9012 в комбинации с цемиплимабом-gwlc, даваемым с облучением и темозоломидом, имеет приемлемый профиль безопасности, является иммуногенным и потенциально эффективным у пациентов с впервые диагностированной GBM. Распространенные НЯ включали явления в месте введения инъекции; НЯ ≥ 3 степени возникали главным образом вследствие TMZ или облучения, а связанные с иммунной системой НЯ были совместимы с профилем цемиплимаба-gwlc. SAE были совместимы с теми, которые наблюдались у пациентов с GBM (эпилептический припадок).

[0315] Наблюдались антиген-специфичные Т-клеточные ответы к одному или более антигенам, включенным в INO-5401, у практически всех пациентов, протестированных на сегодняшний момент. ВБП превысила таковую исторических контролей в этом исследовании у пациентов с метилированным промотором MGMT и без него, а OB12 превысила таковую для исторических контролей у пациентов без метилированного промотора MGMT [Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. N Engl J Med 2005, 352:987-996].

[0316] Понятно, что предшествующее подробное описание и сопровождающие примеры являются исключительно иллюстративными и их не следует принимать как ограничения объема изобретения, который определяется исключительно прилагаемой формулой изобретения и ее эквивалентами.

[0317] Различные изменения и модификации раскрытых вариантов осуществления изобретения будут очевидны специалистам в данной области техники. Такие изменения и модификации, в том числе без ограничения те, которые относятся к химическим структурам, заместителям, производным, промежуточным соединениям, синтезам, композициям, составам или способам применения по изобретению, могут быть осуществлены без отклонения от его сути и объема.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID №: 1 HCVR R2810

Glu 1	Val	Gln	Leu	Leu 5	Glu	Ser	Gly	Gly	Val 10	Leu	Val	Gln	Pro	Gly 15	Gly
Ser	Leu	Arg	Leu 20	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser 25	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser 30	Asn	Phe
Gly	Met	Thr 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Val
Ser	Gly 50	Ile	Ser	Gly	Gly	Gly 55	Arg	Asp	Thr	Tyr	Phe 60	Ala	Asp	Ser	Val
Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser 75	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr 80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Lys	Gly	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
Val	Lys	Trp	Gly 100	Asn	Ile	Tyr	Phe	Asp 105	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly 110	Thr	Leu
Val	Thr	Val	Ser	Ser											

SEQ ID №: 2 LCVR R2810

Asp 1	Ile	Gln	Met	Thr 5	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser 10	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 15	Gly
Asp	Ser	Ile	Thr 20	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala 25	Ser	Leu	Ser	Ile	Asn 30	Thr	Phe
Leu	Asn	Trp 35	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro 40	Gly	Lys	Ala	Pro	Asn 45	Leu	Leu	Ile
Tyr	Ala 50	Ala	Ser	Ser	Leu	His 55	Gly	Gly	Val	Pro	Ser 60	Arg	Phe	Ser	Gly
Ser 65	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp 70	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile 75	Arg	Thr	Leu	Gln	Pro 80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr 85	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln 90	Ser	Ser	Asn	Thr	Pro 95	Phe
Thr	Phe	Gly	Pro 100	Gly	Thr	Val	Val	Asp 105	Phe	Arg					

SEQ ID №: 3 HCDR1 R2810

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly

1 5

SEQ ID №: 4 HCDR2 R2810

Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Thr

1 5

SEQ ID №: 5 HCDR3 R2810

Val Lys Trp Gly Asn Ile Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

SEQ ID №: 6 LCDR1 R2810

Leu Ser Ile Asn Thr Phe
1 5

SEQ ID №: 7 LCDR2 R2810

Ala Ala Ser
1

SEQ ID №: 8 LCDR3 R2810

Gln Gln Ser Ser Asn Thr Pro Phe Thr
1 5

SEQ ID №: 9 HC R2810

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

Val 305	Leu	His	Gln	Asp	Trp 310	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu 315	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 320
Ser	Asn	Lys	Gly	Leu 325	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu 330	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys 335	Ala
Lys	Gly	Gln	Pro 340	Arg	Glu	Pro	Gln	Val 345	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro 350	Ser	Gln
Glu	Glu	Met 355	Thr	Lys	Asn	Gln	Val 360	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu 365	Val	Lys	Gly
Phe	Tyr 370	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala 375	Val	Glu	Trp	Glu	Ser 380	Asn	Gly	Gln	Pro
Glu 385	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr 390	Thr	Pro	Pro	Val	Leu 395	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser 400
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser 405	Arg	Leu	Thr	Val	Asp 410	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln 415	Glu
Gly	Asn	Val	Phe 420	Ser	Cys	Ser	Val	Met 425	His	Glu	Ala	Leu	His 430	Asn	His
Tyr	Thr	Gln 435	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu 440	Ser	Leu	Gly	Lys				

SEQ ID №: 10 LC R2810

[illegible]

SEQ ID №: 11 PSMA без лидерной последовательности IgE и с тегом HA atgtggaacg
 cactgcatga gactgattct gctgtcgac tgggacggag accccggtgg 60
 ctgtgcgctg gactgctggt gctggccggc gggggattcc tgtgggatt cctgtttggc 120
 tggtttatca aaagctccag cgaggctacc aatattaccc ctaagcaca taagaagca 180
 ttctggatg aactgaaagc cgagaacatc aagaattcc tgtacaact cacaagaatt 240
 ccacatctgg ctggcactga gcagaactc cagctggcaa aacagatcca gactcagtg 300
 aaggaatttg ggtggactc agtggagctg acccactacg atgtctctgt gtcctatcca 360
 aataagactc atcccaacta catctctatc attaacgaag acggaatga gattttcaac 420
 acctctctgt ttgaaccccc tccacccggc tatgagaatg tcagtgcagt ggtccctcca 480
 ttctcagcct tcagccccc ggggatgcct gagggagatc tgggtgactg caattatgct 540
 agaacagaag actctttaa gctggagagg gatatgaaa tcaactgttc cggcaagatc 600
 gtgattgccc ggtacgggaa ggtgttcaga ggaataagg tcaaaaacgc tcagctggcc 660
 ggagctaccg gcgtgatcct gtacagcgac cccgctgatt atttgcacc tggcgtgaag 720
 tcctatccag acggatggaa tctcccggc gggggagtc agaggggaaa catcctgaac 780
 ctgaatggag ccggcgatcc tctgactcca ggatacccg ccaacgaata cgcttatcgc 840
 cggggaattg cagaggccgt gggcctgcct agcatccag tccatccat tggctattac 900
 gatgccaga agctgctgga gaaaatgggc gggagcgtc cccctgactc tagttggaag 960
 ggctccctga aagtgcctta caatgtcggg ccaggattca ctgggaactt ttatccag 1020
 aagggtgaaa tgcacatcca tagtaccagc gaggtgacac gaatctaca cgtcattggc 1080
 accctgagag gcgcctgga gcctgatcgc tatgtatc tgggaggcca cagagactca 1140
 tgggtgttcg ggggaatcga tccacagagc ggagcagctg tggcatga aattgtgcgc 1200
 agctttggga cctgaagaa agagggatgg cgaccaggc gcacaatcct gtcgcatcc 1260
 tgggacccg aggaatttgg gctgctgggc agcacagaat gggccgagga aaattctcgc 1320
 ctgctgcagg agcaggggtt ggcttacatc aatgcagact caagcattga aggaaactat 1380
 accctgcggg tggattgac acccctgatg tacagtctgg tctataacct gacaaaggag 1440
 ctgaaatcac ctgacgaggg ctgcaaggg aaaagcctgt acgaatcctg gactgagaag 1500
 agcccatccc ccgaattcag cggcatgcct aggatctcta agctgggcag tgggaacgat 1560
 tttaggtgt tcttcagcg cctgggaatt gcctctggcc gagctcgta caaaaaaat 1620
 tgggagacta acaagttctc ctctaccca ctgtatcaca gcgtgtacga gacttatgaa 1680
 ctgtcgaga aattctacga cccactttt aagtatcatc tgaccgtggc acaggtcagg 1740
 ggcgggatgg tgttcgaact ggccaatagc atcgtcctgc catttgactg tcgagattac 1800
 gctgtgtcc tgcggaagta cgcagacaag atctataaca tctcatgaa gcaccccgag 1860
 gagatgaagg cctattctgt gagtttcgat tccctgttt ctgccgtcaa aaatttcacc 1920
 gaaatcgcta gtaagttttc agagcgctg caggacctgg ataagtcaa tccatcctg 1980
 ctgcggatta tgaacgatca gctgatgttc ctggaagag cctttatcga ccctctgggc 2040
 ctgcctgata gaccattcta caggcacgtg atctacgac ctagtccaca taacaagtac 2100
 gcgcgcgagt ctttccagg gatctatgac gctctgttg atattgaatc aaaggtggac 2160
 ccagcaaag catggggcga ggtcaagaga cagatcagca ttgcagcctt tacagtgcag 2220
 gccgccgccc aaacctgtc cgaagtcgt taccatcag atgtcccca ttacgcatga 2280
 taa

SEQ ID №: 12 PSMA с лидерной последовательностью IgE(подчеркнуто) и с тегом HA

atggactgga catggattct gttcctgggc gccgccgcaa ctgcgtgca ttcttgaac 60
 gcactgcatg agactgattc tgctgtcgca ctgggacgga gaccccggtg gctgtgcgct 120
 ggagcactgg tgctggccgg cgggggattc ctgctgggat tctgtttgg ctggtttatc 180
 aaaagctcca gcgaggctac caatattacc cctaagcaca ataagaaagc attcctggat 240
 gaactgaaag ccgagaacat caagaaattc ctgtacaact tcacaagaat tccacatctg 300
 gctggcactg agcagaactt ccagctggca aaacagatcc agagtcagtg gaaggaattt 360
 gggtggact cagtggagct gaccactac gatgtctgc tgtctatcc aaataagact 420
 catcccaact acatctctat cattaacgaa gacggaaatg agatttcaa cactctctg 480
 ttgaacccc ctccaccgg ctatgagaat gtcagtgaag tggccctcc attctcagcc 540
 ttacacccc aggggatgac tgaggagat ctggtgtacg tcaattatgc tagaacagaa 600
 gactcttta agctggagag ggatatgaaa atcaactgtt ccggcaagat cgtgattgcc 660
 cggctacgga aggtgttcag aggaataag gtcaaaaacg ctacgtggc cggagctacc 720
 ggctgtatcc tgtacagcga ccccgctgat tattttgac ctggcgtgaa gtctatcca 780
 gacggatgga atctgcccg cgggggagtg cagaggggaa acatcctgaa cctgaatgga 840
 gccggcgatc ctctgactcc aggatacccc gccaacgaat acgttatcg ccggggaatt 900
 gcagaggccg tgggcctgcc tagcatccca gtccatccca ttggtatta cgtgcccag 960
 aagctgctgg agaaaatgg cgggagcgt cccctgact ctagtggaa gggctccctg 1020
 aaagtgcctt acaatgtcgg gccaggattc actgggaact ttctaccca gaagtgaaa 1080
 atgcacatcc atagtaccg cgaggtgaca cgaatctaca acgtcattgg caccctgaga 1140
 ggcccggtgg agcctgatcg ctatgtcatt ctgggaggcc acagagactc atgggtgttc 1200
 gggggaatcg atccacagag cggagcagct gtgtccatg aaattgtgcg cagctttggg 1260
 accctgaaga aagagggatg gcgaccagg cgcacaatcc tgttcgcatc ctgggacgcc 1320
 gaggaatttg ggctgctggg cagcacagaa tggccgagg aaaattctcg cctgctgcag 1380
 gagcgagggg tggcttcat caatgcagac tcaagcattg aaggaaacta tacctgcgg 1440
 gtgattgca caccctgat gtacagtctg gtctataacc tgacaaagga gctgaaatca 1500
 cctgacgagg gcttcgaagg gaaaagcctg tacgaatcct ggactgagaa gagccatcc 1560
 cccgaattca gccgcatgcc taggatctct aagctgggca gtgggaacga tttgaggtg 1620
 ttcttcagc gcctgggaat tgctctggc cgagctcgtt acacaaaaa ttgggagact 1680
 aacaagtct cctttaccc actgtatcac agcgtgtacg agacttatga actggtcgag 1740
 aaattctacg acccacttt taagtatcat ctgaccgtgg cacaggtcag gggcgggatg 1800
 gtgttcgaac tggccaatg catcgtctg ccatttgact gtcgagatta cgtgtgtg 1860
 ctgcggaagt acgcagaca gatctataac atctccatga agcaccacca ggagatgaag 1920
 gcctattctg tgagtttca ttccctgtt tctgccgta aaaatttcac cgaaatcgt 1980
 agtaagttt cagagcgct gcaggacctg gataagtcca atccatcct gctgcggatt 2040
 atgaacgate agctgatgtt cctgaaaga gcctttatc accctctggg cctgcctgat 2100
 agaccattct acaggcacgt gatctacga cctagttcac ataacaagta cgcggcgag 2160
 tcttccag ggatctatga cgtctgtt gatattgaat caaagtgga cccagcaaa 2220
 gcatggggc aggtcaagag acagatcagc attgcagcct ttacagtga gccgccgcc 2280
 gaaacctgt ccgaagtgc ttaccatc gatgtcccc attacgatg ataa

SEQ ID №: 13 PSMA без лидерной последовательности IgE

Met Trp Asn Ala Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Leu Gly Arg

Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Gly

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Ser Glu
 Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Lys Lys Ala Phe Leu Asp Glu
 Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Arg Ile
 Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
 Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Thr IHis
 Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
 Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
 Glu Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Val Val Pro Pro
 Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
 Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
 Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
 Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Thr Gly
 Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
 Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
 Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
 Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly
 Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys
 Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Lys
 Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
 Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Ser Glu Val
 Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
 Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
 Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
 Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
 Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
 Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
 Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
 Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys Glu
 Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
 Trp Thr Glu Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
 Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
 Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
 Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr IHis Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
 Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Thr Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
 Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
 Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
 Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Ala
 Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
 Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Leu Asp Lys Ser
 Asn Pro Ile Leu Leu Arg Ile Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
 Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
 His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
 Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp

Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Ser Ile Ala Ala
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala

SEQ ID №: 14 PSMA с лидерной последовательностью IgE (подчеркнуто)

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val
His Ser Trp Asn Ala Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Leu Gly
Arg Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly
Gly Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Ser
Glu Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Lys Lys Ala Phe Leu Asp
Glu Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Arg
Ile Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln
Ile Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Thr
His Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr
Ile Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu
Phe Glu Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Val Val Pro
Pro Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val
Tyr Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp
Met Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys
Val Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Thr
Gly Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val
Lys Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg
Gly Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly
Tyr Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val
Gly Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln
Lys Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp
Lys Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly
Asn Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Ser Glu
Val Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu
Pro Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe
Gly Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val
Arg Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr
Ile Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser
Thr Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val
Ala Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg
Val Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys
Glu Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu
Ser Trp Thr Glu Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg
Ile Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg
Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr
Asn Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr
Glu Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Thr Phe Lys Tyr His Leu Thr
Val Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile
Val Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr

Ala Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys
 Ala Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe
 Thr Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Leu Asp Lys
 Ser Asn Pro Ile Leu Leu Arg Ile Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu
 Glu Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr
 Arg His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu
 Ser Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val
 Asp Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Ser Ile Ala
 Ala Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala

SEQ ID №: 15 Консенсусный WT1-L с модифицированной «цинковыми пальцами» последовательностью нуклеиновой кислоты плюс лидерная последовательность IgE

ggatccgccca ccatggactg gacctggatt ctgttctctgg tgcgccgcgc aacacgggtg 60
 catagtggga gtgatgtgag agacctgaac gccctgctgc cagcagtgcc atccctgect 120
 ggccgggggag gctgcgctct gccagtctct ggagcagctc agtgggtccc cgtgctggac 180
 ttgcacccc ctgcagcccc ttacggaagt ctggcgggcc cactactcatt catcaaacag 240
 gagccaagct gggggcggggc agatctcat gaggaacagt gcctgtcagc ctccacaglc 300
 cactttagcg ggcagttcac tgaaccgca ggagcttgta gatacggacc ctttgagca 360
 ccacccctt ccaggacacc ttctggacag gcacgcatgt tcccaaacgc tcctatctg 420
 cctaattgtc tggaaagcca gcccgtatt aggaaccagg gctactccac agtggcattt 480
 gacgggactc ctgctatgg acatacccca tccaccatg ctgcacagtt tcctaatac 540
 tcctcaagc atgaggaccc catgggacag caggggtccc tgggagaaca gcagtactct 600
 gtgccccctc cgtgtlacgg atgccacaca ccaactgaca gttgtacagg ctacagggc 660
 ctgctgctgc gaactccata caacagtgtat aatctgtatc agatgacctc acagctggag 720
 tgcattgacat ggaaccagat gaactgggc agcacactga aaggccatgc cactgggtac 780
 gaattctgaca accacaccac acctatgctg tacagttgtg gagccagta tagaatccac 840
 actcatggag tcttcagagg cattcaggat gtgcggagag tcccaggagt ggcaccaact 900
 atcgtgcgga gcgctccga gaccaacgaa aagcggccct ttatgggcgc ctaccttga 960
 ggcaataagc ggtatttcaa actgtctcac ctgcagatgg ggagtagaaa ggggaccgga 1020
 gagaacctt atcaggggcga ctttaaagat ggggaaaggc gcttctctcg cagtaccag 1080
 ctgaagcgag gacagcgacg aggaaccggg gtgaagccat ttcagtgc aaacatgtcag 1140
 agaaagtctt caaggagcga tcacctgaag accatacaa gaactcacac cggaagacc 1200
 agcgagaaac catttctctg ccgatggccc tctgtcaga agaaattcgc cgcctccgac 1260
 gaactgtgcc gacaccacaa tatgcatcag agaaatatga caaaactgca gctggctctg 1320
 tgataactcg ag

SEQ ID №: 16 Консенсусный WT1-L с модифицированной «цинковыми пальцами» белковой последовательностью плюс лидерная последовательность IgF (подчеркнуто)

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val
His Ser Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
 Pro Ser Leu Pro Gly Gly Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala
 Ala Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Ala Ala Pro Tyr
 Gly Ser Leu Gly Gly Pro His Ser Phe Ile Lys Gln Glu Pro Ser Trp
 Gly Gly Ala Asp Pro His Glu Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val
 His Phe Ser Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr Gly
 Pro Phe Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gln Ala Pro Ser Gly Gln Ala Arg
 Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Asn Cys Leu Glu Ser Gln Pro
 Ala Ile Arg Asn Gln Gly Tyr Ser Thr Val Ala Phe Asp Gly Thr Pro
 Ser Tyr Gly His Thr Pro Ser His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His
 Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly Ser Leu Gly Glu
 Gln Gln Tyr Ser Val Pro Pro Pro Val Tyr Gly Cys His Thr Pro Thr

Asp Ser Cys Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Asn
 Ser Asp Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp
 Asn Gln Met Asn Leu Gly Ser Thr Leu Lys Gly His Ala Thr Gly Tyr
 Glu Ser Asp Asn His Thr Thr Pro Met Leu Tyr Ser Cys Gly Ala Gln
 Tyr Arg Ile His Thr His Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg
 Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr Ile Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr
 Asn Glu Lys Arg Pro Phe Met Gly Ala Tyr Pro Gly Gly Asn Lys Arg
 Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met Gly Ser Arg Lys Gly Thr Gly
 Glu Lys Pro Tyr Gln Gly Asp Phe Lys Asp Gly Glu Arg Arg Phe Ser
 Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg Gly Gln Arg Arg Gly Thr Gly Val Lys
 Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His
 Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr Gly Lys Thr Ser Glu Lys Pro
 Phe Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp
 Glu Leu Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu
 Gln Leu Ala Leu

SEQ ID №: 17 Синтетическая консенсусная последовательность нуклеиновой кислоты hTERT, функционально связанная с IgE (подчеркнуто)

atggattgga catggattct gttcttggtc gcagccgcca cagagtgca tagccctaga 60
 gcccacggt gtatagcagt ccgcagcctg ctgcgcagcc gataccggga agtctgcct 120
 ctggccacct ttgtccggag actgggacca cagggcaggc ccctgggtgca gcgcggcgac 180
 cccgcagctt tccgagcact ggtggcacag tgctgtgtgt gcgtgccatg ggaatgcacg 240
 cccctccag cagcccttag ctttagacag gtgtcctgcc tgaagaact ggtcgcaagg 300
 gtgtccacg ggtgtgcga gagaggcgcc aggaactgc tggcattcgg cttgcactg 360
 ctggacggag ctaggggcgg gccccctgag gcattacca caagcgtgcg ctctactctg 420
 ccaatacag tcatgatac cctgcgagc tccggagcat ggggactgct gctgcgacgg 480
 gtgggggacg atgtgttgtt ccactgtctg gctagatgcg cactgtatgt gctggtcgt 540
 ccctcttgcg cataccaggt gtgcggacca cccctgtatg acctgggcgc tgcaaccag 600
 gcaagacctc caccacgc ccttgccact agaaggggac tgggcaccga acaggcatgg 660
 aaccatagt tcaggaggc aggagtgcca ctgggactgc cagcactgg ggctgcccga 720
 cggagaggga gtccggacg gtcactgcca ctggctaaga gaccaaggcg cggagccgct 780
 ccagaaccag agaggacacc ttggggacag ggaagctggg cacaccctgg aagaactagg 840
 gggccaagt ataggggctt ctgcgtggtc tcaccagcac gaccagcaga ggaagtact 900
 ttcttgagg gagctctgag tggcaccgg cactctcgc ctagtgtggg aagacagcac 960
 catgcaggcc ctccaagcac cagccggcct ccccgccat gggacactcc ttgtccacc 1020
 gtgtacgtg aaaccaaca cttctgtat agctccggag ataaggagca gctgcggccc 1080
 tcttctgc tgctagtct gagacctagt ctgaccggag cagcaggct ggtggaaca 1140
 atctttctgg ggtccgccc ttggatgcca ggaacccca gaaggacacc tgactgcca 1200
 cagcgttact ggcagatgcg gccactgttc ctggagctgc tgggcaatca cgctcagtgc 1260
 ccctatgggg cactgtcgc aacacattgt cctctcggg cagccgtgac tccagctgca 1320
 ggagtctgcg ccagggaaaa gccacaggcg agcgtggcag ctctgagga agaggacacc 1380
 gatccagccc gactgtgca gctgtgaga cagcactcaa gcccctggca ggtgtacgga 1440
 ttctgaggg cctgtctgag gagactggg cctccaggac tgtgggggtc caggcacaac 1500

gaaaggcgct ttctgcgcaa tactaagaaa ttcatcagcc tgggcaagca tgctaaactg 1560
 tcctctcagg agctgacctg gaaaatgagt gtgcgcgact gcgcattggct gcgacgggtca 1620
 ccaggagtcg ggtgcgtgcc tgcagccgag caccgcctgc gagaagagat tctggccaag 1680
 ttctgcatt ggctgatgtc agtgtacgtg gtcgaactgc tgcggagctt cttttatgtg 1740
 acagagacta ccttcagaaa aaactacctg ttctttatc gcaagtcagt gtggagcaaa 1800
 ctgcagtcaa tcggcattcg gcagcacctg aagagagtgc agctgaggga actgagtcaa 1860
 gccgaggtcc ggagcatag agaggcaagg cctgccctgc tgacctccg gctgagattc 1920
 ctgcctaagc cagacgggct gagaccaatc gtgaacatgg attacgtggt cggagcacgg 1980
 acctccgga gggaaaaacg cgctgagcga ctgacatccc gcgtgaagac tctgttctct 2040
 gtctgaatt atgagcgagc tcgccgaccc ggactgctgg gagcatctgt gctgggactg 2100
 gacgatattc accgggcttg gagagcattt gtctgaggg tgcgcgcaca ggacctccc 2160
 ccagaactgt acttctgtaa agtcgccgtg accgggctt atgacacaat cctcaggat 2220
 cggctgactg aagtgatcgc ctccatcatt aagccacaga atacctactg cgtgcggaga 2280
 tatgtcttgg tcaggcgcg tgcacacggc catgtgagga agagcttcaa gcgccacgtc 2340
 agcacactga ctgatctgca gccctacatg agacagttcg tggctcatct gcaggagacc 2400
 agccctctga gggacgcagt ggtcatcgaa cagtctctta gtctgaacga ggcatcaagc 2460
 gggtgttcg atgtcttct gcggttcgtg tgccaccatg ccgtcagaat tggaggcaaa 2520
 tcttactgac agtgtcagg catccccag ggagcattc tgtctacct gctgtgcagc 2580
 ctgtgctatg gcgacatgga aaataagctg ttgccggaa tccgacggga tggcctgctg 2640
 ctgagactgg tggccgctt tctgtgtgc actccacacc tgacctatg caaagcttcc 2700
 ctgcgcacac tggtcgcagg ggtgccagag tacggatgcg tggtaacct gaggaagacc 2760
 gtgtgaatt tccagtgga agacgagggc ctggcgcgca cagcatttgt ccagtgcca 2820
 gcacacggag tgttccatg gtgtggactg ctgttgaca cccgcacact ggaggtgcag 2880
 tccgattact cctctatgc ccggacaagc atcagagctt cctgacttt taacagaggc 2940
 ttcaaggccg ggaggaatat gagaaggaaa ctgttgccg tctgcgcct gaagtgccat 3000
 tcctgttcc tgtatctgca ggtgaactct ctgcagactg tctgtacca cgtgtacaaa 3060
 attttctgc tgcaggccta tcggttccac gcttgcgtgc tgcagctgcc attccatcag 3120
 caggtcagga agaaccceac cttcttctg cgctgatct ctgatacagc tagtctgtgc 3180
 tactcaattc tgaaggccaa aaatgctggc atgagcctgg gagcaaaagg agcagcagga 3240
 ccatttcctt ccagggtgc acagtggctg tgccaccagg cattctgct gaagctggcc 3300
 cgacatcggg tgacatatag gtgcctgctg ggcgcactgc gaacagcaca gactcagctg 3360
 tgcagaaaag tccccgggc cactctggct gccctggaag ccgctgccga ccttgcctg 3420
 acctccgatt tcaagactat tctggac

SEQ ID №: 18 Синтетическая консенсусная аминокислотная последовательность hTERT, функционально связанная с IgE (подчеркнуто)

Met	Asp	Trp	Thr	Trp	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Thr	Arg	Val
His	Ser	Pro	Arg	Ala	Pro	Arg	Cys	Arg	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Leu	Arg
Ser	Arg	Tyr	Arg	Glu	Val	Leu	Pro	Leu	Ala	Thr	Phe	Val	Arg	Arg	Leu
Gly	Pro	Gln	Gly	Arg	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Ala	Phe
Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	Trp	Asp	Ala	Arg
Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu
Leu	Val	Ala	Arg	Val	Val	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Arg	Asn
Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Pro

Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val
Thr	Asp	Thr	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg
Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Tyr
Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Pro	Leu
Tyr	Asp	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	His	Ala	Ser
Gly	Thr	Arg	Arg	Gly	Leu	Gly	Thr	Glu	Gln	Ala	Trp	Asn	His	Ser	Val
Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Ala	Arg	Arg
Arg	Arg	Gly	Ser	Ala	Gly	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Ala	Lys	Arg	Pro	Arg
Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val	Gly	Gln	Gly	Ser
Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly	Phe	Cys
Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	Leu	Glu	Gly
Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val	Gly	Arg	Gln	His
His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg	Pro	Trp	Asp	Thr
Pro	Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe	Leu	Tyr	Ser	Ser
Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg
Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Phe	Leu	Gly
Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Thr	Pro	Arg	Leu	Pro
Gln	Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Asn
His	Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Ala	Leu	Leu	Arg	Thr	His	Cys	Pro	Leu
Arg	Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	Arg	Glu	Lys	Pro
Gln	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Asp	Pro	Arg	Arg
Leu	Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Tyr	Gly
Phe	Leu	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly
Ser	Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys	Phe	Ile
Ser	Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys
Met	Ser	Val	Arg	Asp	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly
Cys	Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys
Phe	Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser
Phe	Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu	Phe	Phe
Tyr	Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln
His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg
Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe
Leu	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val
Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr
Ser	Arg	Val	Lys	Thr	Leu	Phe	Ser	Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg
Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His
Arg	Ala	Trp	Arg	Ala	Phe	Val	Leu	Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro
Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	Ala	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr
Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro
Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	Tyr	Ala	Val	Val	Arg	Arg	Ala	Ala
His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ser	Phe	Lys	Arg	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr
Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr
Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn
Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Val	Cys	His
His	Ala	Val	Arg	Ile	Gly	Gly	Lys	Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile
Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly
Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala	Gly	Ile	Arg	Arg	Asp	Gly	Leu	Leu
Leu	Arg	Leu	Val	Ala	Ala	Phe	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	His	Leu	Thr	His
Ala	Lys	Ala	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly
Cys	Val	Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp
Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Leu	Pro	Ala	His	Gly	Leu
Phe	Pro	Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln
Ser	Asp	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr

CTTAGAGCCCCACGGTGTGACAGAGTCCGCGAGCCTGCTGCGCAGCGATACCGGGAAGTGCTGCCCTTGGCCACC
TTTGTCCGGAGACTGGGACCAACAGGGCAGGGCGCTGGTGCGAGCGCGGACGCCCGAGCTTTCCGAGCACTGGTG
GCACAGTCTCGTGTGTGCGTGTGCCATTGGGATGCGACGGCCCTCCAGAGGCCCTAGCTTTAGACAGGTGTCTCTGC
CTGAAAGAAGACTGCTGCGAAGGGTGGTCCAGCGGCTGTGCGAGAGAGGCGCCAGGAAGACTGCTGCGATTCTCGGCTTT
GCATGCTGGACGGAGCTAGGGCGGGGCCCTCGAGGCACTACCACCAAGCGCTGCGCTCTTACTTGCACAATAACA
GCTACTGATACCCCTGCGAGGCTCCGGAGAGCTAGGGAGACTGCTGCTGCGACGGGTGGGGGACGATGTGCTGTGCTCCAC
CTGCTGGCTAGATGCGCACTGTATGCTGCTGCTGCCCTCTTGGCGATACAGGAGGTGCGGACCACCCCTGGAAT
GACCTTGGGCGCTGCAACCCAGGCAAGACTTCCACCACCGCTTGTGCGACTAGAAGGGAGCTGGGCAACCAAGAC
GCATGGAACCATAGTGTACAGGAGGCGAGGAGTGCCACTGGGACTGCCAGCACCTGGGGCTCGCCGACGGAGAGGG
AGTGCCGGGACGGTCACTGCCACTGTGCTAAGAGAACAAAGGCGCGGAGGCGCTCTCCAGAACACAGAGAGGACACCTGTG
GGACAGGGAAGCTGGGCAACACCTTGGAAGAATAAGGGGCGCAAGTGATAGGGGCTTTCGGTGTGTTCTACCGACA
CGACACCAAGCAGGGAAGCTACTTCTCGGAGGGGACCTGTGAGTGGCACCCGCGACTCTCATCTAGTGTGGGAAGA
CAGCACCATGCGAGGGCGCTTCAAGCACACCGCGGCTCCCCGGCATGGGACACTCTTATCCACCCGTGTACGCT
GAAACCAAACTTTCTGTATAGTCCGGAGATAAGGAGCAGCTGCGGCCCTTTTCTGCTGTCTAGTCTGAGA
CCTAGTCTGACCGGAGCAGCAGCGCTGGTGTGAAGAATACTTCTTGTGGGTCCCGCCCTTGATAGCTCGGAGGAACCCC
AAGAAGCACTGCTGACTGCGACAGCGTACTGCGAGTGTGCGGCACATGTTCTTGGAGTGCTGGGCAATACGCT
CAGTGCCCTATGGGGCACTGCTGCGAACACATTGTCTCTGCGGGCAGCCGTGACTCCAGCTGCAGGAGTCTGC
GCCAGGGAAGAACCAACAGGGCAGCGCTGGCAGCTCTGAGGAAGAGCAACCGATCCACCGCGACTGTGTGACAGTG
CTGACAGCACTCAAGCCCTGGCAGGTGACCGAATTTCTGAGGGCTGTCTGCGGAGCTGTGCTGCTCCAGGA
CTGTGGGGTCCAGGCAACGAAAGGCGCTTTGCTGCGCAATACTAAGAAATTCATCAGCTTGGGCAAGCATGTCT
AAACTGTCTCTCGAGGAGCTGACCTGGAAATAGTGTGCGCGACTGCGCATGGCTGCGAGCGGTCCACAGGAGTCTG
GGGTGCTGCTGCGACCGGAGCAGCCGCTGCGAGAAGAGATCTGCGCAAGTTTGTGCATTGCGTGTATGTCAGTG
TAGCTGTGTGCAACTGCTGCGGAGCTTCTTTATGTGTACAGAGACTACCTTCCAGAAATACTGACTGTTCTTTTAT
CGCAAGTCAGTGTGAGCAAACTGCATCTTAATCGCATTTCCGCACTTCGCGAGCACTTGAAGAGAGTGCTGACTGAGGGAAGT
AGTGAAGCCGAGGTTCGGCAGCATAGAGAGGCAAGGCCGTGCCCTGCTGACCTCCCGGCTGAGATTCTTGCTTAAG
CCAGAGCGGCTGAGCAACATGCTGAACATGGATTACGTGTGTCGGAGCAGCGAATCTCCGGAGGGGAAGAACGCGCT
GGCAGACTGACATCCCGCGTGAAGACTGTGTTCTGTCTGTAATTAGCGAGCTCGAGCTCGCCGACCGGAGCACTGCTG
GGAGACTATGCTGTGGAGTGGACGATATTCACCGGCTTGGAGAGCATTTGTCTTGAGGTTGCGCGCACAGGAC
CTCCCCCAGAAGCTGTACTTCTGGAAGTTCGCCGTGACCGGGGCTATTGACAAATCCCTCAGGATCGGCTGACT
GAAGTGATCGCTTCCATATTAAAGCCACAGAATACCCTACTGTGTCGGAGATATGCTGTGTCAGGCGCGCTGCA
CACGGCCATGTGAGGAAGAGGCTTCAAGCGGCAGCTCAGCAGCACTGACTGATCTGACAGCCTCATGAGACAGTTCT
GTGGCTCATCTCAGGAGACGACCGCTTGTAGGAGCGAGTGCTATCGAACAGTCTCTAGTCTATGACAGGGA
TCAAGCGGGCTGTGCGATGCTTTCTGCGGTTCTGTGTGCCACCATGCCGTACGAATTGGAGGCAAACTTTACGTG
CAGTGTCAAGGCACTCCCCAGGGGACGACATCTGTGCTACCTCTGCTGTGACGCTGTGTCTATGGCAGCATGGAATAAT
AAGCTGTTTTCGGCAATCCGACAGGATGCGCTGCTGAGACTGCTGCGGCTTTTCTGCTGCTACCTCAC
CTGACCCATGCCAAAGCTTTCTGCGCACACTGGTCCGAGGGGTGCCAGAGTACGGATGCGTGGTCAACCTGAGG
AAGACGCTGTGCTAATTTCCAGAGTGAAGACGAGGCCCTGGGCGCGACAGCAATTTGTCCAGCTGCCAGCAGGGA
CTGTTCCTAGTGTGAGACTGCTGTGAGCACCCGACACTGGAAGTGTGAGCTTCCTGATTACTCTTATGCCCCG
ACAAGCATCAGAGCTTCCCTGACTTTTAAACAGAGGCTTCAAGGCCGGGAGGAATAGAGAAGGAAACTGTTTGGC
GTGCTGCGCTGAAGTGCCATCTCCTGTCTCTGATCTGCAAGCTGGAAGTCTCTGCAAGCTGTCTTACCAAGT
TACAAAAATTTTCTGCTGCAAGGCTATCGGTTTCCAGCTTCTGCTGCTGCACTGCCATTTCATCAGCAGGTGAG
AAGAACCACCTCTTTCTGCGCGTATCTCTGATACAGTATGCTGTGCTACTAATCTGAAGGCAAAAAAT
GCTGCGATCAGCTGGGAGCAAAAGGAGCAGCAGGACCATTTCTTCCGAGGCTGCAGAGTGGCTGTGCGCCAG
GCATTCTGCTGAAGCTGGCCCGACATCGGGTGACATATAGTGCCTGCTGGGCGACTGCGAACAGCACAGCT
CAGCTGTGCAAGAAAGCTGCCCGGGGCAACTCTGGCTGCCCTGGAAGCCGCTGCCGACCTGCCCTGACCTCCGAT
TTCAAGACTATCTGGAGCTGATAA

SEQ ID №: 20 Синтетическая консенсусная аминокислотная последовательность hTERT
PRAPRCR ARVSVLLRSRYREVLPLATFVRRLLPQGRRLVQRGDPAAFRALVAQCLVCPVPWDARPPAAPSFRQVSC
LKLAV ARVSVQRLCERGARNVPLAFGLALLDGARGGPEAFTTSVRSYLPNTVDTLIRGSGAWGLLLRRVGGDVLVHL
LARC ALYVLV APSCA YQVCGPPL YDLGAATQARPPHASGTRGLGTEQAWNHSVREAGVPLGLPAGARRRRG
SAGRS LPLAKRPRRGAAPERTPVGGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSARPAAEATSLEGALSGTRHSHPSVGR
QHHAQPSPTSRRPWRDTPCPPVYAEKTHFLVYSSGDKEQLRPSLFLSSLRPSLTGARRLVETIFLGRSPWMPGTP
RRTPLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGALLRTHCLPRAAVTPAAGVCAREKPGQSVAAPEEDDTPRRLLVQL
LRQHSSPVQVYGFRLACLRLRVPPGLVGSRHNERFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRDCAWLRRSPGV
GCVPAAEHRLREELAKFLVHWMSSVYVELLSFFYVTEITTFQKNLYFFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVLQREL
SEAEVQRHIREAPALLTSRLRLPKPDGRPIVNMDDYVGARTDFREKRAERLTSRVKTLSVNLNYERARRPGL
GASVLGLDDIHRARAFVRLVRAQDPPELVYVKVAVTGA YDTIPQDRLTEVIASIKPKQNTYCVRYAVVRRAA
HGHVRFKSKFRHVS TLDLPQYMRQFVAHLQETSPLRDVA VVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFVCHHVAVRIGGKSYV
QCQGI PQGSILSTLLCSLYGD MENKLFAGIRRDGLLLRLVAAFLLVIPHLLTHCAFLRLTRVGVYGCVVNL
KTVVNFPEDEALGGTAFVOLFPAHGLFPWCGLLDTRTLEVOSDYSSYARTSIRASLTFRNGFKAGRNMRRLFG

VLRLKCHSLFLYLQVNSLQTVCTNVYKIFLLQAYRFHACVLQLPFHQQVRKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKN
 AGMSLGAKGAAQGFPPSEAAQWLCHQAFLLLKARHRVITYRCLLGALKR1AQTQLCRKLPGLAALAAADPALTSIDFKTILD**
 SEQ ID №: 21 последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая PSMA с лидерной
 последовательностью IgE

atggactggacatgattctgttctggctgcccgaactcgcgtgcatctcctggaacgcactgcatgagact
 gattctgctgctgcactgggacggagaccgggtgctgtgctgctgagcactgggtcctggccggcggggattc
 ctgctgggattcctgttggctggtttatcaaaagctccagcagaggctaccaatattaccctaagcacaataag
 aaagcattcctggatgaactgaagccgagaacatcaagaattcctgtacaactlcacaagaattccacatcgt
 gctggcactgagcagaactccagctggcaaaacagatccagagtcagtgaaggaatttggctggactcagt
 gagctgacccactacatgtcctgctgtcctatccaataagactcatccaactacatctctatcattaacgaa
 gacggaaatgagattttcaacacctctgtttgaacccctccaccggctatgagaatgtcagtgcgtgggtc
 cctccattctcagccttcagccccaggggatgcctgagggagatcgtgtgtacgtcaattatgctagaacagaa
 gacttcttaagctggagaggatgatgaaatcaactgttccggcaagatcgtgattgcccggtaggggaagggtg
 ttacagagaaataaggtcaaaaacgctcagctggcggagctaccggcgtgacctgtacagcgaccccgctgat
 ttattggcagctggcgtgacatccatccagacggatggaatctgccggcgggggagtgacagagggaacatc
 ctgaacctgaatggagcggcgatcctctgactccaggataccccccaacgaatacgttatcgggggaatt
 gcagaggcgggtggcctgcttagcatccagctccatccattggctattacgatgccagaagctgctggagaaa
 atggcggggagcgctcccccctgacttagttggaagggtccctgaaagtccttacaatgctggggcaggatc
 actgggaactttctaccagaaagtgaaatgcacatccatagtagccagcgagtgacacgaatctaacacgtc
 attggcacctgagaggcgccgtggagcctgacgtctatgtcattctgggaggccacagagactcattgggttgc
 ggggaatcgtatccacagacggagcagctgtggtccatgaaattgtgcgacgtttgggacctgaagaagag
 ggaatggcgacccagcgacacatcctgtctgcactcctgggacgcccaggaatttggctgctggcgacacagaa
 tggcgccaggaaaattctgcctgctgagggagcgagggtggcttacaatcagactcaagcattgaaggaa
 aactataccctgcgggtgattgcacacccctgatgtacagctgtgtctataacctgacaaaggagctgaaatca
 cctgacgaggggcttggaagggaacccctgtacgaatcctgactgagaaagagcccatccccgaattcagcggc
 atgcctagatctctaagctggcagtgagggaacgattttgagggttcttccagccctgggaattgcctctg
 cgagctcggtacacaaaaattgggagactaacaagttctccttaccactgtatcacagcgtgtacgagact
 tatgaactgtcgcagaattctacgacccacttttaagtatcatctgacctgtgcacaggtcagggcgggatg
 gtgttcgaactggccaatagcatcgtctcctccttgaactgcgagattacgtgtgtcctcctgggaagtacgca
 gacaagatctatacatctccatgaagcacccccagagatgaaggcctattctgtgagtttcgattcctgttt
 tctgccgtcaaaaatttcaccgaaatcgctagtaagtttcagagcgctgcaggacctggataagtcacatccc
 atcctgctgcggttatgaaacgatcagctgtgttctggaagagcctttatcgacctctgggcctgcctgat
 agaccattctacaggcacgtgtatcagcacctagttacataacagtagccggcgagctttccaggagatc
 tatgacgctctgtttgatattgaatcaaaagtggaacccagcaaaagcatggggcagggtcaagagacagatcagc
 attgcagcctttacagtgcagcgccggccgaaacccgtgccgaagtgcgttgataa

SEQ ID №: 22 последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая р35 ИЛ12 (pGX6001)

atgtgtccagcgcgcagcctcctctgttggtacccctgtcctcctggaccacctcagttggccagaacctc
 cccgtggccactccagaccaggaattgtccatgcttccactcccaaacctgctgaggcgctcagcaac
 atgctccagaaggccagacaaactctagaattttacccctgcaattctgaagagattgatgaagatcacaca
 aaagataaaaccagcagctgagcgctgtttaccattggaattaaaccaagaatgagagttgcctaaattccaga
 gagaccttttcataactaatggagttgcctggcctccagaagacctttttatgatggcctgtgcctatgt
 agtattatgaagactgaagatgtaccaggaggagtlcaagaccatgaatgcaaaagcttctgatggatcctaag
 aggcagatctttctagatcaaaacatcgtggcagttattgatgagctgatgcaggccctgaatttcaacagtga
 actgtgccacaaaatcctccttgaagaaccggattttataaaactaaaatcaagctctgcatacttctcat
 gctttcagaattcgggcagtgactattgatagtgatgagctatctgaatgcttcttaa

SEQ ID №: 23 аминокислотная последовательность р35 ИЛ12 (pGX6001)

MCPARSLLLVATLVLLDHLNLPVATPDPMFCLHHSQNLRLRAVSNMLQKARQTLEFYPCCTSEEDHEDIT
 KDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSTFNGSCLASRKTSTFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPK
 RQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

SEQ ID №: 24 последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая р40 ИЛ12 (pGX6001)

atgtgtcaccagcagttgtgtcatctctgttttccctgggttttctggcatctcccctcgtggccatatgggaa
 ctgaagaaagatgtttatgtcgtagaattggattgtatccggatgcccctggagaatgggtgtcctcacctgt
 gacacccctgaagaagatgtgtacacctggacctggaccagacagtgaggctttagctctggcaaaacccctg
 accatccaagtcaaaagatttggagatcgtggccagtacacctgtcacaaaggagcgagggttcaagccattcg
 ctctcgtgcttcacaaaaagggaatgggaatttggccactgatattttaaggaccagaagaagaaacccaaaaat
 aagacctttctaagatgcaggccaagaattattctggacgtttcacctgctgtggctgacgacaatcagtact
 gatttgacattcagtgtaaaagcagcagaggctcttctgaccccaagggtgacgtgcggagctgtactactc
 tctgcagagagatgcagaggggacaacaaggagatgagtactcagtgagggtccaggaggacagtgccctgcca
 gctgctgaggagatgctccattgaggtcatggtggtggtccgttcacaagctcaagatgaaactacaccagc
 agcttctcatcaggacatcatcaaacctgacccaccaagaactgcagctgaagccattaaagaattctcgg
 caggtggaggctcagtgaggatccctgacacctggagtactccacattcctactctcctgacattctcggtt
 caggtccaggccaagagcaagagagaaaaagagatagcttccaggacaagacctcagccacggtcatctgc

cgcaaaaatgccagcattagcgtgcgggcccaggaccgctactatagctcatcttgagcgaatgggcatctgtg
ccctgcagtttag

SEQ ID №: 25 аминокислотная последовательность р40 ИЛ12(pGX6001)

MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTL
TIQVKEFGDAGQYTCIKGGEVLSISLILLIKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTIST
DLTFSVKSSRSGSDQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPJEVVMVDAVHKLKEYENYS
SFFIRDIIPKDPDPKKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVIC
RKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

SEQ ID №: 26 концепсуемый WT1-L с модифицированным «цинковыми пальцами» белком

GSDVRDLNALPAVPSLPGGGGALPVSGAAQWAPVLDFAPPAAPYGSLLGPHSFIKQEPSWGGADPHEEQCLSA
FTVHFSGQFTGTAGACRYGPFGAPPPSQAPSGQARMFPNAPYLPNCLESQPAIRNQGYSTVAFDGTSPYGHITPSH
HAAQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPVYGCHTPTDSCGTGSQALLLRTPYNSDNLQMTSQLECMWTWNQM
NLGSTLKGHATGYESDNHTTPMLYSCGAQYRIHTHGVRFGIQDVRVPVGPVPTIVRSASETNEKRPFMGAYPPGN
KRYFKLSILQMGSRKGTGEKPYQGDGFKDGERRFSRSDQLKRQRRGTGVKPFQCKTCQRKFSRSDILKTIITRTIT
GKTSEKPFSCRWPSQCQKFAFSDELVRHNMHQRNMTKLQAL**

SEQ ID №: 27 Консенсусный WT1-L с модифицированной «цинковыми пальцами» последовательностью
нуклеиновой кислоты

GGGAGTGTATGTAGAGACCTGAACGCCCTGTGCCAGCAGTGCCATCCCTGCCTGGCGGGGGAGGCTGCCTCTG
CCAGTCTCTGGAGCAGCTCAGTGGGCTCCCGTGTGACTTTGCAACCCCTGCAGCCCTTACGGAAGCTGGGC
GGCCCACTCATTCATCAAAACAGGAGCCAAGCTGGGGCGGGGAGATCCTCATGAGGAACAGTGCCTGTACGCT
TTCACAGTCCACTTACGCGGGCAGTTCACITGGAAACCGCAGGAGCTGTAGATACGACCCCTTTGGAGACCAACCC
CCTTCCAGGCACCTCTGGACAGGCACGCATGTCCCAACCGTCCCTATCTGCCTAATTGTCTGGAAAGCCAG
CCCGCTATTAGGAACCAAGGCTACTCCACAGTGGCATTTGACGGGACTCCTAGCTATGGACATACCCCATCCAC
CATGTCTGCACAGTTTCCATCACTCCTTCAAGCATGAGGACCCCATGGGACAGCAGGGGTCCCTGGGAGAAGAG
GACTACTCTGTGCCCTCCCGTGTACGGATGCCACACACCAACTGACAGTGTACAGGCTCACAGGCCCTGTCTG
TCCGCACTCCATCAACAGTGTATAATCTGTATCATGACCTCACAGCTGAGTGCATGACATGGAACCAAGATG
AATCTGGGACGACACACTGAAAGGCCATGCCACTGGGTACGAATCTGACAACCAACCAACCACTATGCTGTACAGT
TGTGGAGCCAGTATAGAAATCCACATCTATGGAGTCTTCAGAGGCATTCAGGATGTGCGGAGAGTCCAGGAGGTG
GCACCAACTATCTGTGCGGAGCGCTCCGAGACCAACGAAAAGCGCCCTTTATGGGCGCCTACCTGGAGGCAAT
AAGCGGTATTTCAAACTGTCTACCTGCAGATGGGGAGTAGAAAAGGGGACCGGAGAGAAACCTTATCAGGCGAC
TTAAAGATGGGGAAGGCGCTTCTCTCGCAGTGACCAAGCTGAAGCGAGGACAGCGACGAGGAACCGGGGTGAAG
CCATTTACAGTGAACAAAGTGTACAGAAAGTTCACAGGAGCGATCACCITGAAGACCCATACAGAACTCACAC
GGCAAGACGAGCGAGAAACCATTTCTGCGCATGGCCCTCTGTGTCAGAAAGAAATCGCCCGCTCCGACGAAGT
GTCCGACACCAATATGCATCAGAGAAATATGACAAAACCTGCAGCTGGCTCTGTGTATAA

SEQ ID №: 28 PSMA

WNALHETDSAVALGRRPRWLCAGALVLGGGFLGLFGWFIKSSSEATNITPKHNKKAFLDELKAENIKKFLYN
FTRIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFLDSVELTHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTSLFEP PPPGY
ENVSDVVPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKVIARYGKVFRGNKVKNQLAGATGVI
L.YSDPADYFAPGVKSPYDGNWI.PGGGVQVRGNII.NI.NGAGDPI.TPGYPANFYA.YRRGIAFA.VGI.PSIPVHPIGVY
AQKLEKMGVSKPSDSSWKGLKVPYVNVGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTSEVTRIYNVIGTLRGA.VEPDRYVLLG
HRDSWVFGGIDPQSGAAV.VHEIVRSFGLTKKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLQERGVAYIN
ADSSIEGNYTLRVDC.TPLMYSLVYNLT.KELKSPDEGFEFGKSLYESWTEKSPSPFSGMPRIKSLGSGNDFEVFFQ
RLGIASGRARYTKNWEITNKESYPLYIISVYET.YELVEKFYDPTFKYIILT.VAQVRGGMVFELANSIVLPFDRCRDYA
VVLRLKYADKYNISMKHPQEMKAYSVSFDSL.FSAVKNFTEIASKFSERLQDL.DKSNPILLRIMNDQMLFLERAFI
DPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQISIAAFTVQAAAETLSEVA*

*

SEQ ID №: 29 последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая PSMA

TGGAACGCACTGCTATGAGACTGATTCTGCTGTGCCTGCTGGGACGAGACCCCGTGGCTGTGCTGCTGGAGCACTG
GTGCTGCGCCGCGGGGATTCTGCTGGGATTCTCTGTTTGCTGCTTTATCAAAAGCTCCAGCGAGGCTACCAAT
ATTACCCCTAAGCACAATAAGAAAGCATCTCTGGATGAAGTGAAGCCGAGAATCAAGAAATTCCTGTACAACT
TTCACAAAGAAATCCACATCTGCTGCTGGCTGAGCAGAACTTCCAGCTGGCAGGAGATCCAGAGTCAAGTGAAG
GAATTTGGCTGGAAGTCAAGTGAAGTGAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAG
TACATCTCTATCTATTAAGCAAGACGGAATGAGATTTCAACACCTCTCTGTTTGAACCCCTCCACCCGCTAT
GAGAAATGTCAGTGAAGTGTGCTCCCTCATCTCAGCCTTCAAGCCCTCAGGGGATGCTGTAGGGAGATCTGGTGTAC
GTCAATATGCTAGAACAGAAAGACTTCTTAAAGCTGGAGAGGGATATGAAATCAACTGTTCGGGCAAGATCGTG
ATTCCCGGTACGGGAAGGTGTTTCAAGAGAAATAAGGTCAAAACGCTCAGCTGGCCGAGCTACCGGCTGATC
CTGTACAGCGACCCCGCTGATTATTTGCACCTGGCGTGAAGTCTATCCAGAGCGGATGGAATCTGCCCGGCGGG
GGAGTGCAGAGGGGAACATCTGAACCTGAATGGAGCCGCGCATCTCTGACTCCAGGATACCCCGCAACGAA
TACGCTTATCGCCGGGGAATTGCAGAGGCCGTGGGCTGCTTAGCATCCCACTCCATCCCATTTGGCTATTACGAT
GCCAGAAAGCTGCTGGAGAAATGGGGCGGAGCGCTCCCCCTGACTCTAGTTGGAAGGGCTCCCTGAAAGTGTGCT
TACAATGTGGGCCAGGATTCTAGTGGAACTTTTCTACCCAGAAGGTGAAATGCACATCCATAGTACCAGCGAG
GTGACACGAATCTACAACTCATTTGGCACCCTGAGAGCGCCGTGGAGCCTGATCGCTATGCTATTCTGGGAGGC
CACAGAGACTCATGGGTGTTGGGGGAATCGATCCACAGAGCGGAGCAGCTGTGGTCCATGAAATGTGCGCAGC
TTTGGGACCTGAGAAAGAGGGGATGCGACCCAGCGCACAATCTGTTCGATCTCTGGGACGCGGAGGAATTT
GGGCTGTGGGCGAGCAGAAATGGGCCGAGGAAAATTTCTGCTGCTGTGACAGGCGAGGGGTGGCTTACATCAAT
GCAGACTCAAGCATTAAGGAAACTATACCTGCGGGTGGATTGCACACCCCTGATGTACAGTCTGGTCTATAAC
CTGACAAAGGAGCTGAAATCACTGACGAGGGCTTCTGAAGGGAAGGCTGTACGAATCTGACTGAGAAAGAGC
CCATCCCGGGAATTCAGCGCATGCTAGATCTCTAAGCTGGGCAAGTGGGAACGATTTTGAAGGTGTTCTTTACG
CGCTGGGAATGCTCTGCGCGAGCTCGGTACACAAAAATTTGGAGACTAACAAAGTTCTCTTACCCACTG
TATCACAGCTGTACGAGACTTATGAATGGTCTGAGAAATTTACGACCCCACTTTAAGTATCATCTGACCGGTG
GCACAGGTCAGGGGCGGATGGTGTGAACTGGCCAAATAGCATCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GTGGTCTGCGGAAGTACGACAGAAAGATCTATAACATCTCCATGAAGCACCCTCAGGAGATGAAGGCTTATCT
GTGAGTTTCAATTCCTGTTTCTGCGGCTCAAAATTTACCGAAATCGCTAGTAAGTTTTCAGAGCGGCTGCGAG
GACCTGGATAAGTCCATCCCTGCTGCGGATTAATGAACGATCAGCTGATGTTCTGGAAGAGGCTTTATCT
GACCTCTGGGCTGCTGATAGACCATCTACAGGCACGTGATCTACGACCTAGTTACATAACAGTACGCC

GGCGACTCTTCCAGGGATCTATGACGCTCTGTTTGATATTGAATCAAGGTGGACCCAGCAAGCATGGGGC
GAGGTCAAGAGACAGATCAGCATTCAGGCTTTACAGTGACGGCGCCGCGGAAACCCCTGTCGAAGTCTGTGA
TAA

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Иммуногенная композиция, содержащая обратную транскриптазу теломеразы человека (hTERT), опухоль Вильмса-1 (WT-1) и простатспецифический мембранный антиген (PSMA).

2. Иммуногенная композиция по п. 1, отличающаяся тем, что hTERT кодируется плазмидной ДНК, WT-1 кодируется плазмидной ДНК, и/или PSMA кодируется плазмидной ДНК.

3. Иммуногенная композиция по п. 2, отличающаяся тем, что hTERT, WT-1 и PSMA кодируются той же плазмидной ДНК; при этом два из hTERT, WT-1 и PSMA кодируются той же плазмидной ДНК; или hTERT, WT-1 и PSMA кодируются различными плазмидными ДНК.

4. Иммуногенная композиция по любому предыдущему пункту, отличающаяся тем, что:

hTERT содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 20 или кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 19;

WT-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 26 или кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 27; и/или

PSMA содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 28 или кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 29.

5. Вакцина, содержащая:

иммуногенную композицию по любому предыдущему пункту;

ИЛ12; и

антитело к рецептору программируемой смерти клеток 1 (PD-1).

6. Вакцина по п. 5, отличающаяся тем, что антитело к PD-1:

содержит гипервариабельные области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID №: 1, и три гипервариабельные области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID №: 2;

содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), при этом HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 8;

содержит HCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 1; содержит LCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 2;

содержит HCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 1; и LCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 2;

содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 1,

и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 2;

содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 10; представляет собой антитело IgG4; или представляет собой REGN2810 или его биоаналог или биоэквивалент.

7. Вакцина по п. 5 или п. 6, отличающаяся тем, что ИЛ-12 кодируется плазмидной ДНК.

8. Вакцина по п. 5, п. 6 или п. 7, отличающаяся тем, что субъединица р35 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 23; субъединица р40 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 25; субъединица р35 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 23, и субъединица р40 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 25;

субъединица р35 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 22; субъединица р40 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 24; или

субъединица р35 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 22, и субъединица р40 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 24,

субъединица р35 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 23, субъединица р40 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 25, или и то, и то.

9. Способ лечения рака мозга у субъекта, включающий введение субъекту: интерлейкина-12 (ИЛ-12);

иммуногенной композиции на основе обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT),

опухоли Вильмса-1 (WT-1) и простатспецифического мембранного антигена (PSMA); и антитела к рецептору программируемой смерти клеток 1 (PD-1).

10. Вакцина для применения в лечении рака мозга у субъекта, при этом вакцина содержит:

иммуногенную композицию на основе обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT),

опухоль Вильмса-1 (WT-1) и простатспецифический мембранный антиген (PSMA); и антитело к рецептору программируемой смерти клеток 1 (PD-1).

11. Способ по п. 9 или вакцина для применения по п. 10, отличающиеся тем, что у субъекта наблюдается неметилированный промотор гена Об-метилгуанинметилтрансферазы (MGMT).

12. Способ по п. 9 или вакцина для применения по п. 10, отличающиеся тем, что у субъекта наблюдается метилированный промотор гена Об-метилгуанинметилтрансферазы (MGMT).

13. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-12, отличающиеся тем, что ИЛ-12 кодируется плазмидной ДНК.

14. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-13, отличающиеся тем, что hTERT кодируется плазмидной ДНК, WT-1 кодируется плазмидной ДНК, и/или PSMA кодируется плазмидной ДНК.

15. Способ или вакцина для применения по п. 14, отличающиеся тем, что hTERT, WT-1 и PSMA кодируются той же плазмидной ДНК; два из hTERT, WT-1 и PSMA кодируются той же плазмидной ДНК; или каждая из hTERT, WT-1 и PSMA кодируются различными плазмидными ДНК.

16. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-15, отличающиеся тем, что антитело к PD-1:

содержит гипервариабельные области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID №: 1, и три гипервариабельные области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID №: 2;

содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), при этом HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 3, HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 4, HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 5, LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 6, LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 7, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 8;

содержит HCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 1; содержит LCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 2;

содержит HCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 1; и LCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID №: 2;

содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 1, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 2;

содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 10;

представляет собой антитело IgG4; или

представляет собой REGN2810 или его биоаналог или биоэквивалент.

17. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-16, отличающиеся тем, что антитело к PD-1 вводят внутривенно или подкожно.

18. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-17, отличающиеся тем, что 350 мг антитела к PD-1 вводят каждые три недели.

19. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-18, отличающиеся тем, что:

субъединица p35 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 23; субъединица p40 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 25;

субъединица p35 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 23, и субъединица p40 ИЛ12 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 25;

субъединица p35 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 22; субъединица p40 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 24; или

субъединица p35 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 22, и субъединица p40 ИЛ12 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 24.

20. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-19, отличающиеся тем, что:

hTERT содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 20 или кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 19;

WT-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 26 или кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 27; и/или

PSMA содержит аминокислотную последовательность SEQ ID №: 28 или кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 29.

21. Способ или вакцина для применения по п. 20, при этом способ включает введение субъекту или вакцина содержит 3 мг плазмидной ДНК, кодирующей hTERT, 3 мг плазмидной ДНК, кодирующей PSMA, 3 мг плазмидной ДНК, кодирующей WT-1, и 1 мг плазмиды, кодирующей ИЛ-12.

22. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-21, отличающиеся тем, что ИЛ-12 и иммуногенную композицию вводят совместно путем внутримышечной инъекции каждые три недели в виде четырех доз, а затем каждые девять недель.

23. Способ или вакцина для применения по п. 22, дополнительно включающие электропорацию после каждой внутримышечной инъекции.

24. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-23, дополнительно включающие введение субъекту одной или более доз лучевой терапии.

25. Способ или вакцина для применения по п. 24, отличающиеся тем, что каждая доза лучевой терапии содержит 20-50 Грей.

26. Способ или вакцина для применения по п. 25, отличающиеся тем, что лучевая терапия представляет собой фракционированную лучевую терапию.

27. Способ или вакцина для применения по п. 26, отличающиеся тем, что фракционированная лучевая терапия содержит 2-20 фракций.

28. Способ или вакцина для применения по п. 27, отличающиеся тем, что фракционированная лучевая терапия содержит 40 Грей в виде 15 фракций.

29. Способ или вакцина для применения по п. 28, отличающиеся тем, что лучевую терапию применяют в течение 21 дня подряд.

30. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-29, дополнительно включающие введение субъекту одной или более доз химиотерапевтического агента; при

этом необязательно химиотерапевтический агент представляет собой темозоломид.

31. Способ или вакцина для применения по п. 30, включающие введение 75 мг/м^2 темозоломида субъекту один раз в сутки в течение 21 дня подряд совместно с фракционированной лучевой терапией.

32. Способ или вакцина для применения по п. 30 или п. 31, дополнительно включающие применение поддерживающей терапии темозоломидом у субъекта, если у субъекта наблюдается опухоль, характеризующаяся метилированным промотором MGMT.

33. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-32, отличающиеся тем, что рак мозга представляет собой глиобластому.

34. Способ или вакцина для применения по п. 33, отличающиеся тем, что рак мозга представляет собой глиобластому с метилированным MGMT.

35. Способ или вакцина для применения по п. 33, отличающиеся тем, что рак мозга представляет собой глиобластому с неметилированным MGMT.

36. Способ или вакцина для применения по любому из пп. 9-35, отличающиеся тем, что способ, как доказано клинически, является безопасным, эффективным или как безопасным, так и эффективным.

37. Иммунологическая композиция по любому из пп. 1-4 для применения в производстве лекарственного препарата для лечения рака мозга.

38. Иммунологическая композиция для применения по п. 37, отличающаяся тем, что рак мозга представляет собой глиобластому.

39. Иммунологическая композиция для применения по п. 38, отличающаяся тем, что рак мозга представляет собой глиобластому с метилированным MGMT.

40. Иммунологическая композиция для применения по п. 38, отличающаяся тем, что рак мозга представляет собой глиобластому с неметилированным MGMT.

По доверенности

Фиг. 2

Демографические характеристики исследуемой популяции

	Группа А (n=32)	Группа В
Возраст <65 лет (%)	25 (78)	13 (65)
Возраст >65 лет (%)	7 (22)	7 (35)
Медианный возраст, годы (диапазон)	59 (19-71)	63 (33-78)
Женский пол (%)	11 (34)	7 (35)
Мужской пол (%)	21 (66)	13 (65)
Индекс общего состояния по шкале Карнофски	23 (72)	17 (85)
Индекс общего состояния по шкале Карнофски	9 (28)	3 (15)
Медианное время проведения исследования от первой дозы (дни; интервал)	541 (113-722)	557 (40-750)
Медианное воздействие* (Циклы введения доз;	6 (1-14)	7,5 (1-13)
Медианное воздействие* (Циклы введения доз;	10 (1-34)	17 (1-29)
Субъекты, получающие дексаметазон в день 0 (N,	14 (44)	5 (25)
Прекращение терапии на сегодняшний день (N)**	28	13

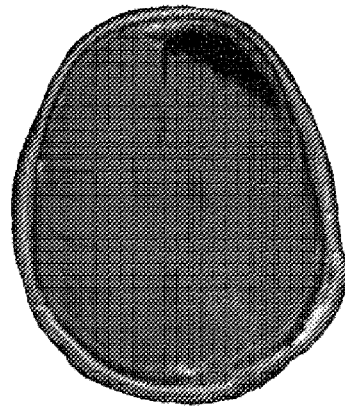
INO-5401 дают в недели Q3 x 4, а затем в недели Q9, цемиплимаб дают в недели Q3

Большинство субъектов, которые прекратили исследование, прекратили терапию из-за прогрессирования заболевания. 11 Субъектов продолжают терапию на момент проведения анализа.

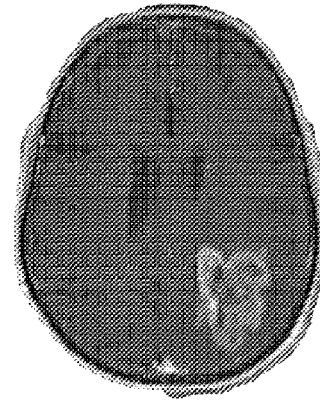
Фиг. 3

ТИПИЧНЫЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ МРТ ОТ ДВУХ ПАЦИЕНТОВ

ИСХОДНОЕ
СОСТОЯНИЕ



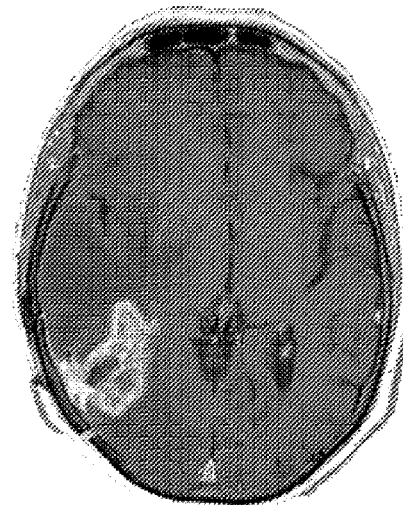
НЕДЕЛЯ 9



ИСХОДНОЕ
СОСТОЯНИЕ



НЕДЕЛЯ 9



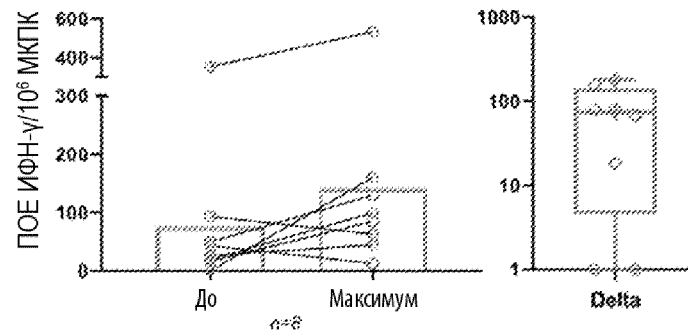
НЕДЕЛЯ 21



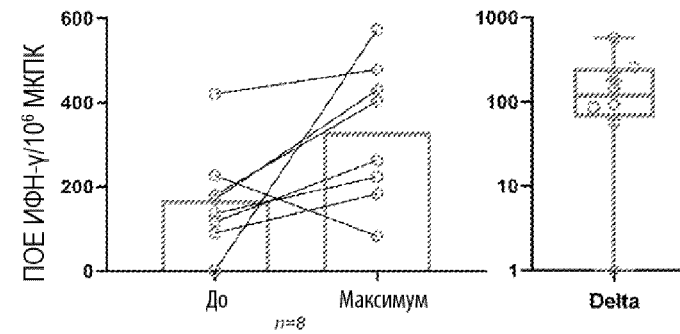
Фиг. 4

Иммуногенность с помощью ELISpot

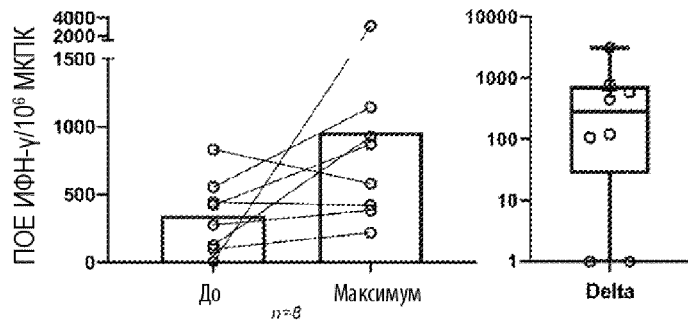
Ответы, специфичные к WT1



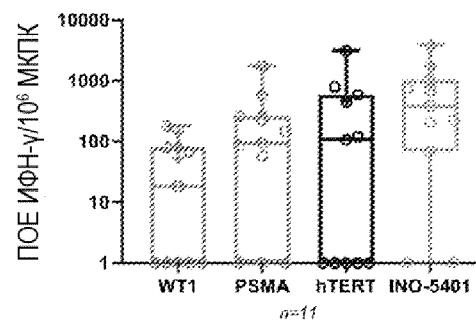
Ответы, специфичные к PSMA



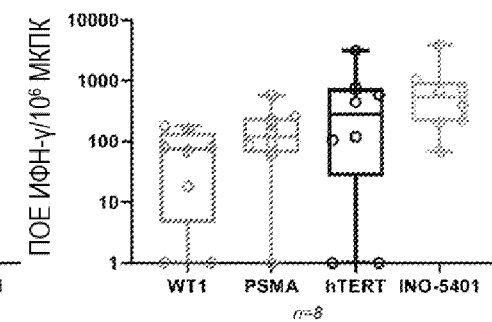
Ответы, специфичные к hTERT



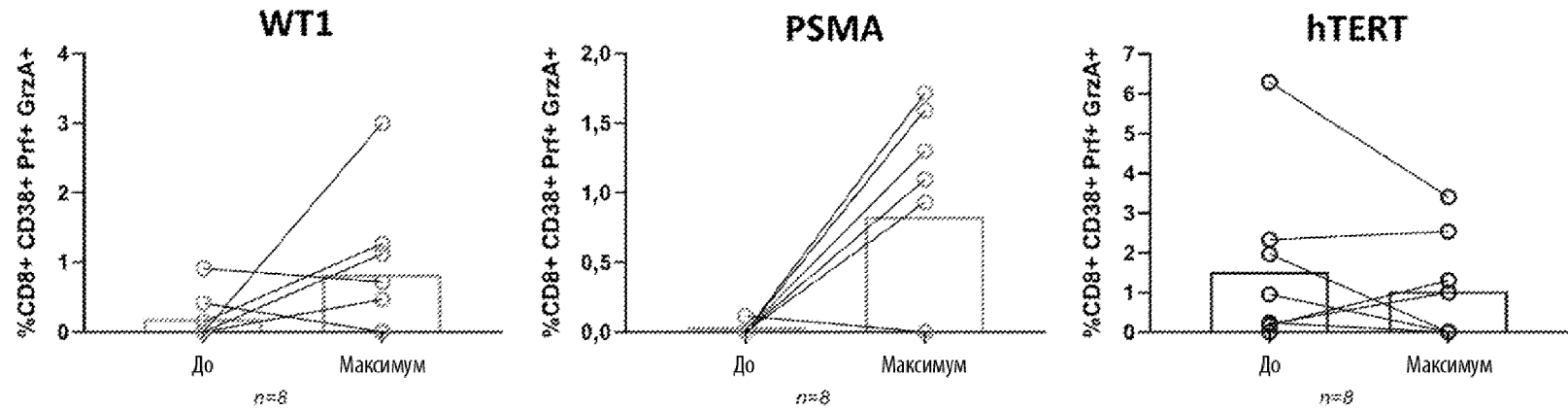
Все субъекты



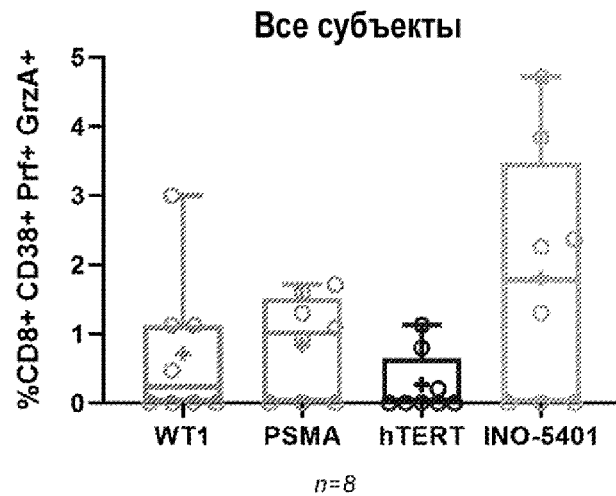
Субъекты, для которых доступен образец к 24 неделе



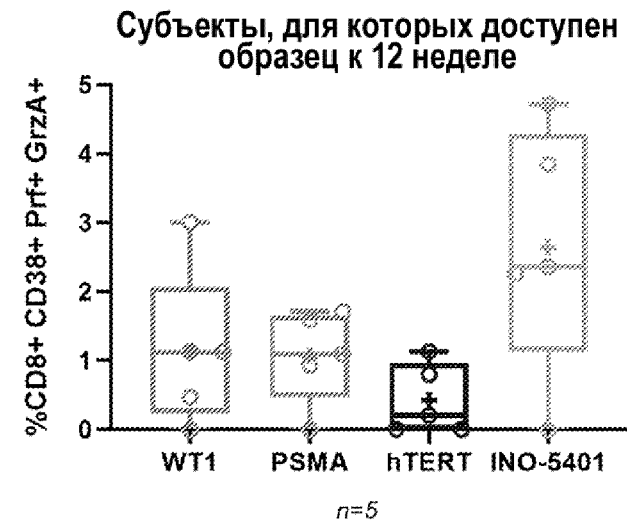
Фиг. 5А



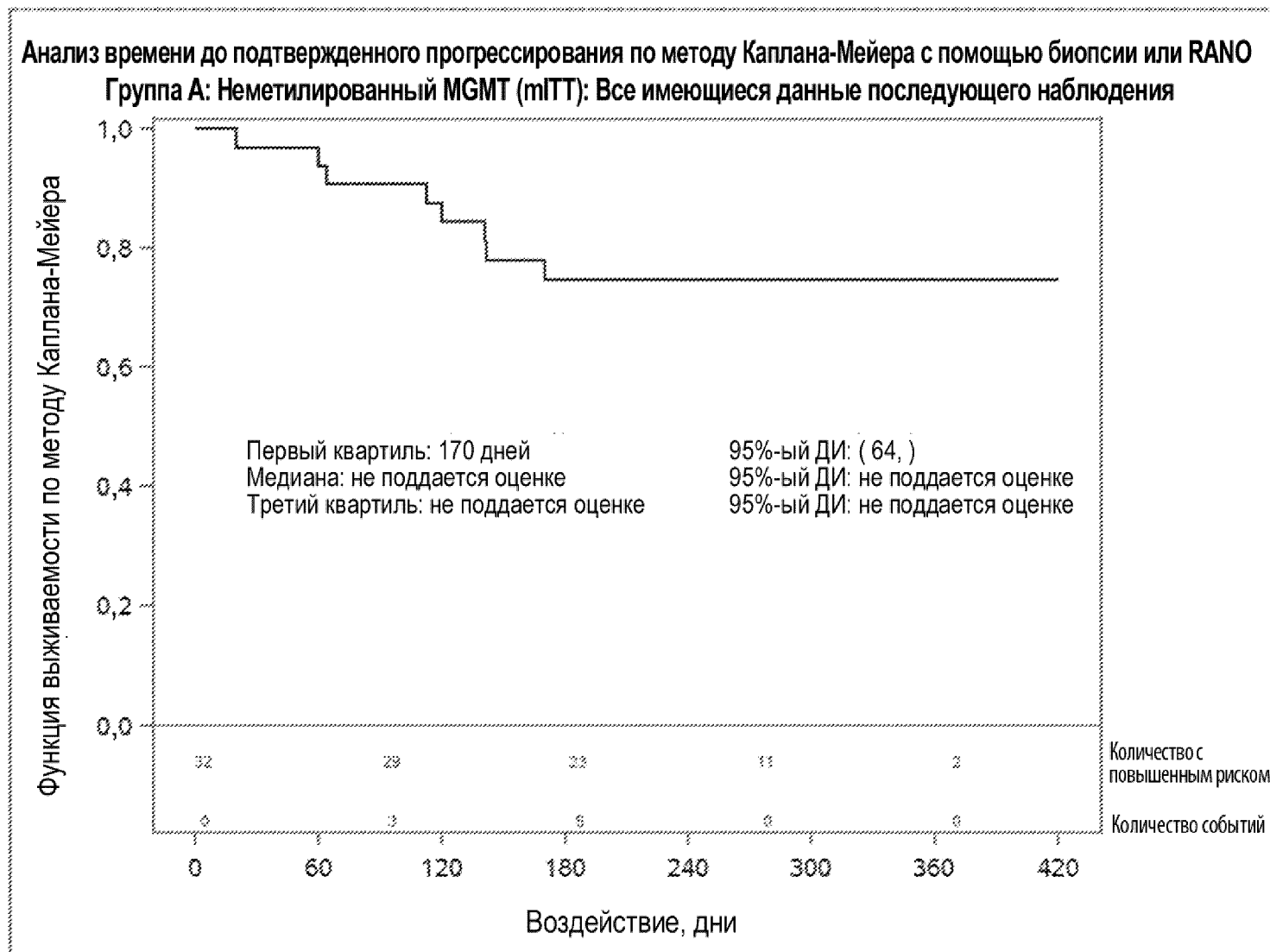
Фиг. 5В



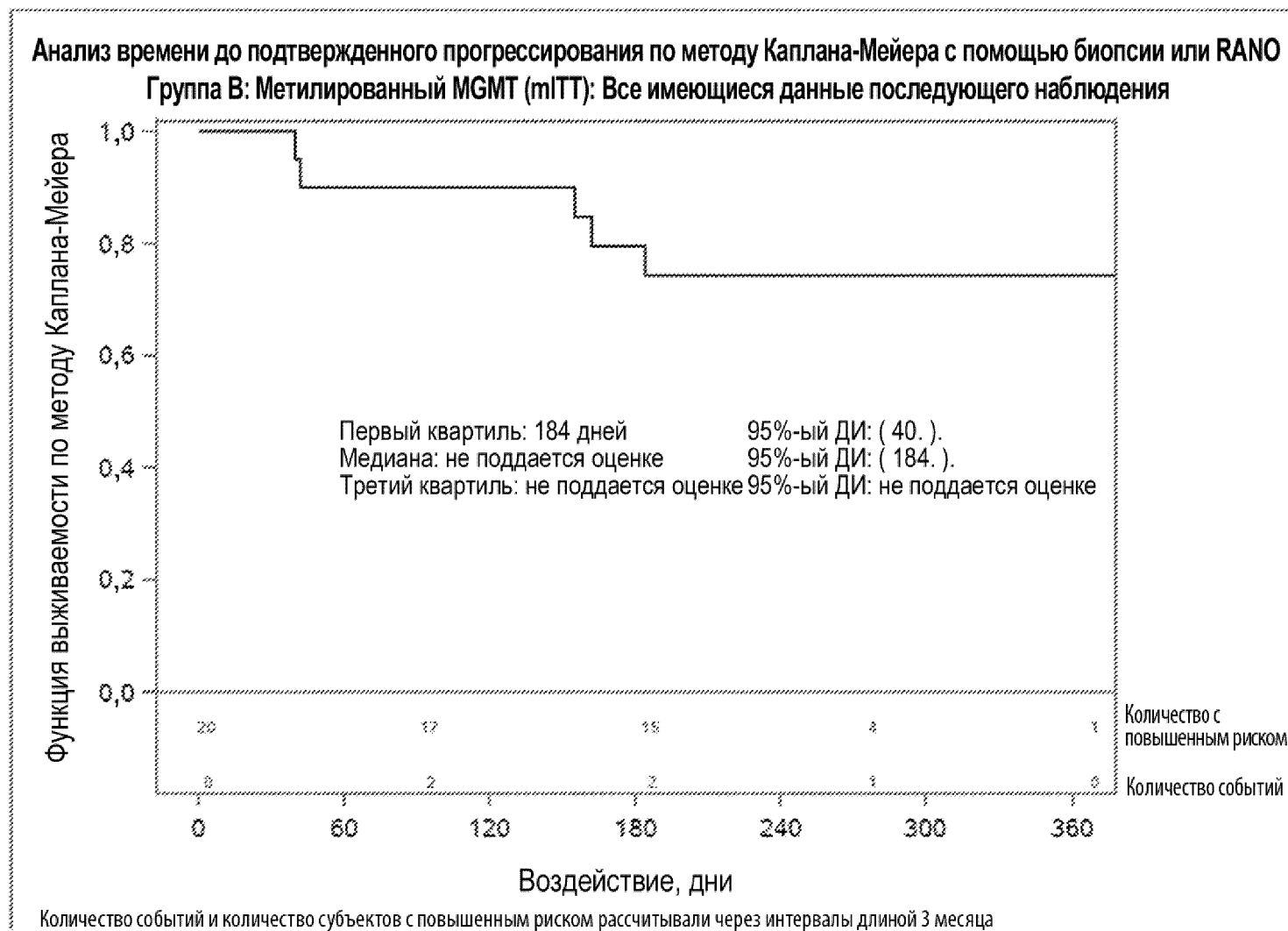
Фиг. 5С



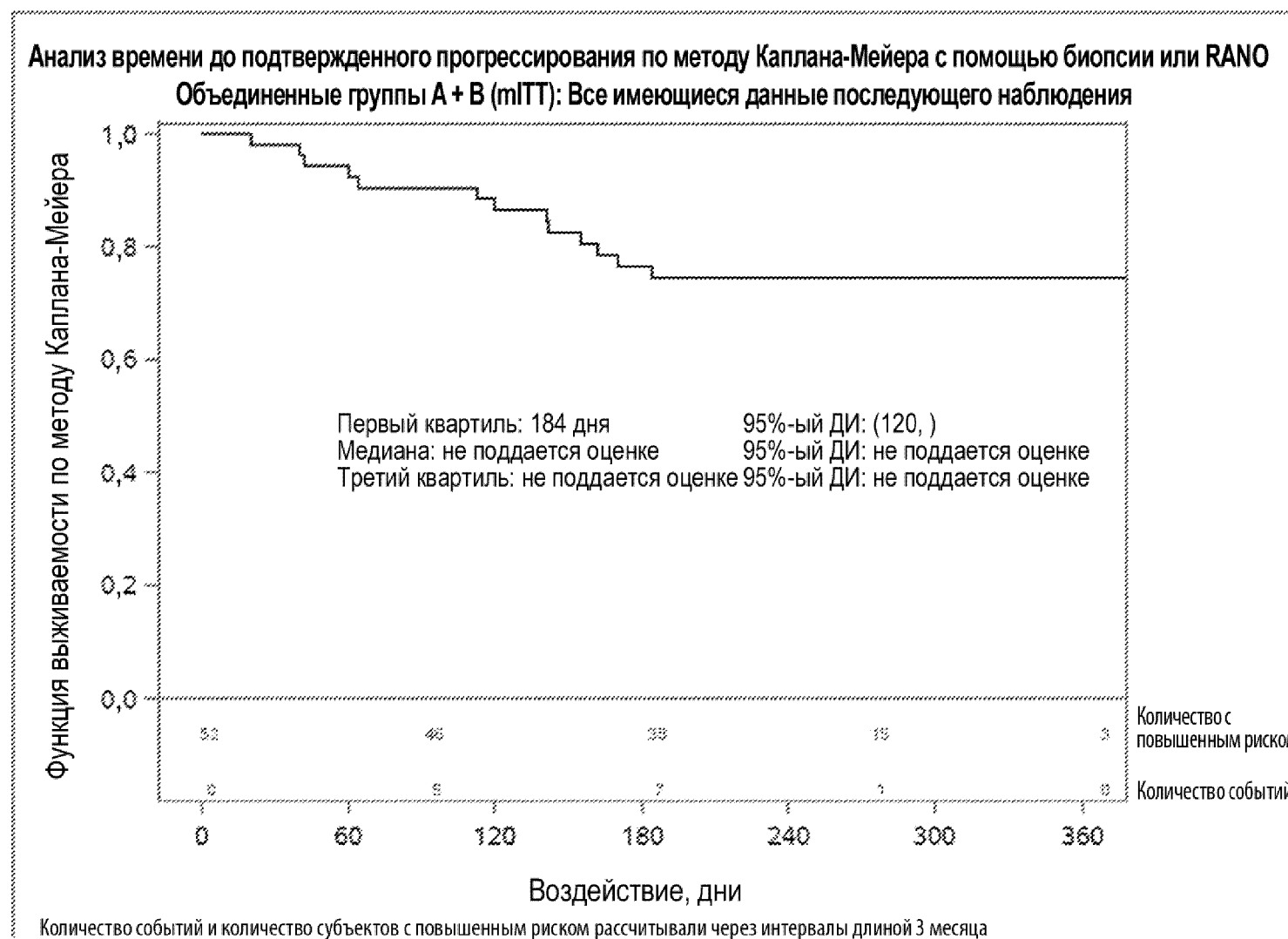
Фиг. 6 - Подтвержденная ВБП (Группа А)



Фиг. 7 – Подтвержденная ВБП (Группа В)



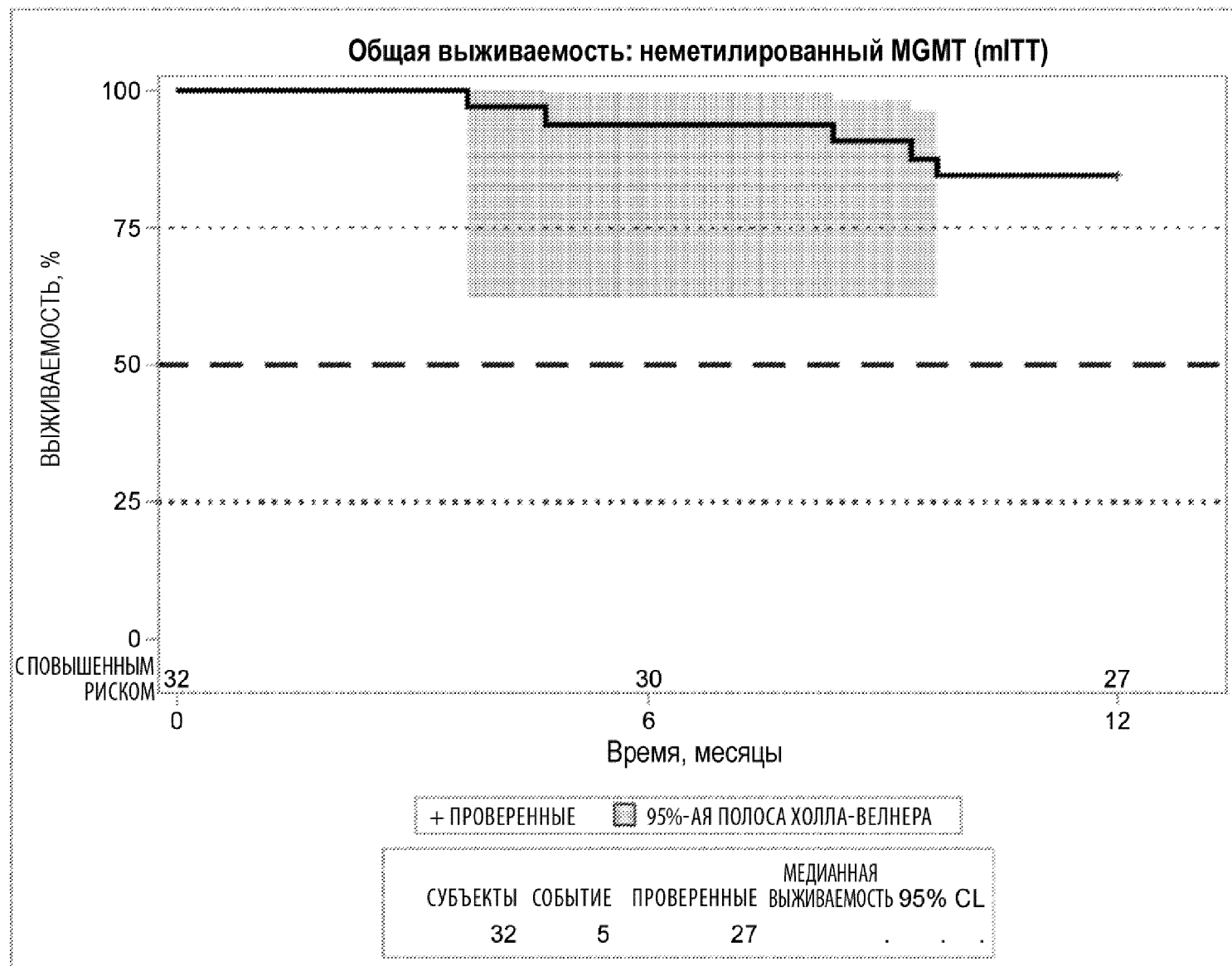
Фиг. 8 – Подтвержденная ВБП (Группа А + В)



Фиг. 9

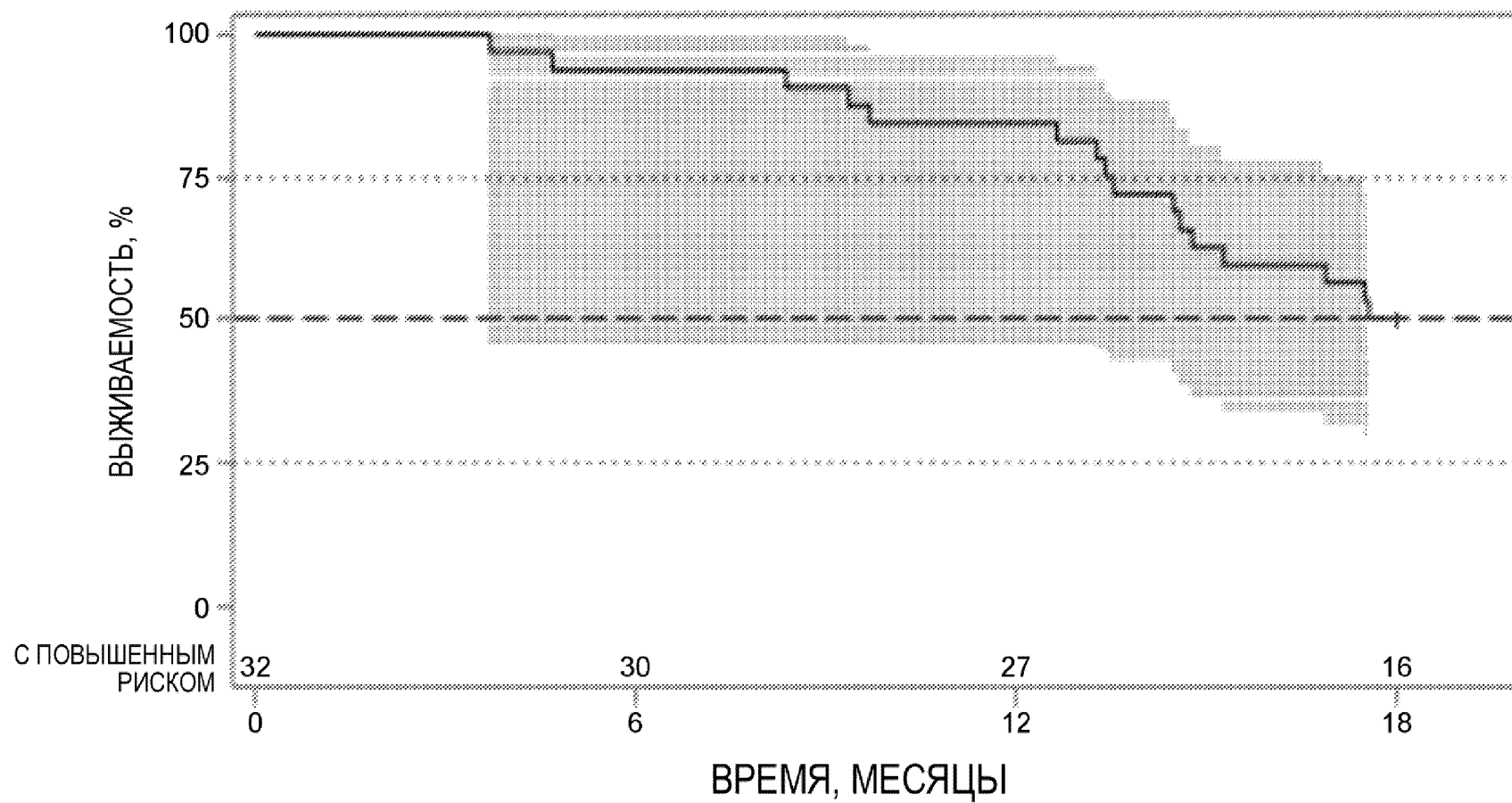
Группа	Общее количество субъектов	Количество субъектов без осложнений	ВБП6 (%)	95%-ый ДИ Нижняя граница	95%-ый ДИ Верхняя граница
Группа А (неметилированный MGMT)	32	24	75,00	56,60	88,54
Группа В (метилированный MGMT)	20	16	80,00	56,34	94,27
Обе объединенные группы	52	40	76,92	63,16	87,47

Фиг. 10А

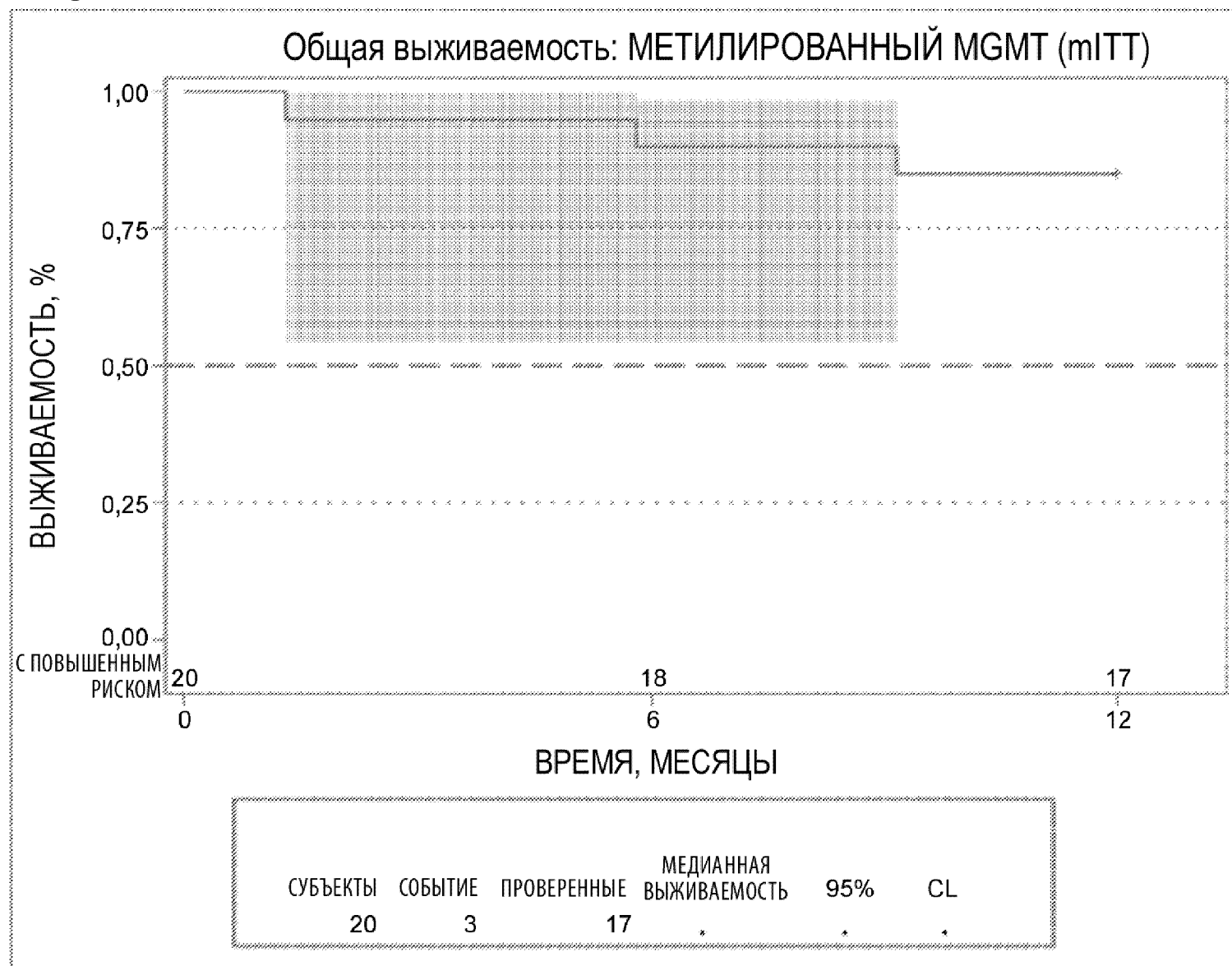


Фиг. 10В

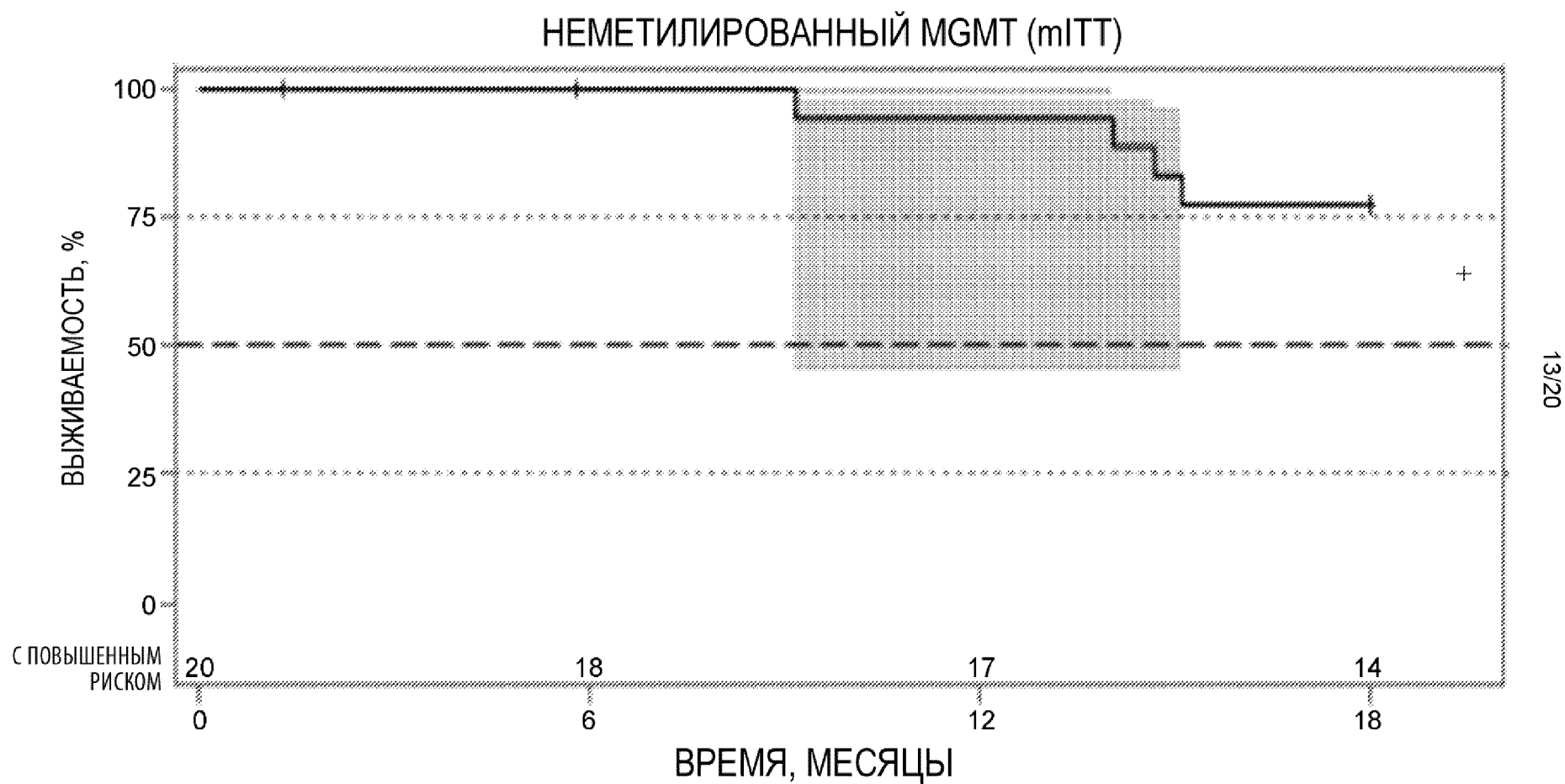
НЕМЕТИЛИРОВАННЫЙ MGMT (mITT)



Фиг. 11А

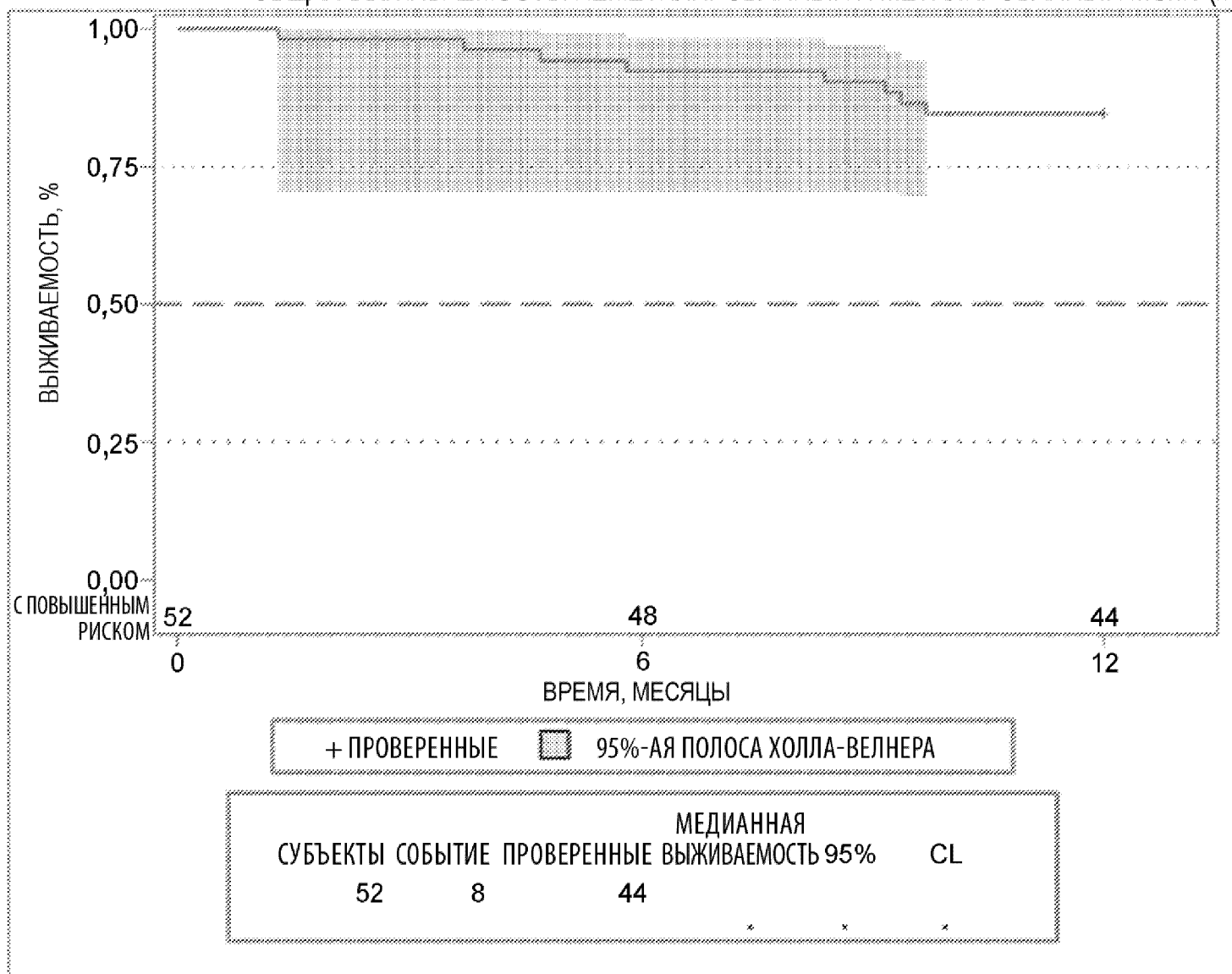


Фиг. 11В



Фиг. 12

ОБЩАЯ ВЫЖИВАЕМОСТЬ: НЕМЕТИЛИРОВАННЫЙ И МЕТИЛИРОВАННЫЙ MGMT (mITT)



Фиг. 13 - Промежуточный анализ общей выживаемости через 18 месяцев

Медианная ОВ; неметилированный (группа А)	17,9 месяцев (14,5-НД)	
Медианная ОВ; метилированный (группа В)	НД (18,4-НД)	
Общая выживаемость через 12 месяцев	n живых/общее N	ОВ12 (95%-ый ДИ)
Неметилированный MGMT (группа А)	27/32	84,4 (67,2-94,7)
Метилированный MGMT (группа В)	17*/20	85,0 (62,1-96,8)
Совместно	44/52	84,6 (71,9-93,1)
Общая выживаемость через 18 месяцев	n живых/Общее N	ОВ18 (95%-ый ДИ)
Неметилированный MGMT (группа А)	16/32	50 (31,9-68,1)
Метилированный MGMT (группа В)	14/20*	70 (45,7-88,1)
Совместно	30/52	57,7 (14,5-71,3)

*Два пациента в группе В отзывали согласие о дополнительном наблюдении на 3 недели и включены в знаменатель

НД: не достигнуто

Фиг. 14 Побочные эффекты >3 степени в соответствии с СТCAE NCI, сообщаемые для более чем одного субъекта

Класс системы органов Предпочтительный термин	Неметилированный MGMT (группа А) (N=32) n(%)	Метилированный MGMT (группа В) (N=20) n(%)	Объединенный неметилированный/ метилированный MGMT (N=52) n(%)
Нарушения со стороны кроветворной и лимфатической системы			
Анемия	1 (3,1)	1 (5,0)	2 (3,8)
Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта			
Диарея	2 (6,3)	0 (0,0)	2(3,8)
Инфекции и заражения паразитами			
Пневмония	2 (6,3)	0 (0,0)	2(3,8)
Исследования			
Повышенная амилаза	1 (3,1)	1 (5,0)	2 (3,8)
Повышенная аланинаминотрансфераза	2 (6,3)	2 (10,0)	4(7,7)
Повышенная липаза	1 (3,1)	2 (10,0)	3(5,8)
Снижение числа лимфоцитов	4(12,5)	2 (10,0)	6 (11,5)
Снижение числа нейтрофилов	0 (0,0)	3 (15,0)	3 (5,8)
Снижение числа тромбоцитов	2 (6,3)	4 (20,0)	6 (11,5)
Снижение числа лейкоцитов	0 (0,0)	3 (15,0)	3 (5,8)
Нарушения со стороны обмена веществ и питания			
Гипонатриемия	2 (6,3)	0(0,0)	2 (3,8)
Нарушения со стороны скелетно-мышечной и соединительной ткани			
Мышечная слабость	2 (6,3)	0	2(3,8)
Доброкачественные, злокачественные и неустановленные новообразования (включая цисты и полипы)			
Воспаление опухоли	3 (9,4)	1 (5,0)	4(7,7)
Нарушения со стороны нервной системы			
Гемипарез	1 (3,1)	1 (5,0)	2(3,8)
Эпилептический припадок	4(12,5)	0 (0,0)	4(7,7)
Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения			
Пневмонит	2 (6,3)	0 (0,0)	2(3,8)
Эмболия легких	2 (6,3)	1 (5,0)	3 (5,8)
Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей			
Макуло-папулезная сыпь	2 (6,3)	0 (0,0)	2 (3,8)

Примечание: MGMT = Об-метилгуанинметилтрансфераза. TEAE = возникшее во время лечения нежелательное явление. Побочные явления классифицируют с использованием Медицинского словаря регуляторной деятельности (MedDRA) версии 22. Если субъект демонстрировал более одного побочного явления в конкретном классе системы органов, то субъекта учитывают один раз для этого класса системы органов. Если субъект демонстрировал более одного явления в конкретном предпочтительном термине, то субъекта учитывают только один раз для этого предпочтительного термина по наивысшей степени тяжести.

Фиг. 15 Побочные эффекты, связанные с иммунной системой

Класс системы органов Предпочтительный термин	Неметилирова нный MGMT (группа А) (N = 32)	Метилированны й MGMT (группа В) (N = 20)	Объединенный неметилированный/ метилированный MGMT (N = 52)
Нарушения со стороны сердца			
Миокардит	1	1	
Нарушения со стороны эндокринной системы			
Несахарный диабет	0	1	1
Гипотиреоз, связанный с иммунной системой	2	0	2
Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта			
Диарея	3	1	4
Иммуноопосредованн ый энтероколит	1	0	1
Панкреатит	0	1	1
Осложнения общего характера и реакции в месте введения			
Усталость		1	1
Гриппоподобное заболевание	1	1	2
Ночная потливость	0	1	1
Лихорадка	2	2	4
Нарушения со стороны печени и желчевыводящих путей			
Иммуноопосредованны й гепатит*	3	0	3
Нарушения со стороны иммунной системы			
Повышенная чувствительность	1	0	1
Тяжелая миастения	0	1	1
Исследования			
Повышенная аланинаминотрансфера за	4	1	5
Повышенная амилаза	1	0	1
Повышенная аспартатаминотрансфер аза	4	0	1
Повышенная щелочная фосфатаза	1	0	1
Повышенная липаза	0	1	1
Повышение активности трансаминаз	1	0	1
Нарушения со стороны скелетно-мышечной и соединительной ткани			
Артралгия*	4	0	4
Эозинофильный фасциит	0	1	1
Мышечная слабость	0	1	1
Миозит	0	1	1
Нарушения со стороны нервной системы			
Отек мозга	2	0	2
Аутоиммунный энцефалит	0	1	1
Головная боль	0	1	1
Доброкачественные, злокачественные и неустановленные новообразования (включая цисты и полипы)			

Фиг. 15 Побочные эффекты, связанные с иммунной системой – продолжение

Воспаление опухоли	4	1	5
Нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей			
Острое повреждение почек	1	1	2
Аутоиммунный нефрит*	3	0	3
Гематурия	0	1	1
Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения			
Пневмонит	3	0	3
Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей			
Зуд	1	1	2
Сыпь	0	1	1
Эритематозная сыпь	1	0	1
Макуло-папулезная сыпь	2	0	2
Папулезная сыпь	1	0	1
Крапивница	1	0	1

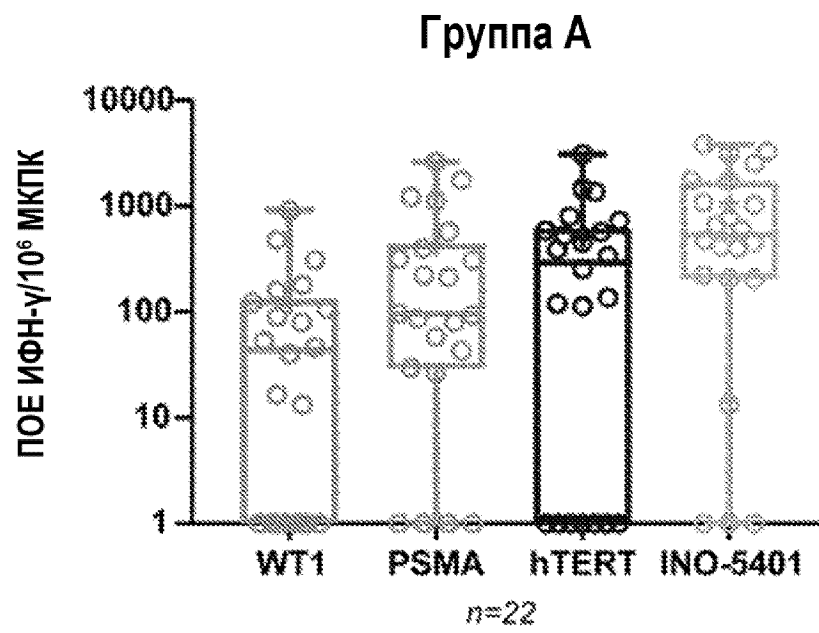
*Субъект демонстрировал одно и то же побочное явление более одного раза

Артралгия: сообщалось о 2 побочных явлениях для одного субъекта

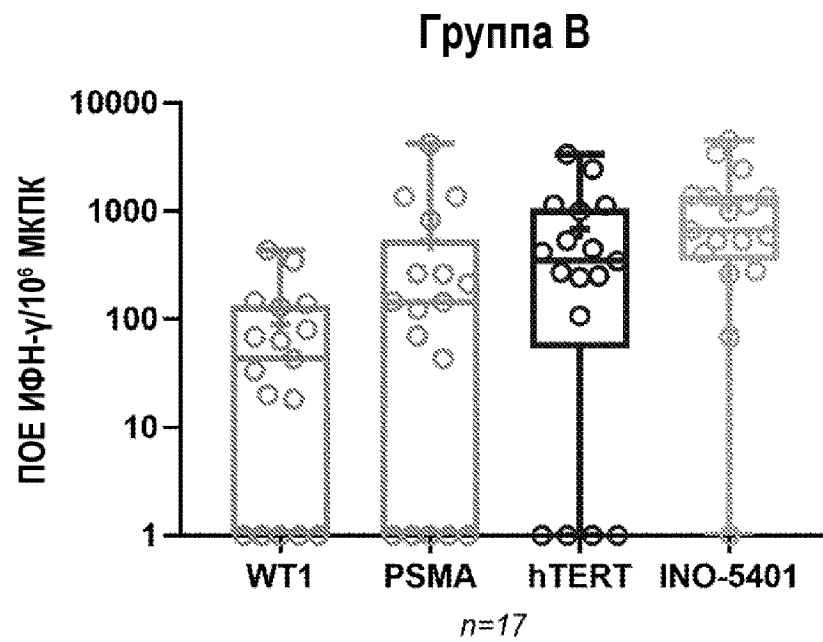
Аутоиммунный нефрит: сообщалось о 3 побочных явлениях для одного субъекта

Иммуноопосредованный гепатит: сообщалось о 2 побочных явлениях для одного субъекта

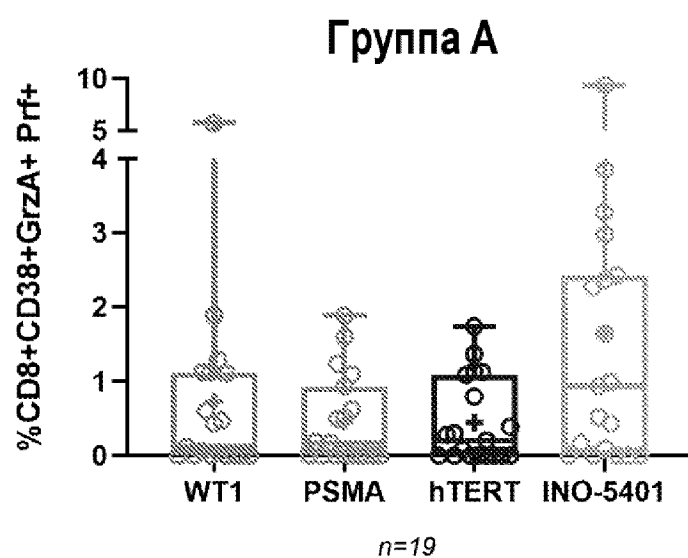
Фиг. 16А



Фиг. 16В



Фиг. 17А



Фиг. 17В

