

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293090** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.09

(51) Int. Cl. *A61K 39/12* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

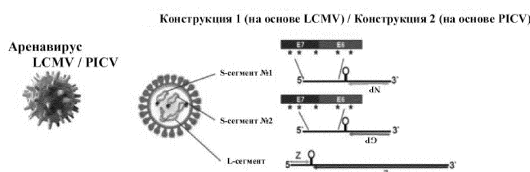
(22) Дата подачи заявки
2021.05.12

**(54) СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
АРЕНАВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ**

(31) 63/032,362; 63/173,155; 63/175,842
(32) 2020.05.29; 2021.04.09; 2021.04.16
(33) US
(86) PCT/EP2021/062728
(87) WO 2021/239471 2021.12.02
(71) Заявитель:
ХООКИПА БИОТЕХ ГМБХ (АТ)

(72) Изобретатель:
Матушанский Игорь, Хван Энди,
Катчар Киануш, Эдвардс Донна (US),
Лаутербак Хеннинг, Швендингер
Михель, Орлингер Клаус, Шмидт
Сара, Берка Урсула (АТ), Якобуччи
Коринне, Шлингер Катя (US)
(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Изобретение в целом относится к стратегиям лечения ракового заболевания с использованием аренавирусных частиц. Стратегии лечения, описанные в данном документе, предназначены для лечения раковых заболеваний, включая плоскоклеточную карциному головы и шеи, с использованием трехсегментных аренавирусных частиц, кодирующих антиген папилломавируса человека (HPV). Стратегии лечения, описанные в данном документе, могут включать введение ингибитора иммунной контрольной точки.



A1

202293090

202293090

A1

СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АРЕНАВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ

[0001] Эта заявка испрашивает приоритет по патентной заявке США № 63/032,362, поданной 29 мая 2020 года, патентной заявке США № 63/173,155, поданной 9 апреля 2021 года, и патентной заявке США № 63/175,842, поданной 16 апреля 2021 года, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0002] Настоящая заявка, в целом, относится к стратегиям лечения ракового заболевания с использованием аренавирусных частиц и, более конкретно, к стратегиям лечения в отношении терапии раковых заболеваний, включающих плоскоклеточную карциному головы и шеи, с использованием трехсегментных аренавирусных частиц, кодирующих антиген HPV, и, в некоторых аспектах введения, ингибитора иммунных контрольных точек.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Инфекцию папилломавируса 16 человека (HPV16) ассоциируют с существенной и постоянно возрастающей долей раковых заболеваний по всему миру, которые включают раковые заболевания шейки матки, головы и шеи, влагалища и анального канала (см. de Martel C, et al. Int J Cancer. 2017;141:664-670). Для пациентов с HPV16⁺ рецидивирующими или метастатическими раковыми заболеваниями вероятность долговременной выживаемости является низкой. Возникновение и поддержание HPV16⁺ злокачественного состояния требует стабильной экспрессии HPV16-специфических онкогенов E7 и E6, которые, как было показано, стимулируют трансформацию клеток в раковые клетки (см. Schmidt S, et al. Oncoimmunology. 2020;9(1):1809960; Dong Z, et al. Front Immunol. 2021;11:586796). Поэтому HPV16-специфические белки E7 и E6 могут служить в качестве иммуногенных опухолеассоциированных антигенов. Способы, описанные в данном документе, удовлетворяют потребности в лечении инфекции HPV16 и обеспечивают соответствующие преимущества.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В настоящем изобретении предлагаются способы лечения ракового заболевания у пациента, нуждающегося в лечении. Такие способы включают введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублированные (*m. e.* двойные) S-

сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16). Эффективное количество аренавирусных частиц может составлять около 5×10^5 , около 5×10^6 , около 5×10^7 , около 1×10^8 или около 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU).

[0005] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы для лечения ракового заболевания включает лечение HPV 16⁺ ракового заболевания, независимо от его происхождения. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как сквамозная карцинома головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак анального канала. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак влагалища. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак вульвы.

[0006] В некоторых вариантах осуществления пациент получил прогрессирование или рецидив опухоли в ответ на по меньшей мере одну стандартную терапию до применения указанного способа. В некоторых особых вариантах осуществления по меньшей мере одна стандартная терапия включает в себя монотерапию пембролизумабом. В других вариантах осуществления у пациента имеются только целевые поражения в лимфатических узлах.

[0007] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц с использованием внутривенной инъекции, внутриопухолевой инъекции или их комбинации. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, описанной в данном документе, включает внутривенную инъекцию. В некоторых вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, описанной в данном документе, включает внутриопухолевую инъекцию. В некоторых вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, описанной в данном документе, включает внутриопухолевую инъекцию с последующей внутривенной инъекцией.

[0008] В некоторых вариантах осуществления внутривенные инъекции вводят с частотой каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8 недель.

[0009] В некоторых вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно или вводят в течение ограниченного количества циклов. В конкретных вариантах осуществления ограниченное количество циклов составляет два, три, четыре, пять или шесть. В других особых вариантах осуществления эффективное количество сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, вводимой в течение ограниченного количества циклов, на один порядок больше, чем эффективное количество, используемое при длительных внутривенных инъекциях. В других вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с более высокой частотой с последующей более низкой частотой. В особых вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 3 недели с последующей частотой каждые 6 недель. В одном варианте осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов с последующей частотой каждые 6 недель в течение последующих циклов. В других вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 4 недели с последующей частотой каждые 8 недель. В одном варианте осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 4 недели в течение 4 циклов с последующей частотой каждые 8 недель в течение последующих циклов. В дополнительных вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы включает внутриопухолевые инъекции.

[0010] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы могут также включать введение эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки. Пример ингибитора иммунной контрольной точки, который является особенно пригодным для применения в способах, описанных в данном документе, включает ингибитор контрольной точки на основе анти-PD-1 (белок 1 запрограммированной гибели клеток). Такой ингибитор контрольной точки анти-PD-1 может быть таким антителом, как ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб или цемиплимаб.

[0011] В некоторых вариантах осуществления в предложенных в данном документе способах применяют сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, содержащие Конструкцию 1, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы получены из LCMV, включая штамм MP, штамм WE, штамм Armstrong, клон 13 штамма Armstrong или клон 13 штамма LCMV, экспрессирующих гликопротеин штамма WE LCMV вместо эндогенного гликопротеина клона 13 LCMV. В одном варианте осуществления эффективное количество Конструкции 1 составляет 5×10^6 RCV FFU, и Конструкцию 1 вводят с частотой каждые 3 недели.

[0012] В некоторых вариантах осуществления в предложенных в данном документе способах применяют сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, содержащие Конструкцию 2, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы получены из вируса Пичинде (PICV), включая изолят P18 штамма Munchique CoAn4763, штамм P2 или любой из нескольких изолятов, описанных Trapido и коллегами (Trapido *et al*, 1971, Am J Trop Med Hyg, 20: 631-641).

[0013] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к изменению цитокиновых или хемокиновых уровней в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых особых вариантах осуществления цитокины и хемокины включают в себя IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельный белок (IP)-10 и TNF α .

[0014] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых особых вариантах осуществления HPV16 E7/E6-специфические Т-клетки являются положительными по CD8, IFN- γ , TNF α и/или CD107a. В других вариантах осуществления описанные выше Т-клетки выявляют без предварительной стимуляции и/или размножения *in-vitro*. В еще других вариантах осуществления способ приводит к большей инфильтрации Т-клеток в опухолевые ткани по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо.

[0015] В некоторых вариантах осуществления способ приводит к улучшению одного

или более конечных критериев оценки эффективности с использованием Критериев оценки ответа солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) и/или Критериев оценки иммунного ответа солидных опухолей (Immune Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, iRECIST) по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. В некоторых особых вариантах осуществления улучшение одного или более конечных критериев оценки эффективности включает в себя более высокий процент частоты объективных ответов, более высокий процент частоты контроля заболевания, более высокий процент частичных ответов, более длительную выживаемость без прогрессирования и/или более длительную общую выживаемость.

[0016] В данном документе также предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из первого вида аренавируса, и их эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из второго вида аренавируса, и их эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

[0017] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ дополнительно содержит повторения (i) и/или (ii). В некоторых вариантах осуществления вид аренавируса в (i) представляет собой LCMV, и вид аренавируса в (ii) представляет собой PICV. В других вариантах осуществления вид аренавируса в (i) представляет собой PICV, и вид аренавируса в (ii) представляет собой LCMV.

[0018] В данном документе также предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), полученный из первого вида аренавируса, причем эффективное количество

составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из второго вида аренавируса, в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления первый вид аренавируса в (i) представляет собой вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и второй вид аренавируса в (ii) представляет собой вирус Пичинде (PICV). В других вариантах осуществления первый вид аренавируса в (i) представляет собой PICV, и второй вид аренавируса в (ii) представляет собой LCMV.

[0019] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ, включающий одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления введение сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц в (i) и (ii) включает внутривенную инъекцию. В некоторых вариантах осуществления каждая сессия продолжается в течение 4 недель, 6 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель, 14 недель или 16 недель.

[0020] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы для лечения ракового заболевания включает лечение HPV 16⁺ ракового заболевания, независимо от его происхождения. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как сквамозная карцинома головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак анального канала. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак влагалища.

[0021] В некоторых вариантах осуществления пациент получил прогрессирование или рецидив опухоли в ответ на по меньшей мере одну стандартную терапию до применения указанного способа. В некоторых особых вариантах осуществления по меньшей мере одна стандартная терапия включает в себя монотерапию пембролизумабом. В других вариантах осуществления у пациента имеются только целевые поражения в лимфатических узлах.

[0022] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц с использованием внутривенной инъекции, внутриопухолевой инъекции или их комбинации. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, описанной в данном документе, включает внутривенную инъекцию. В некоторых вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, описанной в данном документе, включает внутриопухолевую инъекцию. В некоторых вариантах осуществления введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы, описанной в данном документе, включает внутриопухолевую инъекцию с последующей внутривенной инъекцией.

[0023] В некоторых вариантах осуществления сессии проводят длительно и повторяют в течение ограниченного количества сессий. В конкретных вариантах осуществления ограниченное количество сессий составляет две, три, четыре, пять или шесть. В некоторых особых вариантах осуществления эффективное количество сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, вводимых в течение ограниченного количества циклов, на один порядок больше, чем эффективное количество, используемое в длительных сессиях. В некоторых особых вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят в более коротких сессиях с последующими более длительными сессиями. В некоторых конкретных вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят сессиями, каждая из которых продолжается 6 недель с последующими сессиями, каждая из которых продолжается 12 недель. В некоторых конкретных вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят 2 сессиями, каждая из которых продолжается 6 недель с последующими сессиями, каждая из которых продолжается 12 недель. В некоторых конкретных вариантах осуществления

внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят сессиями, каждая из которых продолжается 8 недель с последующими сессиями, каждая из которых продолжается 16 недель. В некоторых конкретных вариантах осуществления внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят 2 сессиями, каждая из которых продолжается 8 недель с последующими сессиями, каждая из которых продолжается 16 недель.

[0024] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает внутриопухолевую инъекцию перед внутривенными инъекциями. В особых вариантах осуществления внутриопухолевую инъекцию вводят за 3 недели перед внутривенными инъекциями. В других особых вариантах осуществления внутриопухолевую инъекцию вводят с Конструкцией 1.

[0025] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы могут также включать введение эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки. Пример ингибитора иммунной контрольной точки, который является особенно пригодным для применения в способах, описанных в данном документе, включает ингибитор контрольной точки на основе анти-PD-1 (белок 1 запрограммированной гибели клеток). Такой ингибитор контрольной точки анти-PD-1 может быть таким антителом, как ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб или цемиплимаб.

[0026] В некоторых вариантах осуществления в предложенных в данном документе способах применяют сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, содержащие Конструкцию 1, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы получены из LCMV, включая штамм MP, штамм WE, штамм Armstrong, клон 13 штамма Armstrong или клон 13 штамма LCMV, экспрессирующих гликопротеин штамма WE LCMV вместо эндогенного гликопротеина клона 13 LCMV.

[0027] В некоторых вариантах осуществления в предложенных в данном документе способах применяют сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, содержащие Конструкцию 2, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные

трехсегментные аренавирусные частицы получены из PICV, включая изолят P18 штамма Munchique CoAn4763, штамм P2 или любой из нескольких изолятов, описанных Trapido и коллегами (Trapido *et al*, 1971, Am J Trop Med Hyg, 20: 631-641).

[0028] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к изменению уровней цитокиновых или хемокиновых уровней в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых особых вариантах осуществления цитокины и хемокины включают в себя IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельный белок (IP)-10 и TNF α .

[0029] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых особых вариантах осуществления HPV16 E7/E6-специфические Т-клетки являются положительными по CD8, IFN- γ , TNF α и/или CD107a. В других вариантах осуществления описанные выше Т-клетки выявляют без предварительной стимуляции и/или размножения *in-vitro*. В еще других вариантах осуществления способ приводит к большей инфильтрации Т-клеток в опухолевые ткани по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо.

[0030] В некоторых вариантах осуществления способ приводит к улучшению одного или более конечных критериев оценки эффективности с использованием Критериев оценки ответа солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) и/или Критериев оценки иммунного ответа солидных опухолей (Immune Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, iRECIST) по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. В некоторых особых вариантах осуществления улучшение одного или более конечных критериев оценки эффективности включает в себя более высокий процент частоты объективных ответов, более высокий процент частоты контроля заболевания, более высокий процент частичных ответов, более длительную выживаемость без прогрессирования и/или более длительную общую выживаемость.

[0031] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , $5 \times$

10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и причем Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов с продолжительными циклами с частотой каждые 6 недель; и введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0032] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0033] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0034] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0035] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0036] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0037] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0038] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных

вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0039] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0040] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0041] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у

нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0042] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0043] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба

внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[0044] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0045] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0046] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного

количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0047] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0048] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0049] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту

эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[0050] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и при этом Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 3 циклов, и способ завершается после 3 циклов.

[0051] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[0052] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[0053] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[0054] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[0055] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[0056] В данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i.

введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^9 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[0057] В данном документе предложена нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 1 или 2.

[0058] В данном документе предложена нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[0059] В некоторых вариантах осуществления предложенная в данном документе нуклеиновая кислота представляет собой РНК.

[0060] В данном документе предложена клетки-хозяин, содержащая нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[0061] В данном документе предложена трехсегментная частица LCMV, содержащая нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 3, 4 и 5.

[0062] В данном документе предложена трехсегментная частица вируса Пичинде, содержащая нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8.

[0063] В данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая трехсегментную частицу LCMV, содержащую нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: NO: 3, 4 и 5, или трехсегментную частицу вируса Пичинде, содержащую нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0064] В некоторых вариантах осуществления трехсегментная аренавирусная частица, содержащая оптимизированную по динуклеотидам нуклеотидную последовательность E7E6 HPV16, может иметь стабильную экспрессию антигена HPV после пересева в течение по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 поколений, может иметь одинаковую экспрессию кодируемого гибридного белка HPV или индуцировать сильные иммунные

ответы против кодируемого гибридного белка HPV.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0065] ФИГ. 1 показывает онкологическую нагрузку HPV и раковых заболеваний, родственных HPV.

[0066] ФИГ. 2А – 2С показывают схематические изображения аренавируса дикого типа (например, LCMV или PICV), репликационно-компетентную трехсегментную аренавирусную частицу, полученную из аренавируса LCMV или PICV, кодирующую неонкогенный гибридный белок E7/E6 HPV16⁺, и режим аттенуации реплицирующихся трехсегментных аренавирусных частиц. **ФИГ. 2А** показывает частицу аренавируса (LCMV и PICV) дикого типа (слева) и ее геном (справа). Геном на основе антисмысловой РНК кодирует 4 вирусных белка: GP (гликопротеин), NP (нуклеопротеин), L (РНК-направляемая РНК полимераз) и Z (RING-пальцевый белок Z). **ФИГ. 2В** показывает сконструированную трехсегментную аренавирусную частицу (Конструкция 1; вектор на основе LCMV, Конструкция 2: вектор на основе PICV), которая содержит искусственно дуплицированные S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16 с 5 аминокислотными мутациями для удаления онкогенного потенциала E7 и E6, показанными звездочками (*) и либо GP, либо NP, а также L-сегмент. **ФИГ. 2С** показывает неэффективную упаковку 3 геномных сегментов, что приводит к аттенуации Конструкции 1 и Конструкции 2 по сравнению с LCMV и PICV диких типов, соответственно.

[0067] ФИГ. 3А – 3С показывают результаты доклинических исследований на мышах сконструированной трехсегментной аренавирусной частицы на основе LCMV из ФИГ. 2В. Такие частицы нацеливаются на дендритные клетки и другие антигенпрезентирующие клетки для стимуляции иммунной системы антигенспецифическим образом. Сконструированные трехсегментные аренавирусные частицы на основе LCMV индуцируют сильный Т-клеточный ответ, специфически направленный против HPV 16⁺ опухолевых клеток. **ФИГ. 3А** показывает иммуногенность сконструированных трехсегментных аренавирусных частиц на основе LCMV (Конструкция 1), иллюстрированную процентным содержанием HPV16 E7-специфических CD8 (CD8⁺B220⁻) Т-клеток крови у здоровых мышей, иммунизированных увеличивающимися дозами данной частицы, доставляемые внутривенным введением (BV). **ФИГ. 3В** показывает кинетику опухолевого роста у

несущих опухоли HPV16⁺ TC-1 мышей, получавших лечение увеличивающимися дозами сконструированных трехсегментных аренавирусных частиц на основе LCMV посредством ВВ введения. **ФИГ. 3С** показывает кривые выживаемости у несущих опухоли HPV16⁺ TC-1 мышей, получавших лечение сконструированными трехсегментными аренавирусными частицами (Конструкция 1) на основе LCMV посредством внутриопухолевого (ВО) или ВВ введения.

[0068] ФИГ. 4 показывает план исследования лечения, который включает как стратегию повышения дозы, так и расширения когорт приема доз. Конструкция 1 = сконструированная трехсегментная аренавирусная частица на основе LCMV из **ФИГ. 2В**; RP2D = рекомендованная доза для фазы II исследования; HNSCC = сквамозная карцинома головы и шеи; HPV 16 = папилломавирус 16 человека; ВВ = внутривенно; ВО = внутрь опухоли; RCV FFU = репликационно-компетентные вирусные бляшкообразующие единицы; анти-PD-1 = ингибитор иммунной контрольной точки PD-1.

[0069] ФИГ. 5 показывает план лечения для исследования фазы 1 с повышением дозы.

[0070] ФИГ. 6А – 6В показывает результаты для различных сигнатур цитокинов или хемокинов в сыворотке после лечения Конструкцией 1. **ФИГ. 6А** показывает результаты 30-плексных анализов на цитокины и хемокины у двенадцати пациентов в течение восьми моментов времени. Данные для дня 4 получены для десяти из двенадцати пациентов. Содержания аналитов (пг/мл) конвертировали в z-показатели. Выполняли иерархическую кластеризацию на день визита и каждый уровень аналита. **ФИГ. 6В** показаны эффекты лечения Конструкцией 1 на экспрессию выбранных ключевых цитокинов через 4 дня после лечения. У девяти из двенадцати пациентов были отобраны образцы исходного состояния и на день 4.

[0071] ФИГ. 7А – 7F показывают результаты по циркулирующим HPV E6/E7-специфическим полифункциональным Т-клеткам после однократного введения Конструкции 1 или Конструкции 2. **ФИГ. 7А** показывает результаты прямого анализа IFN-γ ELISpot в отношении изменений бляшкообразующих единиц от исходного состояния до дня 15 после введения однократной ВВ дозы Конструкции 1 или Конструкции 2. **ФИГ. 7В** показывает увеличение E6/E7-специфических Т-клеток у пациентов, получавших лечение однократной ВВ дозой Конструкции 1 или Конструкции 2. **ФИГ. 7С** показывает частоту встречаемости CD4⁺ и CD8⁺ среди общей популяции

периферических Т-клеток и частоту встречаемости $\text{IFN-}\gamma^+$, $\text{TNF-}\alpha^+$ и CD107a^+ клеток после разделения по гейтам для CD8^+ Т-клеток, полученных от одного пациента, которому доставляли одну дозу Конструкции 1. **ФИГ. 7D** показывает частоту встречаемости CD4^+ и CD8^+ среди общей популяции периферических Т-клеток и частоту встречаемости $\text{IFN-}\gamma^+$, $\text{TNF-}\alpha^+$ и CD107a^+ клеток после разделения в гейтах для CD8^+ Т-клеток, полученных от другого пациента, которому доставляли одну дозу Конструкции 1. **ФИГ. 7E** показывает частоту встречаемости CD4^+ и CD8^+ среди общей популяции периферических Т-клеток и частоту встречаемости $\text{IFN-}\gamma^+$, $\text{TNF-}\alpha^+$ и CD107a^+ клеток после разделения в гейтах для CD8^+ Т-клеток, полученных от одного пациента, которому доставляли одну дозу Конструкции 2. **ФИГ. 7F** показывает секторные диаграммы для каждого из трех пациентов, которые представляют относительную частоту встречаемости HPV16 E6/E7-специфических CD8^+ Т-клеток в комбинации трех функциональных маркеров ответа (*т. е.*, CD107a , $\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$) после однократного введения Конструкции 1 или Конструкции 2.

[0072] **ФИГ. 8** показывает E7E6-NP-S-сегмент 1 (2648 п. н.) Конструкции 1 согласно **ФИГ. 2B**. Следующие элементы указаны в направлении от 5' до 3' раскрытой последовательности. Показана 5' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента кл13 LCMV (1-78 п. н.) без выделения; синтетический гибридный белок, состоящий из белков E6 и E7 (79-846 п. н.) вируса папилломы человека типа 16 (HPV 16) показан зеленым цветом; межгенная область (IGR) на основе S-сегмента кл13 LCMV (847-910 п. н.) показана синим цветом; нуклеопротеин (NP) на основе кл13 LCMV (911-2587 п. н.) показан серым цветом; 3' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента кл13 LCMV (2588-2648 п. н.) показана без выделения.

[0073] **ФИГ. 9** показывает E7E6-GP-S-сегмент 2 (2648 п. н.) Конструкции 1 согласно **ФИГ. 2B**. Следующие элементы указаны в направлении от 5' до 3' раскрытой последовательности. Показана 5' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента кл13 LCMV (1-78 п. н.) без выделения; синтетический гибридный белок, состоящий из белков E6 и E7 (79-846 п. н.) вируса папилломы человека типа 16 (HPV 16) показан зеленым цветом; межгенная область (IGR) на основе S-сегмента кл13 LCMV (847-910 п. н.) показана синим цветом; гликопротеин (GP) на основе WE LCMV (911-2407 п. н.) показан желтым цветом; 3' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента кл13 LCMV (2408-2468 п. н.) показана без выделения.

[0074] ФИГ. 10 показывает L-сегмент (7229 п. н.) Конструкции 1 согласно **ФИГ. 2В**. Следующие элементы указаны в направлении от 5' до 3' раскрытой последовательности. Показана 5' нетранслируемая область (НТО) на основе L-сегмента кл13 LCMV (1-89 п. н.) без выделения; матричный белок на основе белка кл13 LCMV (90-362 п. н.) показан зеленым цветом; межгенная область (IGR) на основе L-сегмента кл13 LCMV (363-564 п. н.) показана синим цветом; белок зависимой от рибонуклеиновой кислоты полимеразы рибонуклеиновой кислоты (L) на основе кл13 LCMV (565-7197 п. н.) показан серым цветом; 3' нетранслируемая область (НТО) на основе L-сегмента кл13 LCMV (7198-7229 п. н.) показана без выделения.

[0075] ФИГ. 11 показывает E7E6-NP-S-сегмент 1 (2663 п. н.) Конструкции 2 согласно **ФИГ. 2В**. Следующие элементы указаны в направлении от 5' до 3' раскрытой последовательности. Показана 5' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента p18 PICV (1-52 п. н.) без выделения; синтетический гибридный белок, состоящий из белков E6 и E7 (53-820 п. н.) вируса папилломы человека типа 16 (HPV 16) показан зеленым цветом; межгенная область (IGR) на основе S-сегмента p18 PICV (821-894 п. н.) показана синим цветом; нуклеопротеин (NP) на основе p18 PICV (895-2580 п. н.) показан серым цветом; 3' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента p18 PICV (2581-2663 п. н.) показана без выделения.

[0076] ФИГ. 12 показывает E7E6-GP-S-сегмент 2 (2504 п. н.) Конструкции 2 согласно **ФИГ. 2В**. Следующие элементы указаны в направлении от 5' до 3' раскрытой последовательности. Показана 5' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента p18 PICV (1-52 п. н.) без выделения; синтетический гибридный белок, состоящий из белков E6 и E7 (53-820 п. н.) вируса папилломы человека типа 16 (HPV 16) показан зеленым цветом; межгенная область (IGR) на основе S-сегмента p18 PICV (821-894 п. н.) показана синим цветом; гликопротеин (GP) на основе p18 PICV (895-2421 п. н.) показан желтым цветом; 3' нетранслируемая область (НТО) на основе S-сегмента p18 PICV (2422-2504 п. н.) показана без выделения.

[0077] ФИГ. 13 показывает L-сегмент (7058 п. н.) Конструкции 2 согласно **ФИГ. 2В**. Следующие элементы указаны в направлении от 5' до 3' раскрытой последовательности. Показана 5' нетранслируемая область (НТО) на основе L-сегмента p18 PICV (1-85 п. н.) без выделения; матричный белок на основе белка p18 PICV (86-373 п. н.) показан зеленым цветом; межгенная область (IGR) на основе L-сегмента p18 PICV (374-443 п. н.) показана

синим цветом; белок зависимой от рибонуклеиновой кислоты полимеразы рибонуклеиновой кислоты (L) на основе p18 PICV (444-7028 п. н.) показан серым цветом; 3' нетранслируемая область (НТО) на основе L-сегмента p18 PICV (7029-7058 п. н.) показана без выделения.

[0078] ФИГ. 14А – 14Е показывают эффективность Конструкции 1 и/или Конструкции 2 в модели мышей, несущих HPV16⁺ опухоли. **ФИГ. 14А** показывает корреляцию между дозой Конструкции 1 и процентным содержанием HPV16 Е7-специфических CD8⁺B220⁺ Т-клеток. CD8 = кластер дифференцировки 8, Е7 = антигенный гибридный белок Е7 из папилломавируса 16 человека. **ФИГ. 14В** показывает изменения объема опухолей с течением времени в ответ на лечение различными дозами Конструкции 1; FFU = бляшкообразующие единица, HPV = вирус папилломы человека, RCV = репликационно-компетентный вирус. **ФИГ. 14С** показывает изменения объема опухолей с течением времени в ответ на лечение Конструкцией 1 или аренавирусным вектором, экспрессирующим нерелевантный контрольный антиген ЗФБ посредством различных путей введения (в.в.= внутривенное; в.о.= внутрь опухоли) по сравнению с контрольными животными, получавшими лечение только буферным раствором. Е7Е6 = антигенный гибридный белок Е7 и Е6 из папилломавируса 16 человека, G = группа, ЗФБ = зеленый флуоресцентный белок, в.о. (ВО) = внутрь опухоли, в.в. (ВВ) = внутривенно), n = количество мышей в каждой экспериментальной группе. **ФИГ. 14D** показывает изменение процентного содержания HPV16 Е7-специфических CD8⁺B220⁺ Т-клеток с течением времени у мышей в ответ на указанные режимы дозирования Конструкции 1 и Конструкции 2 после в.в. введения 10⁵ RCV FFU каждого вектора с 21-дневным интервалом. CD = кластер дифференцировки, Е7Е6 = антигенный гибридный белок Е7 и Е6 из папилломавируса 16 человека, G = группа, штрихи указывают на последовательность введения вектора (примирование/1-я доза – бустер/2-я доза). **ФИГ. 14Е** показывает изменения объема опухолей с течением времени в ответ на указанные режимы дозирования Конструкции 1 и Конструкции 2 после в.в. введения 10⁵ RCV FFU каждого вектора с 4, 7 или 10-дневным интервалом. G = группа, d = дни между введениями примиряющей и бустерной дозы, штрихи указывают на последовательность введения вектора (примирование/1-я доза – бустер/2-я доза).

[0079] ФИГ. 15 показывает план эксперимента в примере III, который включает I фазу повышения дозы и II фазу расширения когорт приема доз. Черед. = чередование, Прибл. = приблизительно, HNSCC = сквамозная карцинома головы и шеи, HPV = вирус папилломы

человека, BO = внутри опухоли, BB = внутривенно), n = количество пациентов, RP2D = рекомендованная доза для II фазы.

[0080] ФИГ. 16 показывает план эксперимента для дополняемых когорт в примере III.

[0081] ФИГ. 17A – 17I показывает данные по эффективности монотерапии Конструкцией 1 и чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1.

ФИГ. 17A показывает продолжительность лечения отдельных пациентов. Продолжительность лечения = Последнее лечение/дата смерти – дата первой дозы + 1; исследователи добавляли пембролизумаб к терапии аренавирусным вектором у 3 пациентов. Данные EDC использовали для некоторых пациентов вследствие отсутствующих/некорректно введенных данных для TLF на дату переноса данных. DL, уровень дозы; EDC, сбор электронных данных; HNSCC, сквамозная карцинома головы и шеи; BO, внутри опухоли; BB, внутривенно; PR, частичный ответ; Q2W, каждые 2 недели; Q3W, каждые 3 недели. **ФИГ. 17B** показывает изменение от исходного состояния по сумме диаметров (SOD) целевого поражения (TL) для каждого отдельного пациента. Заштрихованные зоны указывают на уменьшение изменения целевого поражения после добавления к терапии пембролизумаба. Величина прогрессирования без оцениваемых сканирований искусственно установлена как 2%. Пациенты без заболеваний ротоглотки: A, анальный канал; C, шея; NP, носоглотка; V, влагалище; BO, внутри опухоли; BB, внутривенно; SOD, сумма диаметров; TL, целевое поражение. Q2W= каждые две недели; Q3W= каждые три недели; DL= уровень дозы. **ФИГ. 17C** показывает изменение от исходного состояния по сумме диаметров (SOD) целевого поражения (TL) для графика / пути введения. Q2W= каждые две недели; Q3W= каждые три недели; DL= уровень дозы; BB= внутривенно; BO= внутри опухоли. **ФИГ. 17D** показывает изменение суммы диаметров (SOD) целевого поражения (TL) от исходного состояния каждого отдельного пациента в лучевой диаграмме. Незакрашенные квадраты представляют результаты сканирований, выполненные после добавления пембролизумаба. Один пациент без оцениваемых сканирований эффективности не показан на лучевой диаграмме. Целевое поражение с 60% снижением представляет собой лимфатический узел, с измеренным размером <10 мм, следовательно является неподтвержденным полным ответом. Данные EDC использовали для некоторых пациентов вследствие отсутствующих/некорректно введенных данных для TLF на дату переноса данных. EDC, сбор электронных данных; HNSCC, сквамозная карцинома головы и шеи; SOD, сумма диаметров; TL, целевое поражение; uCR, неподтвержденный полный ответ. **ФИГ. 17E** показывает выживаемость

без прогрессирования (PFS) у прошедших лечение пациентов. Для пациентов, получавших пембролизумаб, значение PFS включает время после добавления пембролизумаба до прогрессирования по RECIST. **ФИГ. 17F** показывает изменение целевого поражения от исходного состояния у пациентов только с поражениями лимфатических узлов, а также у пациентов только с нелимфоузловыми поражениями, или с обоими вариантами и поражениями лимфатических узлов и нелимфоузловыми поражениями. **ФИГ. 17G** показывает изменения суммы диаметров по оцениваемым по RECIST поражениям у пациентов, получающих ВВ введение уровня 2 дозы Конструкции 1 каждые три недели и ВВ введение чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1. **ФИГ. 17H** показывает корреляцию между наибольшим изменением суммы диаметров и продолжительности лечения. **ФИГ. 17I** показывает результаты сканирования эффективности на исходном состоянии и в последующие моменты времени во время лечения.

[0082] **ФИГ. 18A** показывает результаты 30-плексных анализов на цитокины и хемокины после лечения Конструкцией 1 в течение девяти моментов времени. Данные для дня 4 получены для десяти из двенадцати пациентов. Содержания аналитов (пг/мл) конвертировали в z-показатели. Выполняли иерархическую кластеризацию на день визита и каждый уровень аналита. **ФИГ. 18B** показывает эффекты лечения монотерапией Конструкцией 1 (DL 1 (5×10^5 RCV FFU) или DL2 (5×10^6 RCV)) или чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1 (Конструкция 2: 1×10^6 RCV FFU, Конструкция 1: 5×10^6 RCV FFU) на экспрессию выбранных ключевых цитокинов через 4 дня после лечения.

[0083] **ФИГ. 19A – 19I** показывает сильную иммуногенность, индуцированную монотерапией Конструкцией 1 и чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1. **ФИГ. 19A** показывает результат ELISpot для шести пациентов, которые получали ВВ Конструкцию 1 при DL2 (5×10^6 RCV FFU) каждые 3 недели. Оттаявшие моноклеарные клетки периферической крови (МНПК) всех пациентов стимулировали перекрывающимися пептидами E6/E7 HPV16 в течение 24 ч (± 2 ч) для прямого измерения IFN- γ методом ELISpot ex vivo. Показано количество бляшкообразующих единиц/ 1×10^6 МНПК. **ФИГ. 19B** показывает ICS результат для шести пациентов, которые получали ВВ Конструкцию 1 при DL2 (5×10^6 RCV FFU) каждые 3 недели. МНПК стимулировали в течение 6 часов перекрывающимися пептидами E6/E7 HPV16, отмывали клетки для последующего иммуноокрашивания на IFN- γ , TNF- α , IL-2 и CD107a и

анализировали методом полихроматической проточной цитометрии. Показано процентное содержание IFN- γ^+ клеток среди CD8 T-клеток. **ФИГ. 19С** показывает результат ELISpot для трех пациентов, которые получали ВВ Конструкцию 2 при DL1 (1×10^6 RCV FFU) и Конструкцию 1 при DL2 (5×10^6 RCV FFU) каждые 3 недели. Оттаявшие мононуклеарные клетки периферической крови (МНПК) всех пациентов стимулировали перекрывающимися пептидами Е6/Е7 HPV16 в течение 24 ч (± 2 ч) для прямого измерения IFN- γ методом ELISpot ex vivo. Показано количество бляшкообразующих единиц/ 1×10^6 МНПК. Верхний предел количественного определения (ULOQ) обозначен горизонтальной пунктирной линией. **ФИГ. 19D** показывает результат ICS для трех пациентов, которые получали ВВ Конструкцию 2 при DL1 (1×10^6 RCV FFU) и Конструкцию 1 при DL2 (5×10^6 RCV FFU) каждые 3 недели. МНПК стимулировали в течение 6 часов перекрывающимися пептидами Е6/Е7 HPV16, отмывали клетки для последующего иммуноокрашивания на IFN- γ , TNF- α , IL-2 и CD107a и анализировали методом полихроматической проточной цитометрии. Показано процентное содержание IFN- γ^+ клеток среди CD8 T-клеток. **ФИГ. 19Е** показывает результаты проточной цитометрии CD8 $^+$ и CD4 $^+$ Т-клеток с течением времени у одного пациента, получавшего чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1. МНПК стимулировали в течение 6 часов пептидами Е6/Е7, отмывали клетки для последующего иммуноокрашивания и анализировали методом полихроматической проточной цитометрии. Клетки разделяли по гейтам для CD3 $^+$ клеток, и количество в гейтах для CD8 показывает процентное содержание CD8 $^+$ клеток среди CD3 $^+$ Т-клеток. **ФИГ. 19F** показывает результаты проточной цитометрии Т-клеток, которые экспрессируют IFN- γ , TNF α или CD107a с течением времени у одного пациента, получавшего чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1. МНПК стимулировали в течение 6 часов пулом перекрывающихся пептидов Е6/Е7, отмывали клетки для последующего иммуноокрашивания на IFN- γ , TNF- α , IL-2 и CD107a и анализировали методом полихроматической проточной цитометрии. Клетки разделяли по гейтам для CD3 $^+$ CD8 $^+$ Т-клеток. **ФИГ. 19G – 19I** показывают изменения в МНПК от исходного состояния до максимального ответа (Max) для отдельных пациентов. Значение Max относится к самым высоким ответам Е6/Е7-специфических Т-клеток, измеренным по ELISpot IFN- γ для каждого отдельного пациента. **ФИГ. 19G** показывает изменение чисел лейкоцитов крови (WBC) от исходного состояния до значения Max как WBC 10^3 /мкл крови после > 2 введений аренавирусных векторов (левое изображение). На правом изображении показано изменение соотношения CD8/CD4 от исходного состояния до значения Max, рассчитанное

по данным проточных цитометрических анализов после окрашивания образцов крови на CD19, NK1.1, CD3, CD8 и CD4. **ФИГ. 19H** показывает результаты ELISpot IFN- γ от исходного состояния до значения Max в виде бляшкообразующих единиц/ 10^6 МНПК. **ФИГ. 19I** являются репрезентативными псевдоокрашенными графиками, полученными для образцов МНПК после внутриклеточного окрашивания цитокинов (см. ФИГ. 19B, D и F). Левые графики представляют исходное состояние, правые графики — значения Max. Верхний ряд представляет собой пациента, получавшего лечение DL2 Конструкции 1 (5×10^6 RCV FFU) BB-BB, нижний ряд представляет собой пациента, получавшего лечение чередующейся 2-векторной терапией при DL1 Конструкцией 2 (1×10^6 RCV FFU) и DL2 Конструкцией 1 (5×10^6 RCV FFU).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0084] Используемый в данном документе термин «цикл», при применении в способах лечения ракового заболевания одним видом сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, предназначен для обозначения дня введения и дней до следующего введения.

[0085] Используемый в данном документе термин «сессия», при применении в способах лечения ракового заболевания двумя видами сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц в чередующемся 2-векторном терапевтическом подходе, предназначен для обозначения дня введения первого вида, дней до введения второго вида, введения второго вида и дней до другого введения первого вида.

[0086] В настоящем изобретении предлагаются способы лечения ракового заболевания у пациента, нуждающегося в лечении. Такие способы включают введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*m. e.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16. Эффективное количество аренавирусных частиц может составлять около 5×10^5 , около 5×10^6 , около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, который включает введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных

трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, который включает введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, который включает введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, который включает введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, который включает введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU.

[0087] Способы получения сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц для применения в описанных в данном документе способах хорошо известны в данной области. Примеры способов можно найти в публикации заявки на патент США US-2017-0319673-A1, опубликованной 9 ноября 2017 года, публикации заявки на патент США US-2019-0135875-A1, опубликованной 9 мая 2019 года, и публикации заявки на патент США US-2018-0179257-A1, опубликованной 28

июня 2018 года, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки. С учетом этих публикаций специалист в данной области понимает, что такие сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, содержащие дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, как описано в данном документе, включают репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, в которых открытая рамка считывания (ORF), кодирующая белок NP, присутствует на одном S-сегменте, тогда как ORF, кодирующая белок GP, присутствует на другом S-сегменте. В этих публикациях также предложены описания фармацевтических композиций, содержащих сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, которые могут применяться в описанных в данном документе способах.

[0088] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы для лечения ракового заболевания включают лечение любого HPV 16⁺ ракового заболевания, независимо от его происхождения. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как сквамозная карцинома головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак анального канала. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак влагалища. В некоторых вариантах осуществления HPV 16⁺ раковое заболевание было диагностировано как рак вульвы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложены способы лечения HPV 16⁺ ракового заболевания (*например*, сквамозной карциномы головы и шеи, рака шейки матки, рака анального канала, рака вульвы или влагалища) у нуждающегося в этом пациента путем введения пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU.

[0089] Пациенты с HPV⁺ раковыми заболеваниями обычно сталкиваются с прогрессированием или рецидивом опухоли при стандартных терапиях (*например*, неудачная лучевая терапия, терапия на основе препаратов платины и/или анти-PD-1/анти-PD-L1 терапия), включая тех, кто прошел более одной системной терапии. С другой

стороны, некоторым пациентам противопоказаны стандартные терапии. Поэтому в некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ включает лечение пациента, который получил прогрессирование или рецидив опухоли в ответ на по меньшей мере одну стандартную терапию до применения указанного способа. В некоторых особых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом лучевой терапии. В некоторых особых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом терапии на основе препаратов платины. В некоторых особых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом анти-PD-1 терапии. В некоторых особых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом анти-PD-L1 терапии. В одном особом варианте осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом монотерапии пембролизумабом. В одном особом варианте осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом монотерапии ниволумабом. В одном особом варианте осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом монотерапии пидилизумабом. В одном особом варианте осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом монотерапии цемиплимабом. В некоторых особых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ применяют для лечения пациента с неудачным результатом комбинации двух или более перечисленных выше терапий.

[0090] Поэтому в некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают лечение пациента, у которого поражения охватывают или не охватывают лимфатические узлы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают лечение пациента, у которого целевые поражения находятся только в лимфатических узлах. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают лечение пациента, у которого целевые поражения находятся только в лимфатических узлах. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают лечение пациента, у которого целевые поражения находятся как в лимфатических узлах, так и не в лимфатических узлах.

[0091] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц с использованием внутривенной инъекции, внутриопухолевой инъекции или их комбинации. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложены способы лечения HPV 16⁺ ракового заболевания (*например*, сквамозной карциномы головы и шеи, рака шейки матки, рака анального канала, рака вульвы или влагалища) у нуждающегося в этом пациента путем внутривенной инъекции пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложены способы лечения HPV 16⁺ ракового заболевания (*например*, сквамозной карциномы головы и шеи, рака шейки матки, рака анального канала, рака вульвы или влагалища) у нуждающегося в этом пациента путем внутриопухолевой инъекции пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложены способы лечения HPV 16⁺ ракового заболевания (*например*, сквамозной карциномы головы и шеи, рака шейки матки, рака анального канала, рака вульвы или влагалища) у нуждающегося в этом пациента путем внутривенной инъекции пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU, с последующей внутривенной инъекцией пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или

около 5×10^8 RCV FFU.

[0092] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенной инъекции эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1, с определенной частотой (*например*, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель или каждые 13 недель, каждые 14 недель, и *т. д.*). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 3 недели. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 5 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 7 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 8 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 9 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 10 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение

внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 11 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 12 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 1 с частотой каждые 13 недель, каждые 14 недель, каждые 15 недель, каждые 16 недель, каждые 17 недель, каждые 18 недель, каждые 19 недель, каждые 20 недель, каждую 21 неделю, каждые 22 недели, каждые 23 недели, каждые 24 недели, каждые 25 недель или каждые 26 недель. В предпочтительных вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 5×10^6 RCV FFU Конструкции 1 с частотой каждые 3 недели.

[0093] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенной инъекции эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 2, с определенной частотой (*например*, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель или каждые 13 недель, каждые 14 недель, и *т. д.*). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 3 недели. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 5 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 6 недель. В некоторых вариантах

осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 7 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 8 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 9 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 10 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 11 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 12 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту эффективного количества Конструкции 2 с частотой каждые 13 недель, каждые 14 недель, каждые 15 недель, каждые 16 недель, каждые 17 недель, каждые 18 недель, каждые 19 недель, каждые 20 недель, каждую 21 неделю, каждые 22 недели, каждые 23 недели, каждые 24 недели, каждые 25 недель или каждые 26 недель.

[0094] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительное лечение. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают лечение, вводимое в течение ограниченного количества раз. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*m. e.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, с определенной частотой и продолжительностью. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные

(*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, с определенной частотой в течение ограниченного количества раз.

[0095] Конкретно, для способов, вводимых только ограниченное количество раз, необходимо оптимизировать некоторые факторы, такие как надлежащее количество циклов, надлежащая дозировка и частота дозирования, для достижения такого же терапевтического эффекта, что и для способов с длительным способом введения. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, каждые 2 недели в течение 2 циклов, каждые 3 недели в течение 2 циклов, каждые 4 недели в течение 2 циклов, каждые 5 недель в течение 2 циклов, каждые 6 недель в течение 2 циклов, каждые 7 недель в течение 2 циклов, каждые 8 недель в течение 2 циклов, каждые 9 недель в течение 2 циклов, каждые 10 недель в течение 2 циклов, каждые 11 недель в течение 2 циклов, каждые 12 недель в течение 2 циклов. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, каждые 2 недели в течение 3 циклов, каждые 3 недели в течение 3 циклов, каждые 4 недели в течение 3 циклов, каждые 5 недель в течение 3 циклов, каждые 6 недель в течение 3 циклов, каждые 7 недель в течение 3 циклов, каждые 8 недель в течение 3 циклов, каждые 9 недель в течение 3 циклов, каждые 10 недель в течение 3 циклов, каждые 11 недель в течение 3 циклов, каждые 12 недель в течение 3 циклов. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, каждые 2 недели в течение 4 циклов, каждые 3 недели в течение 4 циклов, каждые 4 недели в течение 4 циклов, каждые 5 недель в течение 4 циклов, каждые 6

недель в течение 4 циклов, каждые 7 недель в течение 4 циклов, каждые 8 недель в течение 4 циклов, каждые 9 недель в течение 4 циклов, каждые 10 недель в течение 4 циклов, каждые 11 недель в течение 4 циклов, каждые 12 недель в течение 4 циклов. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (т. е. двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, каждые 2 недели в течение 5 циклов, каждые 3 недели в течение 5 циклов, каждые 4 недели в течение 5 циклов, каждые 5 недель в течение 5 циклов, каждые 6 недель в течение 5 циклов, каждые 7 недель в течение 5 циклов, каждые 8 недель в течение 5 циклов, каждые 9 недель в течение 5 циклов, каждые 10 недель в течение 5 циклов, каждые 11 недель в течение 5 циклов, каждые 12 недель в течение 5 циклов. Кроме того, в данном документе предложены способы, включающие введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 с ограниченным количеством циклов, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 5×10^6 RCV FFU Конструкции 1 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 5×10^7 RCV FFU Конструкции 1 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 5×10^8 RCV FFU Конструкции 1 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 1×10^9 RCV FFU Конструкции 1 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 5×10^9 RCV FFU Конструкции 1 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. Кроме того, в данном документе предложены способы, включающие введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 2 с ограниченным количеством циклов, причем эффективное количество составляет около $1 \times$

10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 1×10^7 RCV FFU Конструкции 2 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 1×10^8 RCV FFU Конструкции 2 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 1×10^9 RCV FFU Конструкции 2 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение внутривенных инъекций пациенту 1×10^{10} RCV FFU Конструкции 2 с ограниченным количеством циклов, как описано выше в этом же параграфе.

[0096] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы могут также включать введение эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки. Пример ингибитора иммунной контрольной точки, который является особенно пригодным для применения в способах, описанных в данном документе, включает ингибитор контрольной точки на основе анти-PD-1 (белок 1 запрограммированной гибели клеток). Такой ингибитор контрольной точки анти-PD-1 может быть таким антителом, как ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб или цемиплимаб. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложены способы лечения HPV 16⁺ ракового заболевания (*например*, сквамозной карциномы головы и шеи, рака шейки матки, рака анального канала, рака вульвы или влагалища) у нуждающегося в этом пациента путем введения пациенту эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки и эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество частиц составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU, и при этом ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор иммунной точки анти-PD-1 (*например*, ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб или цемиплимаб). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки анти-PD-1 представляет собой

ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки анти-PD-1 представляет собой пидилизумаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки анти-PD-1 представляет собой цемиплимаб.

[0097] Конкретно, для способов, вводимых длительное время, необходимо оптимизировать некоторые факторы, такие как надлежащая частота, начиная с более высокой частоты и последующей более низкой частоты, и надлежащее количество циклов с первоначальной более высокой частотой (каждое введение определяется как «цикл»). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенной инъекции эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, таких как Конструкция 1 или Конструкция 2, с определенной более высокой частотой с последующей более низкой частотой. Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 2 недели в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель или каждые 11 недель или каждые 12 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 3 недели в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель или каждые 13 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 4 недели в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12

недель, каждые 13 недель или каждые 14 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 5 недель в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель, каждые 13 недель, каждые 14 недель или каждые 15 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 6 недель в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель, каждые 13 недель, каждые 14 недель, каждые 15 недель или каждые 16 недель. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов каждые 6 недель. В других предпочтительных вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 1 (*например*, 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU) с частотой каждые 4 недели в течение 4 циклов каждые 8 недель. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 2 (*например*, 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU) с частотой каждые 2 недели в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель или каждые 11 недель или каждые 12 недель. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 2 (*например*, 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU) с частотой каждые 3 недели в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель или каждые 12 недель или каждые 13 недель. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных

инъекций эффективного количества Конструкции 2 (*например*, 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU) с частотой каждые 4 недели в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель или каждые 13 недель или каждые 14 недель. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 2 (*например*, 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU) с частотой каждые 5 недель в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель, каждые 13 недель или каждые 14 недель или каждые 15 недель. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают введение пациенту внутривенных инъекций эффективного количества Конструкции 2 (*например*, 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU) с частотой каждые 6 недель в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 циклов, с последующей частотой каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель, каждые 13 недель, каждые 14 недель или каждые 15 недель или каждые 16 недель.

[0098] В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, содержащие аренавирусную частицу Конструкции 1 (на основе LCMV), описанную в данном документе (**ФИГ. 2В** и **примеры I и II**). Дополнительно, в некоторых вариантах осуществления, сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из LCMV. Специфические штаммы LCMV включают штамм MP, штамм WE, штамм Armstrong, клон 13 штамма Armstrong или клон 13 штамма LCMV, экспрессирующих гликопротеин штамма WE LCMV вместо эндогенного гликопротеина клона 13 LCMV. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из штамма MP LCMV. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из штамма WE LCMV. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные репликационно-

компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из штамма Armstrong LCMV. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из клона 13 штамма Armstrong LCMV. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы получены из клона 13 штамма LCMV, экспрессирующего гликопротеин штамма WE LCMV вместо эндогенного гликопротеина клона 13 LCMV.

[0099] В других вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из Конструкции 2 (на основе PICV), описанную в данном документе (**ФИГ. 2В** и **пример II**). Специфические штаммы PICV включают изолят P18 штамма Munchique CoAn4763, штамм P2 или любой из нескольких изолятов, описанных Trapido и коллегами (Trapido *et al*, 1971, Am J Trop Med Hyg, 20: 631-641). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из изолята P18 штамма Munchique CoAn4763. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из штамма P2. В некоторых вариантах осуществления сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, применяемые в описанных в данном документе способах, получены из любого из нескольких изолятов, описанных Trapido и коллегами (Trapido *et al*, 1971, Am J Trop Med Hyg, 20: 631-641).

[00100] После введения эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц измеряют содержание определенных цитокинов и хемокинов. Измеряемые цитокины и хемокины включают в себя провоспалительные и противовоспалительные цитокины и хемокины.

[00101] Поэтому в данном документе дополнительно предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублированные (*m. e.* двойные) S-

сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU, причем введение эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц приводит к изменению (*т. е.* увеличению или уменьшению) уровня цитокина или хемокина в сыворотке пациента по сравнению с уровнем у пациента до лечения.

[00102] В некоторых особых вариантах осуществления измененное содержание цитокинов и хемокинов (*т. е.*, увеличенный или уменьшенный уровень цитокинов и хемокинов), описанное в данном документе включает, но не ограничивается ими, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-11, IL-12, IL-12p40, IL-15, IL-16, IL-17, IL-17A, IL-18, IL-22, IL-37, IL-38, TGF- β , IFN- α , INF- β , IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IFN-индуцибельный белок (IP)-10, воспалительный белок макрофагов (MIP)-1 α , MIP-1 β , моноцитарный белок-хемоаттрактант (MCP)-1, MCP-4, эотаксин, эотаксин-3, регулирующий активацию и вилочковую железу хемокин (TARC), хемокин макрофагов (MDC) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF).

[00103] В некоторых вариантах осуществления цитокины и хемокины, описанные в данном документе, обладают провоспалительным и/или противовоспалительным действием. В некоторых вариантах осуществления введение эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц приводит к 2-кратному, 3-кратному, 4-кратному, 5-кратному, 6-кратному, 7-кратному, 8-кратному, 9-кратному, 10-кратному, 11-кратному, 12-кратному, 13-кратному, 14-кратному, 15-кратному, 20-кратному, 21-кратному, 22-кратному, 23-кратному, 24-кратному, 25-кратному, 26-кратному, 27-кратному, 28-кратному, 29-кратному или 30-кратному изменению (*например*, увеличению или уменьшению) уровня цитокина или хемокина (*например*, обладающего провоспалительной и/или противовоспалительной активностью) в сыворотке пациента по сравнению с уровнем у пациента до лечения. В других вариантах осуществления введение эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц приводит к 40-кратному, 50-кратному, 60-кратному, 70-кратному, 80-кратному, 90-кратному, 100-кратному, 110-кратному, 120-кратному, 130-кратному, 140-кратному, 150-кратному, 160-кратному, 170-кратному, 180-кратному, 190-кратному или 200-кратному (*например*, увеличению или уменьшению) уровня цитокина или хемокина (*например*, обладающего

провоспалительной и/или противовоспалительной активностью) в сыворотке пациента по сравнению с уровнем у пациента до лечения. В других вариантах осуществления введение эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц приводит к 300-кратному, 400-кратному, 500-кратному, 600-кратному, 700-кратному, 800-кратному, 900-кратному, 1000-кратному (*например*, увеличению или уменьшению) уровня цитокина или хемокина (*например*, обладающего провоспалительной и/или противовоспалительной активностью) в сыворотке пациента по сравнению с уровнем у пациента до лечения.

[00104] В некоторых вариантах осуществления цитокины и хемокины, описанные в данном документе, служат биомаркерами для выбора популяции пациентов. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, выше определенного порогового значения у пациента перед лечением указывает на то, что пациент подходит для применения способов, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, ниже определенного порогового значения у пациента перед лечением указывает на то, что пациент подходит для применения способов, предложенных в данном документе. В особых вариантах осуществления измерение содержания IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельного белка (IP)-10, TNF α , или их комбинации ниже определенного порогового значения у пациента перед лечением указывает на то, что пациент подходит для применения способов, предложенных в данном документе.

[00105] В некоторых вариантах осуществления цитокины и хемокины, описанные в данном документе, служат биомаркерами для повторной коррекции доз и/или режимов во время лечения. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, выше определенного порогового значения указывает на увеличение доз и/или частоты введения. В некоторых вариантах осуществления после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, выше определенного порогового значения указывает на сохранение одинаковых доз и/или частоты введения. В некоторых вариантах осуществления после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания одного или более цитокинов

и хемокинов, описанных в данном документе, выше определенного порогового значения указывает на уменьшение доз и/или частоты введения. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, ниже определенного порогового значения указывает на увеличение доз и/или частоты введения. В некоторых вариантах осуществления после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, ниже определенного порогового значения указывает на сохранение одинаковых доз и/или частоты введения. В некоторых вариантах осуществления после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания одного или более цитокинов и хемокинов, описанных в данном документе, ниже определенного порогового значения указывает на уменьшение доз и/или частоты введения. В некоторых вариантах осуществления после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельного белка (IP)-10, TNF α , или их комбинации ниже определенного порогового значения указывает на увеличение доз и/или частоты введения. В некоторых вариантах осуществления после лечения пациента в течение некоторого периода времени измерение содержания IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельного белка (IP)-10, TNF α , или их комбинации выше определенного порогового значения указывает на сохранение одинаковых доз и/или частоты введения.

[00106] Уровни цитокинов и хемокинов могут измерять в различные моменты времени до и после введения сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащий дублированные (*m.e.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16. В некоторых вариантах осуществления уровни цитокинов и хемокинов измеряют до введения аренавирусных частиц. В некоторых вариантах осуществления уровни цитокинов и хемокинов измеряют через 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов, 18 часов, 19 часов, 20 часов, 21 часов, 22 часов, 23 часов, 24 часов после введения аренавирусных частиц. В некоторых вариантах осуществления уровни цитокинов и хемокинов измеряют через 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 дней, 22 дней, 23 дней, 24 дней, 25 дней, 30 дней, 35 дней, 40 дней, 45 дней, 50 дней, 55 дней, 60 дней, 65 дней, 70 дней, 75 дней, 80

дней, 85 дней, 90 дней, 95 дней, 100 дней, 150 дней, 300 дней, 450 дней после введения аренавирусных частиц.

[00107] Уровни цитокинов и хемокинов могут измерять с помощью различных анализов, таких как биологические анализы (*например*, тесты на хемотактическую активность, пролиферацию или цитотоксичность), иммуноанализы (*например*, твердофазный ИФА, и особенно мультиплексный твердофазный ИФА), проточная цитометрия и методы выявления на основе аптамеров, и молекулярной визуализации с мечеными радиоизотопами цитокинов и хемокинов. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью биологических анализов (*например*, тестов на хемотактическую активность, пролиферацию или цитотоксичность). В некоторых вариантах осуществления после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью иммуноанализов. В особых вариантах осуществления после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью твердофазного ИФА. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью мультиплексного твердофазного ИФА. В некоторых вариантах осуществления после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью методов выявления на основе аптамеров. В некоторых вариантах осуществления после введения аренавирусных частиц, кодирующих белок E7/E6 HPV16, цитокины и хемокины измеряют с помощью молекулярной визуализации с мечеными радиоизотопами цитокинов и хемокинов.

[00108] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дублицированные (*т. е.* двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^5 RCV FFU, около 5×10^6 RCV FFU, около 5×10^7 RCV FFU, около 1×10^8 RCV FFU или около 5×10^8 RCV FFU, причем введение эффективного количества сконструированных репликационно-

компетентных трехсегментных аренавирусных частиц приводит к изменению уровней цитокина или хемокина в сыворотке пациента по сравнению с уровнем до лечения пациента, и при этом введение эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц приводит к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток в сыворотке пациента по сравнению с уровнем до лечения пациента.

[00109] Увеличенное содержание HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток, описанных в данном документе, может оказываться положительным по различным клеточным маркерам (*например*, CD4, CD8, IFN- γ , TNF α , CD107a) по отдельности или в комбинации, что указывает на различные функциональные свойства Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ приводит к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток, являющихся положительными по CD4, в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ приводит к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток, являющихся положительными по CD8, в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ приводит к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток, являющихся положительными по IFN- γ , в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ приводит к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток, являющихся положительными по TNF α , в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента. В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ приводит к увеличению HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток, являющихся положительными по CD107a, в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента.

[00110] HPV16 E7/E6-специфические Т-клетки могут выявлять и количественно определять множеством анализов, таких как ELISpot и внутриклеточное окрашивание цитокинов (ICS) с последующей проточной цитометрией. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенный в данном документе способ дополнительно включает выявление и количественное определение HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток методом ELISpot. В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе способ дополнительно включает выявление и количественное определение HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток проточной цитометрией ICS.

[00111] Конкретно, для тестирования ответов HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток могут применять любой анализ, хорошо известный в данной области. Например, могут применять анализ ELISPOT (см., например, Czerkinsky C.C. *et al.*, J Immunol Methods. 1983; 65:109-121; и Hutchings P.R. *et al.*, J Immunol Methods. 1989; 120:1-8). Анализом ELISPOT могут измерять такие цитокины, как IFN- γ , не ограничиваясь им. Вкратце, анализ включает в себя следующие стадии: наносят на планшет для метода иммуноферментных пятен антитело против цитокина. Инкубируют клетки на планшете для метода иммуноферментных пятен с пептидами, происходящими из E7/E6 HPV. HPV16 E7/E6-специфические клетки секретируют цитокины, которые связываются с нанесенными антителами. Затем клетки промывают, добавляют на планшет второе биотинилированное антитело против цитокина и визуализируют с помощью системы авидин-HRP (пероксидаза хрена) или другими подходящими методами.

[00112] Сходным образом, для тестирования функциональности CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток, которые являются специфическими к белку E7/E6 HPV16, могут применять любой анализ, известный в данной области. Например, могут применять ICS (иммунохимическое окрашивание) в комбинации с проточной цитометрией (см., например, Suni M.A. *et al.*, J Immunol Methods. 1998; 212:89-98; Nomura L.E. *et al.*, Cytometry. 2000; 40:60-68; и Ghanekar S.A. *et al.*, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2001; 8:628-63). Вкратце, анализ включает в себя следующие стадии: после активации клеток посредством E7/E6 HPV16 добавляют ингибитор транспорта белков (например, брэфельдин А) для удерживания цитокинов внутри клетки. После определенного периода инкубации, как правило 5 часов, следует стадия промывания, и к клеткам можно добавлять антитела к другим клеточным маркерам. Затем клетки фиксируют и делают проницаемыми. Добавляют конъюгированные с флуорохромом антитела против цитокинов, и клетки можно анализировать проточной цитометрией.

[00113] В данной области хорошо известно, что частота целевых антигенспецифических Т-клеток, индуцированных у пациентов иммунотерапией рака, обычно слишком мала для прямого измерения этих ответов без предварительного размножения клеток *in-vitro*. Поэтому в данной области принято проводить стимуляцию и/или размножение Т-клеток *in-vitro* перед их обнаружением. (см. например, Trickett *et al.*, J Immunol Methods. 2003 Apr 1;275(1-2):251-5.). Напротив, в случае обнаружения Т-клеток, описанных в предыдущих параграфах, повышенная частота выявления Т-клеток, описанных в данном документе, обнаруживается без предварительной стимуляции и/или

размножения *in-vitro*. Конкретно, свежие или криоконсервированные, но размороженные моноклеарные клетки периферической крови (МНПК) от получивших лечение пациентов непосредственно применяют для выявления перед размножением *in vitro* (см. например, **ПРИМЕР II** и **ПРИМЕР V**).

[00114] Независимо от выявления избыточности и функциональности индуцированных Т-клеток, как описано в предыдущем параграфе, миграция Т-клеток для инфильтрации внутрь опухолевых тканей также является важным индикатором эффективности предложенных в данном документе способов. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к большей инфильтрации Т-клеток в опухолевые ткани. В некоторых особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к большей инфильтрации CD8⁺ Т-клеток в HPV16⁺опухолевые ткани по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо (см. раздел 11 **ПРИМЕРА III**).

[00115] Дополнительно могут выполнять другие анализы для определения гуморального иммунного ответа при вакцинации методом твердофазного ИФА с антигенспецифической сывороткой (твердофазные иммуноферментные анализы). Вкратце, планшеты покрывают антигеном (например, рекомбинантным белком), блокируют, чтобы избежать неспецифического связывания антител, и инкубируют с последовательными разведениями сывороток. После инкубации можно выявлять связанные сывороткой антитела, например, с использованием соединенных с ферментом антивидовых специфических антител (например, мыши, морской свинки) (выявление общего IgG или подклассов IgG) и последующей колориметрической реакции. Титры антител определяют как, например, среднегеометрический титр конечного критерия оценки.

[00116] Кроме того, другие анализы, такие как определение нейтрализующих антител в сыворотке, могут выполнять со следующим анализом на основе клеток с использованием маркированных ЗФБ (зеленый флуоресцентный белок) вирусов или клеточных линий, экспрессирующих белок E7/E6 HPV. Дополнительно применяют добавочную сыворотку морской свинки в качестве источника экзогенного комплемента. Анализ начинается с высевания $6,5 \times 10^3$ клеток/лунку (50 мкл/лунку) в 384-луночный планшет за один или два дня до использования нейтрализации. Нейтрализацию выполняют в 96-луночных планшетах для стерильного культивирования тканей без клеток в течение 1 ч при 37 °C.

После нейтрализации к клеткам добавляют стадию инкубации с нейтрализацией и инкубируют в течение дополнительных 4 дней для выявления ЗФБ с использованием считывателя планшетов. В качестве положительного контроля в анализе на каждом планшете используется сыворотка человека с положительной нейтрализацией для проверки надежности всех результатов. Определяют титры (EC50) с использованием подбора 4-параметрической логистической кривой. В качестве дополнительного тестирования лунки проверяют под флуоресцентным микроскопом. Сходным образом, нейтрализующая активность индуцированных антител может измеряться в условиях клиники.

[00117] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к улучшению одного или более конечных критериев оценки эффективности (*например*, процент частоты объективных ответов, процент частоты контроля заболевания, процент частичных ответов, выживаемость без прогрессирования и/или общая выживаемость) с использованием Критериев оценки ответа солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) и/или Критериев оценки иммунного ответа солидных опухолей (Immune Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, iRECIST) по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. Соответственно, в некоторых особых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы приводят к более высокому проценту частоты объективных ответов по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. В некоторых особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к более высокому проценту частоты контроля заболевания по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. В некоторых особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к более высокому проценту частичного ответа по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. В некоторых особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к более длительной выживаемости без прогрессирования по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо. В некоторых особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы приводят к более длительной общей выживаемости по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентов, получающих плацебо.

[00118] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового

заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU. В данном документе также предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU.

[00119] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU; (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU, и повторяющий (i) и (ii) в течение 1 раза, 2 раз, 3 раз, 4 раз, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз или 10 раз. В данном документе также предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение

пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*m. e.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU; (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*m. e.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU, и повторяющий (i) и (ii) в течение 1 раза, 2 раз, 3 раз, 4 раз, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз или 10 раз.

[00120] В некоторых вариантах осуществления интервал между (i) и (ii) в предыдущих параграфах составляет 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель или 12 недель. В других вариантах осуществления интервал между (i) и (ii) в предыдущих параграфах составляет 13 недель, 14 недель, 15 недель, 16 недель, 17 недель, 18 недель, 19 недель, 20 недель, 22 недели, 23 недели или 24 недели. В других вариантах осуществления интервал между (i) и (ii) в предыдущих параграфах составляет 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделю, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель или 36 недель. Дополнительно во время повторений (i) и (ii) интервал может быть таким же как и оригинальный цикл (i) и (ii), или может отличаться от оригинального цикла (i) и (ii). Соответственно, интервал между (i) и (ii) в повторах может составлять 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель или 10 недель.

[00121] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*m. e.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, в комбинации с ингибитором иммунной точки, причем эффективное количество аренавирусных частиц составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU; (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*m. e.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, в комбинации с ингибитором иммунной точки, причем эффективное количество

составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU, без повторов или повторяющий (i) и (ii) в течение 1 раза, 2 раз, 3 раз, 4 раз, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз или 10 раз. В данном документе также предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, в комбинации с ингибитором иммунной точки, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих дуплицированные (*т. е.*, двойные) S-сегменты, кодирующие гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, в комбинации с ингибитором иммунной точки, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 или 5×10^8 RCV FFU, без повторов или повторяющий (i) и (ii) в течение 1 раза, 2 раз, 3 раз, 4 раз, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз или 10 раз.

[00122] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), полученный из LCMV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из PICV, в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 RCV FFU. Дополнительно в данном документе также предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16

папилломавируса человека (HPV16), полученный из PICV, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (ii) введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 HPV16, полученный из LCMV, в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

[00123] В некоторых особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU. В одном особом варианте осуществления предложенные в данном документе способы включают одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту внутривенно 1×10^6 RCV FFU Конструкции 2; и (ii) введение пациенту внутривенно 5×10^6 RCV FFU Конструкции 1, и каждая сессия продолжается в течение 6 недель. В других особых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

[00124] Продолжительность сеанса определяет интервал между введением двух последовательных доз (i) в предыдущих параграфах. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 6 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается

в течение 8 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 10 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 12 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 14 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 16 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 18 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 20 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 22 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 24 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 26 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 28 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 30 недель. В некоторых вариантах осуществления каждая предложенная в данном документе сессия продолжается в течение 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 или 52 недель.

[00125] В некоторых вариантах осуществления изобретения введение (i) и (ii) в предыдущих параграфах включает в себя внутривенную инъекцию, внутриопухолевую инъекцию или комбинацию внутривенной инъекции и внутриопухолевой инъекции. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i) внутривенное, внутриопухолевое введение пациенту или комбинацию внутривенной инъекции и внутриопухолевой инъекции эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) внутривенное, внутриопухолевое введение пациенту или комбинацию внутривенной инъекции и внутриопухолевой инъекции эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают одну или более сессий, причем каждая сессия содержит: (i)

внутривенное, внутритропухоловое введение пациенту или комбинацию внутривенной инъекции и внутритропухоловой инъекции эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) внутривенное, внутритропухоловое введение пациенту или комбинацию внутривенной инъекции и внутритропухоловой инъекции эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

[00126] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительное лечение. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают лечение, вводимое в течение ограниченного количества раз. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают длительные сессии или ограниченное количество сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии или ограниченное количество сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

[00127] Конкретно, для способов, вводимых только ограниченное количество раз, необходимо оптимизировать некоторые факторы, такие как надлежащее количество сессий (*например*, 2, 3, 4 или 5 сессий), надлежащая дозировка и частота дозирования, для достижения такого же терапевтического эффекта, что и для способов с длительным способом введения. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают только 2 сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем

эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 3 сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 4 сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 5 сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 2 сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 3

сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 4 сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают только 5 сессий, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 или 1×10^{10} RCV FFU, и при этом каждая сессия продолжается в течение 4, 6, 8, 10 или 12 недель.

[00128] Конкретно, для способов, вводимых длительное время, необходимо оптимизировать некоторые факторы, такие как режим, который начинается с надлежащих более коротких сессий и с последующими более длительными сессиями, и надлежащее количество более коротких сессий.

[00129] Соответственно, после оптимизации режима, который начинается с надлежащих более коротких сессий и последующих более длительных сессий, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 2 сессий продолжается в течение 4

недель, и при этом 3^{-я} сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 6, 8, 10, 12, 14 или 16 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 2 сессий продолжается в течение 6 недель, и при этом 3^{-я} сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 24 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 2 сессий продолжается в течение 8 недель, и при этом 3^{-я} сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 или 32 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 2 сессий продолжается в течение 10 недель, и при этом 3^{-я} сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 или 40 недель. Сходным образом, такие же параметры применяют к способам, которые включают в себя введение Конструкции 1 на (i) и Конструкции 2 на (ii).

[00130] Дополнительно в данном документе предложены способы с модифицированным количеством более коротких сессий. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного

количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 3 сессий продолжается в течение 4 недель, и при этом 4-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 6, 8, 10, 12, 14, 16 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 3 сессий продолжается в течение 6 недель, и при этом 4-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 24 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 3 сессий продолжается в течение 8 недель, и при этом 4-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 или 32 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 3 сессий продолжается в течение 10 недель, и при этом 4-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 или 40 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит (i) введение пациенту эффективного

количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 4 сессий продолжается в течение 4 недель, и при этом 5-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 6, 8, 10, 12, 14, 16 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 4 сессий продолжается в течение 6 недель, и при этом 5-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 24 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 4 сессий продолжается в течение 8 недель, и при этом 5-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 или 32 недель. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе способы включают длительные сессии, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU, причем каждая из первых 4 сессий продолжается в течение 10 недель, и при этом 5-я сессия и каждая последующая сессия продолжается в течение 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 или 40 недель. Сходным образом, такие же параметры применяют к способам, которые включают в себя введение Конструкции 1 на (i) и Конструкции 2 на (ii).

[00131] Внутриопухолевая инъекция перед внутривенной инъекцией может обеспечивать дополнительную эффективность. Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают внутриопухолевую инъекцию Конструкции 1 с последующими длительными сессиями, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту внутривенно Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают внутриопухолевую инъекцию Конструкции 2 с последующими длительными сессиями, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и (ii) введение пациенту внутривенно Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают внутриопухолевую инъекцию Конструкции 1 с последующими длительными сессиями, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту внутривенно Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU. В некоторых вариантах осуществления, предложенные в данном документе способы включают внутриопухолевую инъекцию Конструкции 2 с последующими длительными сессиями, причем каждая сессия содержит: (i) введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU; и (ii) введение пациенту внутривенно Конструкции 2 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

[00132] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту

эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и при этом Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов с последующими длительными циклами с частотой каждые 6 недель.

[00133] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий: (i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и причем Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов с продолжительными циклами с частотой каждые 6 недель; и введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00134] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00135] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий

продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00136] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00137] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00138] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00139] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00140] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00141] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба

внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00142] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00143] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00144] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности

сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00145] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель; и (2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

[00146] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 RCV FFU, и ii. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00147] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное

количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00148] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00149] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00150] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00151] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий (1) внутриопухолевое введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и (2) через 3 недели после введения пациенту множества сессий, причем каждая сессия содержит i. внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU, и ii внутривенное введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из первых двух сессий продолжается в течение 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий продолжается в течение 12 недель.

[00152] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и при этом Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 3 циклов, и способ завершается после 3 циклов.

[00153] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового

заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[00154] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[00155] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[00156] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент

времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[00157] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[00158] Дополнительно в данном документе предложен способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия содержит: i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^9 RCV FFU, и при этом каждая из сессий продолжается в течение 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

[00159] Подразумевается, что в вариантах осуществления, описанных в данном документе, для введения сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, полученные из одного вида аренавируса, могут применять для повторного введения сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, полученных из разных видов аренавирусов.

[00160] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая сконструированную репликационно-компетентную трехсегментную аренавирусную частицу, описанную в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

Нуклеиновые кислоты, кодирующие оптимизированный по динуклеотидам

гибридный белок E7/E6 из штамма 16 папилломавируса человека (HPV16) для применения в способах лечения ракового заболевания

[00161] В данном документе предложены оптимизированные нуклеотидные последовательности, которые кодируют гибридный белок E7/E6 из штамма 16 папилломавируса человека (HPV16). Эти оптимизированные открытые рамки считывания предложены в виде SEQ ID No: 1 и 2. Последовательности предложены ниже в ТАБЛИЦЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ.

[00162] В некоторых вариантах осуществления эти оптимизированные открытые рамки считывания включены в аренавирусный геномный сегмент. SEQ ID No: 3 представляет первый S-сегмент, полученный из LCMV, с оптимизированной открытой рамкой считывания для гибридного белка E7/E6 под контролем 5' НТО и открытой рамкой считывания для белка NP под контролем 3' НТО. SEQ ID No: 4 представляет второй S-сегмент, полученный из LCMV, с оптимизированной открытой рамкой считывания для гибридного белка E7/E6 под контролем 5' НТО и открытой рамкой считывания для белка GP под контролем 3' НТО. SEQ ID No: 6 представляет первый S-сегмент, полученный из PICV, с оптимизированной открытой рамкой считывания для гибридного белка E7/E6 под контролем 5' НТО и открытой рамкой считывания для белка NP под контролем 3' НТО. SEQ ID No: 7 представляет второй S-сегмент, полученный из PICV, с оптимизированной открытой рамкой считывания для гибридного белка E7/E6 под контролем 5' НТО и открытой рамкой считывания для белка GP под контролем 3' НТО. Эти геномные сегменты (*например*, SEQ ID NO: 3, 4 и 5; или SEQ ID NO: 6, 7 и 8) могут включать в вирусную частицу, так чтобы S-сегменты 1 и 2 (SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, соответственно) оказались вместе с L-сегментом (SEQ ID NO: 5 и 8, соответственно), тем самым создавая реплицирующуюся трехсегментную вирусную частицу, кодирующую гибридный белок E7/E6.

[00163] Нуклеотидные последовательности, представленные как SEQ ID NO: от 1 до 8 могут быть последовательностями РНК или ДНК. При наличии в вирусной частице эти нуклеотидные последовательности могут быть представлены в виде РНК. Последовательности ДНК, показанные как SEQ ID NO: 1-8, могут превращать в последовательности РНК, путем замены «Т» (тимидина) на «U» (уридин).

[00164] Нуклеотидные последовательности, представленные как SEQ ID NO: 1-8, могут

применять в способах лечения, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления SEQ ID NO: 3-5 могут применяться для получения трехсегментной репликационно-компетентной вирусной частицы в виде Конструкции 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения SEQ ID NO: 6-8 могут применять для получения трехсегментной репликационно-компетентной вирусной частицы в виде Конструкции 2.

[00165] Предложенные в данном документе фармацевтические композиции содержат сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы, включающие SEQ ID NO: 3-5 и SEQ ID NO: 6-8, соответственно. Эти фармацевтические композиции могут использовать в любом из способов, описанных в настоящем документе.

[00166] В данном документе предложены экспрессионные векторы, содержащие нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. В данном документе также предложены клетки-хозяева, содержащие такой экспрессионный вектор. Могут использовать любой способ, известный квалифицированному в данной области специалисту, для получения репликационно-компетентной трехсегментной вирусной частицы с геномными сегментами с SEQ ID NO: от 3 до 5. Могут использовать любой способ, известный квалифицированному в данной области специалисту, для получения репликационно-компетентной трехсегментной вирусной частицы с геномными сегментами с SEQ ID NO: от 6 до 8. В данном документе также предложены экспрессионные векторы, из которых могут транскрибироваться любой один из геномных сегментов с SEQ ID NO: от 3 до 8.

ТАБЛИЦА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
1	Нуклеотидная последовательность E7E6 HPV16	ATGCATGGTGACACCCCCACCCTGCATGAGTACATGCTG GACCTGCAGCCAGAGACCACAGACCTGTATGGCTATGG CCAGCTGAATGACAGCAGTGAGGAAGAGGATGAGATTG ATGGGCCAGCAGGCCAGGCAGAACCTGACAGAGCCCAC TACAACATTGTACCTTCTGCTGCAAGTGTGACAGCACC CTGAGACTGTGTGTGCAGAGCACCCATGTGGACATCAG AACCCCTGGAAGACCTGCTGATGGGCACCCTGGGCATTG

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		TGGGCCCCATCTGCTCCCAGAAGCCCCACCAGAAAAGA ACTGCCATGTTCCAGGACCCCCAGGAGAGGCCCAGAAA GCTGCCCCAGCTCTGCACAGAGCTGCAGACCACCATCC ATGACATCATCCTGGAATGTGTCTACTGCAAGCAGCAGC TGCTGAGGAGAGAGGGTGTATGACTTTGCCTTCAGGGAC CTGTGCATTGTGTACAGGGATGGCAACCCCTATGCTGTG GGGGACAAGTGCCTCAAGTTCTACAGCAAGATCAGTGA GTACAGGCACTACTGCTACAGCCTGTATGGCACCACCCT GGAACAGCAGTACAACAAGCCCCTGTGTGACCTCCTGA TCAGATGCATCAATGGCCAGAAACCCCTCTGCCCTGAG GAAAAGCAGAGACACCTGGACAAGAAGCAGAGGTTCC ACAACATCAGAGGCAGGTGGACAGGCAGATGCATGAGC TGCTGCAGAAGCAGCAGAACCAGAAGAGAGACCCAGCT GTGA
2	Нуклеотидная последователь ность E7E6 HPV16	ATGCATGGTGACACCCCCACCCTGCATGAGTACATGCTG GACCTGCAGCCAGAGACCACAGACCTGTATGGCTATGG CCAGCTGAATGACAGCAGTGAGGAAGAGGATGAGATTG ATGGGCCAGCAGGCCAGGCAGAACCTGACAGAGCCCAC TACAACATTGTCACCTTCTGCTGCAAGTGTGACAGCACC CTGAGACTGTGTGTGCAGAGCACCCATGTGGACATCAG AACCCCTGGAAGACCTGCTGATGGGCACCCTGGGCATTG TGGGCCCCATCTGCTCCCAGAAGCCCCACCAGAAAAGA ACTGCCATGTTCCAGGACCCCCAGGAGAGGCCCAGAAA GCTGCCCCAGCTCTGCACAGAGCTGCAGACCACCATCC ATGACATCATCCTGGAATGTGTCTACTGCAAGCAGCAGC TGCTGAGGAGAGAGGGTGTATGACTTTGCCTTCAGGGAC CTGTGCATTGTGTACAGGGATGGCAACCCCTATGCTGTG GGGGACAAGTGCCTCAAGTTCTACAGTAAGATCAGTGA GTACAGGCACTACTGCTACAGCCTGTATGGCACCACCCT GGAACAGCAGTACAACAAGCCCCTGTGTGACCTCCTGA TCAGATGCATCAATGGCCAGAAACCCCTCTGCCCTGAG

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		GAAAAGCAGAGACACCTGGACAAGAAGCAGAGGTTCC ACAACATCAGAGGCAGGTGGACAGGCAGATGCATGAGC TGCTGCAGAAGCAGCAGAACCAGAAGAGAGACCCAGCT GTGA
3	Нуклеотидная последовательность E7E6-NP-S-сегмента 1 HPV16 LCMV (Геномный сегмент представляет собой РНК, последовательность в SEQ ID NO: 3 показана для ДНК; однако замена всех тимидинов (T) в SEQ ID NO:3 на уридины (U) дает последовательность РНК.)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCTTTCC TCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTACAGAAGG ATGCATGGTGACACCCCCACCCTGCATGAGTACATGCTG GACCTGCAGCCAGAGACCACAGACCTGTATGGCTATGG CCAGCTGAATGACAGCAGTGAGGAAGAGGATGAGATTG ATGGGCCAGCAGGCCAGGCAGAACCTGACAGAGCCCAC TACAACATTGTCACCTTCTGCTGCAAGTGTGACAGCACC CTGAGACTGTGTGTGCAGAGCACCCATGTGGACATCAG AACCTGGAAGACCTGCTGATGGGCACCCTGGGCATTG TGGGCCCCATCTGCTCCCAGAAGCCCCACCAGAAAAGA ACTGCCATGTTCCAGGACCCCCAGGAGAGGCCCAGAAA GCTGCCCCAGCTCTGCACAGAGCTGCAGACCACCATCC ATGACATCATCCTGGAATGTGTCTACTGCAAGCAGCAGC TGCTGAGGAGAGAGGTGTATGACTTTGCCTTCAGGGAC CTGTGCATTGTGTACAGGGATGGCAACCCCTATGCTGTG GGGGACAAGTGCCTCAAGTTCTACAGCAAGATCAGTGA GTACAGGCACTACTGCTACAGCCTGTATGGCACCACCCT GGAACAGCAGTACAACAAGCCCCTGTGTGACCTCCTGA TCAGATGCATCAATGGCCAGAAACCCCTCTGCCCTGAG GAAAAGCAGAGACACCTGGACAAGAAGCAGAGGTTCC ACAACATCAGAGGCAGGTGGACAGGCAGATGCATGAGC TGCTGCAGAAGCAGCAGAACCAGAAGAGAGACCCAGCT GTGAAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCACCTCGAAAG AGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCCAGAGGGTCTTAGAGTG TCACAACATTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCATGTGGCA GAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCTGGGAGCCTTGCTT TGGAGGCGCTTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGTGCA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		CAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTTTGTCCCTTACTA TTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTTGTCCC ACACTTTATCTTCATACTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTCAT TTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTTCCTATTTTGTGA GTCCAGAAGCTTTCTGATGTCATCGGAGCCTTGACAGCT TAGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACG AGGTCAACCCGGGTGCGCATTGAAGAGGTCGGCAAGA TCCATGCCGTGTGAGTACTTGGAATCTTGCTTGAATTGT TTTTGATCAACGGGTTCCTGTAAAAGTGTATGAACTGC CCGTTCTGTGGTTGGAAAATTGCTATTTCCACTGGATCA TTAAATCTACCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTG GGGTCAATTCTCCCATGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTC TGGCTGTAGCTTAAGCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCT CCAGGCGCTGGCCTGGGTGAGTTGACTGCAGGTTTCTCG CTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCTCCCCA CAATCGATGTTCTACAAGCTATGTATGGCCATCCTTCAC CTGAAAGGCAAACCTTTATAGAGGATGTTTTTATAAGGGT TCCTGTCCCCAACTTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTT TTCTCTTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAAGAGATCCTCGC TGTTGCTTGGCTTGATCAAAATTGACTCTAACATGTTAC CCCCATCCAACAGGGCTGCCCCTGCCTTCACGGCAGCAC CAAGACTAAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGAC TGCTGTTCAGTGATGACCCCCAGAACTGGGTGCTTGTCT TTCAGCCTTTCAAGATCATTAAGATTTGGATACTTGACT GTGTAAAGCAAGCCAAGGTCTGTGAGCGCTTGTACAAC GTCATTGAGCGGAGTCTGTGACTGTTTGGCCATACAAGC CATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTGATTGTTCAA AAGTGATGAGTCTTTCACATCCCAAACCTTACCACACC ACTTGCACCCTGCTGAGGCTTTCATCCCAAACCTATCTG TAGGATCTGAGATCTTTGGTCTAGTTGCTGTGTTGTAA GTTCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGGGCCTTTCAGA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		CCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCTCAAGGTCAGCCGC AAGAGACATCAGTTCTTCTGCACTGAGCCTCCCCACTTT CAAAACATTCTTCTTTGATGTTGACTTTAAATCCACAAG AGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTCTCTGTAG GTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCCTCATGATCCTCTGA ACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTGAGAAG GTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTTCACATCTGA TGTGAAGCTCTGCAATTCTCTTCTCAATGCTTGCGTCCAT TGGAAGCTCTTAACCTTCTTAGACAAGGACATCTTGTTG CTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCCT AGGATCCACTGTGCG
4	Нуклеотидная последователь ность E7E6- GP-S-сегмента 2 HPV16 LCMV (Геномный сегмент представляет собой РНК, последователь ность в SEQ ID NO: 4 показана для ДНК; однако замена всех тимидинов (Т) в SEQ ID NO:4 на уридины	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCTTTCC TCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTACAGAAGG ATGCATGGTGACACCCCCACCCTGCATGAGTACATGCTG GACCTGCAGCCAGAGACCACAGACCTGTATGGCTATGG CCAGCTGAATGACAGCAGTGAGGAAGAGGATGAGATTG ATGGGCCAGCAGGCCAGGCAGAACCTGACAGAGCCCAC TACAACATTGTCACCTTCTGCTGCAAGTGTGACAGCACC CTGAGACTGTGTGTGCAGAGCACCCATGTGGACATCAG AACCTGGAAGACCTGCTGATGGGCACCCTGGGCATTG TGGGCCCCATCTGCTCCCAGAAGCCCCACCAGAAAAGA ACTGCCATGTTCCAGGACCCCCAGGAGAGGCCCAGAAA GCTGCCCCAGCTCTGCACAGAGCTGCAGACCACCATCC ATGACATCATCCTGGAATGTGTCTACTGCAAGCAGCAGC TGCTGAGGAGAGAGGTGTATGACTTTGCCTTCAGGGAC CTGTGCATTGTGTACAGGGATGGCAACCCCTATGCTGTG GGGGACAAGTGCCTCAAGTTCTACAGTAAGATCAGTGA GTACAGGCACTACTGCTACAGCCTGTATGGCACCACCCT GGAACAGCAGTACAACAAGCCCCTGTGTGACCTCCTGA TCAGATGCATCAATGGCCAGAAACCCCTCTGCCCTGAG

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
	(U) дает последовательность РНК.)	GAAAAGCAGAGACACCTGGACAAGAAGCAGAGGTTCC ACAACATCAGAGGCAGGTGGACAGGCAGATGCATGAGC TGCTGCAGAAGCAGCAGAACCAGAAGAGAGACCCAGCT GTGAAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCACCTCGAAAG AGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGTCTCAGCGTC TTTTCCAGATAGTTTTTACACCAGGCACCTTGAATGCAC CACAACCTACAGATCCCCTTGTGGTCAAGCGGTGTGGCT TTGGACATGAACCGCCCTTTATGTGTCTATGTGTTGGTA TCTTCACAAGATGCAGAAAGATGCTGATTAGATATGCTG ATGTTGAAAACATCAAAAGATCCATTAAGGCTAAAGGA GTACTCCCTTGTCTTTTTATGTAGTCCTTCCTCAACATCT CTGTGATCATGTTATCTGCTTCTTGTTTCGATTTGATCACT AAAGTGGGTCTCATTCAAGTAGGAGCCATTAGTGACAA GCCAGCACTTGGGTACACTAGTCTCACCAGTCTTAGCAT GTTCCAGATACCAGAACTTTGAGTAATTACAGTATGGTA CCCCATTAGATCTCTTAGATGATTCCCTCATCAACAGCT GATCGGAAATCAGAGAATTTACTGTTGTTTTGAATACAT GCAAGGCAGACTCTACATCTTGCTTGAACCTTACTCAGGG CGGCCTTGTTGTAATCAATTAGTCGTAGCATGTCACAGA ACTCTTCATCATGATTGACATTACATTTTGCAACAGCTG TATTCCCAAAACATTTGAGCTCTGCAGCAAGGATCATCC ATTTGGTCAGGCAATAACCACCTGGATTTTCTACTCCTG AGGAGTCTGACAGGGTCCAGGTGAATGTGCCTGCAAGT CTCCTAGTGAGAACTTTGTCTTTTCCTGAGCAAAGAGG ATTCTAGACATCCCAAAAGGGCCTGCATATCTACAGTGG TTTTCCCAAGTCCTGTTTTGTATGATTAGGTACTGATAGC TTGTTTGGCTGCACCAAGTGGTCTTGCCATCTGAACCTG CCCAGCCCCAGCCACTTCTCATGTATTTTCCTCCAAAGG CAGTTCTAAACATGTCCAAGACTCTACCTCTGAAAGTCC TACACTGGCTTATAGCGCTCTGTGGGTCCGAAAATGACA AGTTGTATTGAATGGTGATGCCATTGTTAAAATCACAAAG

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		ACACTGCTTTGTGGTTGGAATTCCTCTAATACTGAGGT GCAGACTCGAGACTATACTCATGAGTGTATGGTCAAAA GTCTTTTTGTTGAAAGCGGAGGTTAAGTTGCAAAAATTG TGATTAAGGATGGAGTCGTTAGTGAAAGTTAGCTCCAGT CCAGAGCTTCCCATACTGATGTAGTGATGAGAGTTGTTG GCTGAGCACGCATTGGGCATCGTCAGATTTAAGTGAGA CATATCAAACCTCCACTGATTTGAACTGGTAAACCCCTTT ATAGATGTCGGGACCATTAAAGGCCGTACATGCCACAGG ACCTACCAGCCAAAAAAGGAAGCTGACCAGTGCTAAT ATCCCACAGGTGGCGAAATTGTACACAGCTTTGATGCTC GTGATTATAATGAGCACAATAATGACAATGTTGATGAC CTCATCAATGATGTGAGGCAAAGCCTCAAACATTGTCAC AATCTGACCCATCTTGTGCTCAATGGTTTCTCAAGACA AATGCGCAATCAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG
5	Нуклеотидная последователь ность L- сегмента LCMV (Геномный сегмент представляет собой РНК, последователь ность в SEQ ID NO: 5 показана для ДНК; однако замена всех тимидинов (Т)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTTTAGTTGCGCTGTTTGG TTGCACAACCTTTCTTCGTGAGGCTGTCAGAAGTGACCT GGCTGATAGCGATGGGTCAAGGCAAGTCCAGAGAGGAG AAAGGCACCAATAGTACAAACAGGGCCGAAATCCTACC AGATACCACCTATCTTGGCCCTTTAAGCTGCAAATCTTG CTGGCAGAAATTTGACAGCTTGGTAAGATGCCATGACC ACTACCTTTGCAGGCACTGTTTAAACCTTCTGCTGTCAG TATCCGACAGGTGTCCTCTTTGTAAATATCCATTACCAA CCAGATTGAAGATATCAACAGCCCCAAGCTCTCCACCTC CCTACGAAGAGTAACACCGTCCGGCCCCGGCCCCGACA AACAGCCCAGCACAAAGGAACCGCACGTCACCCAACGC ACACAGACACAGCACCCAACACAGAACACGCACACACA CACACACACACACCCACACGCACGCGCCCCCACCACCG GGGGGCGCCCCCCCCCGGGGGGCGGCCCCCGGGAGCC CGGGCGGAGCCCCACGGAGATGCCCATCAGTCGGTGTC CTCGGCCACCGACCCGCCTAGCCAATCGTCGCAGGACCT

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
	в SEQ ID NO:5 на уридины (U) дает последовательность РНК.)	CCCCTTGAGTCTAAACCTGCCCCCACTGTTTCATACAT CAAAGTGCTCCTAGATTTGCTAAAACAAAGTCTGCAATC CTTAAAGGCGAACCAGTCTGGCAAAAGCGACAGTGGAA TCAGCAGAATAGATCTGTCTATACATAGTTCCTGGAGGA TTACACTTATCTCTGAACCCAACAAATGTTCAACCAGTTC TGAATCGATGCAGGAAGAGGGTTCCCAAGGACATCACTA ATCTTTTCATAGCCCTCAAGTCCTGCTAGAAAGACTTTC ATGTCCTTGGTCTCCAGCTTCACAATGATATTTTGGACA AGGTTTCTTCCTTCAAAAAGGGCACCCATCTTTACAGTC AGTGGCACAGGCTCCCACTCAGGTCCAACCTCTCTCAAAG TCAATAGATCTAATCCCATCCAGTATTCTTTTGGAGCCC AACAACTCAAGCTCAAGAGAATCACCAAGTATCAAGGG ATCTTCCATGTAATCCTCAAACCTCTTCAGATCTGATATC AAAGACACCATCGTTCACCTTGAAGACAGAGTCTGTCCT CAGTAAGTGGAGGCATTTCATCCAACATTCTTCTATCTAT CTCACCCCTTAAAGAGGTGAGAGCATGATAAAAGTTCAG CCACACCTGGATTCTGTAATTGGCACCTAACCAAGAATA TCAATGAAAATTTCTTAAACAGTCAGTATTATTCTGAT TGTGCGTAAAGTCCACTGAAATTGAAAACCTCCAATAC CCCTTTTGTGTAGTTGAGCATGTAGTCCCACAGATCCTT TAAGGATTTAAATGCCTTTGGGTTTGTGAGGCCCTGCCT AATCAACATGGCAGCATTACACACAACATCTCCCATTCG GTAAGAGAACCACCCAAAACCAAACTGCAAATCATTCC TAAACATAGGCCTCTCCACATTTTTGTTCACCACCTTTG AGACAAATGATTGAAAGGGGCCAGTGCCTCAGCACCA TCTTCAGATGGCATCATTTCTTTATGAGGGAACCATGA AAAATTGCCTAATGTCCTGGTTGTTGCAACAAATTCTCG AACAAATGATTCAAAATACACCTGTTTTAAGAAGTTCTT GCAGACATCCCTCGTGCTAACAACAAATTCATCAACCA GACTGGAGTCAGATCGCTGATGAGAATTGGCAAGGTCA GAAAACAGAACAGTGTAATGTTTCATCCCTTTTCCACTTA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		ACAACATGAGAAATGAGTGACAAGGATTCTGAGTTAAT ATCAATTAAAACACAGAGGTCAAGGAATTTAATTCTGG GACTCCACCTCATGTTTTTTGAGCTCATGTCAGACATAA ATGGAAGAAGCTGATCCTCAAAGATCTTGGGATATAGC CGCCTCACAGATTGAATCACTTGGTTCAAATTCACTTTG TCCTCCAGTAGCCTTGAGCTCTCAGGCTTTCTTGCTACAT AATCACATGGGTTTAAGTGCTTAAGAGTTAGGTTCTCAC TGTTATTCTTCCCTTTGGTCGGTTCTGCTAGGACCCAAAC ACCCAAC TCAAAGAGTTGCTCAATGAAATACAAAT GTAGTCCCAAAGAAGAGGCCTTAAAAGGCATATATGAT CACGGTGGGCTTCTGGATGAGACTGTTTGTCAAAATGT ACAGCGTTATACCATCCCGATTGCAAAC TCTTGTCACAT GATCATCTGTGGTTAGATCCTCAAGCAGCTTTTTGATAT ACAGATTTTCCCTATTTTTTGTTTCTCACACACCTGCTTCC TAGAGTTTTGCAAAGGCCTATAAAGCCAGATGAGATAC AACTCTGGAAAGCTGACTTGTTGATTGCTTCTGACAG CAGCTTCTGTGCACCCCTTGTGAATTTACTACAAAGTTT GTTCTGGAGTGTCTTGATCAATGATGGGATTCTTTCCTCT TGGAAAGTCATCACTGATGGATAAACCACCTTTTGTCTT AAAACCATCCTTAATGGGAACATTTCAATCAAATTCAAC CAGTTAACATCTGCTAACTGATTCAGATCTTCTTCAAGA CCGAGGAGGTCTCCCAATTGAAGAATGGCCTCCTTTTTA TCTCTGTAAATAGGTCTAAGAAAAATTCTTCATTAAAT TCACCATTTTTGAGCTTATGATGCAGTTTCCTTACAAGCT TTCTTACAACCTTTGTTTCATTAGGACACAGTTCCTCAAT GAGTCTTTGTATTCTGTAACCTCTAGAACCATCCAGCCA ATCTTTCACATCAGTGTTGGTATTCAGTAGAAATGGATC CAAAGGGAAATTGGCATACTTTAGGAGGTCCAGTGTTCT CCTTTGGATACTATTAAGTAGGGAGACTGGGACGCCATT TGCGATGGCTTGATCTGCAATTGTATCTATTGTTTCACA AAGTTGATGTGGCTCTTTACACTTGACATTGTGTAGCGC

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		TGCAGATACAAACTTTGTGAGAAGAGGGACTTCCTCCCC CCATACATAGAATCTAGATTTAAATTCTGCAGCGAACCT CCCAGCCACACTTTTTGGGCTGATAAATTTGTTTAACAA GCCGCTCAGATGAGATTGGAATTCCAACAGGACAAGGA CTTCCTCCGGATCACTTACAACCAGGTCCTCAGCCTCC TATCAAATAAAGTGATCTGATCATCACTTGATGTGTAAG CCTCTGGTCTTTCGCCAAAGATAACACCAATGCAGTAGT TGATGAACCTCTCGCTAAGCAAACCATAGAAGTCAGAA GCATTATGCAAGATTCCCTGCCCCATATCAATAAGGCTG GATATATGGGATGGCACTATCCCCATTTCAAATATTGT CTGAAAATTCTCTCAGTAACAGTTGTTTCTGAACCCCTG AGAAGTTTTAGCTTCGACTTGACATATGATTTTCATCATT GCATTCACAACAGGAAAGGGGACCTCGACAAGCTTATG CATGTGCCAAGTTAACAAGTGCTAACATGATCTTTCCC GGAACGCACATACTGGTCATCACCTAGTTTGAGATTTTG TAGAAACATTAAGAACAATAATGGGCACATCATTGGTC CCCATTTGCTGTGATCCATACTATAGTTTAAGAACCCTT CCCGCACATTGATAGTCATTGACAAGATTGCATTTTCAA ATTCCTTATCATTGTTTAAACAGGAGCCTGAAAAGAAAC TTGAAAAAGACTCAAATAATCTTCTATTAACCTTGTGA ACATTTTTGTCCTCAAATCTCCAATATAGAGTTCTCTATT TCCCCAACCTGCTCTTTATAAGATAGTGCAAATTTGAG CCTTCCAGAGTCAGGACCTACTGAGGTGTATGATGTTGG TGATTCTTCTGAGTAGAAGCACAGATTTTCAAAGCAGC ACTCATACATTGTGTCAACGACAGAGCTTTACTAAGGGA CTCAGAATTACTTTCCCTCTCACTGATTCTCACGTCTTCT TCCAGTTTGTCCCAGTCAAATTTGAAATTCAAGCCTTGC CTTTGCATATGCCTGTATTTCCCTGAGTACGCATTTGCAT TCATTTGCAACAGAATCATCTTCATGCAAGAAAACCAAT CATTCTCAGAAAAGAACTTTCTACAAAGGTTTTTTGCCA TCTCATCGAGGCCACACTGATCTTTAATGACTGAGGTGA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		AATACAAAGGTGACAGCTCTGTGGAACCCTCAACAGCC TCACAGATAAATTTTCATGTCATCATTGGTTAGACATGAT GGGTCAAAGTCTTCTACTAAATGGAAAGATATTTCTGAC AAGATAACTTTTCTTAAGTGAGCCATCTTCCCTGTTAGA ATAAGCTGTAAATGATGTAGTCCTTTTGTATTTGTAAGT TTTTCTCCATCTCCTTTGTCATTGGCCCTCCTACCTCTTCT GTACCGTGCTATTGTGGTGTTGACCTTTTCTTCGAGACT TTTGAAGAAGCTTGTCTCTTCTTCTCCATCAAAACATATT TCTGCCAGGTTGTCTTCCGATCTCCCTGTCTCTTCTCCCT TGGAACCGATGACCAATCTAGAGACTAACTTGGAACCT TTATATTCATAGTCTGAGTGGCTCAACTTATACTTTTGTT TTCTTACGAAACTCTCCGTAATTTGACTCACAGCACTAA CAAGCAATTTGTTAAAGTCATATTCCAGAAGTCGTTCTC CATTTAGATGCTTATTAACCACCACACTTTTGTTACTAG CAAGATCTAATGCTGTGCGACATCCAGAGTTAGTCATGG GATCTAGGCTGTTTAGCTTCTTCTCTCCTTTGAAAATTAA AGTGCCGTTGTTAAATGAAGACACCATTAGGCTAAAGG CTTCCAGATTAACACCTGGAGTTGTATGCTGACAGTCAA TTTCTTTACTAGTGAATCTCTTCATTTGCTCATAGAACAC ACATTCTTCCTCAGGAGTGATTGCTTCCTTGGGGTTGAC AAAAAAACCAAATTGACTTTTGGGCTCAAAGAACTTTTC AAAACATTTTATCTGATCTGTTAGCCTGTCAGGGGTCTC CTTTGTGATCAAATGACACAGGTATGACACATTCAACAT AAATTTAAATTTTGCACCTCAACAACACCTTCTCACCAGT ACCAAAAATAGTTTTTATTAGGAATCTAAGCAGCTTATA CACCACCTTCTCAGCAGGTGTGATCAGATCCTCCCTCAA CTTATCCATTAATGATGTAGATGAAAAATCTGACACTAT TGCCATCACCAAATATCTGACACTCTGTACCTGCTTTTG ATTTCTCTTTGTTGGGTGGTGAGCATTAGCAACAATAG GGTCCTCAGTGCAACCTCAATGTCGGTGAGACAGTCTTT CAAATCAGGACATGATCTAATCCATGAAATCATGATGTC

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		TATCATATTGTATAAGACCTCATCTGAAAAAATTGGTAA AAAGAACCTTTTAGGATCTGCATAGAAGGAAATTAAAT GACCATCCGGGCCTTGTATGGAGTAGCACCTTGAAGATT CTCCAGTCTTCTGGTATAATAGGTGGTATTCTTCAGAGT CCAGTTTTATTACTTGGCAAAACACTTCTTTGCATTCTAC CACTTGATATCTCACAGACCCTATTTGATTTTGCCTTAGT CTAGCAACTGAGCTAGTTTTTCATACTGTTTGTAAAGGCC AGACAAACAGATGATAATCTTCTCAGGCTCTGTATGTTC TTCAGCTGCTCTGTGCTGGGTGGAAATTGTAATCTTCA AACTTCGTATAATAACATTATCGGGTGAGCTCCAATTTTC ATAAAGTTCTCAAATTCAGTGAATGGTATGTGGCATTCT TGCTCAAGGTGTTTCAGACAGTCCGTAATGCTCGAAACTC AGTCCCACCACTAACAGGCATTTTTGAATTTTTGCAATG AACTCACTAATAGATGCCCTAAACAATTCCTCAAAAGA CACCTTTCTAAACACCTTTGACTTTTTTCTATTCTCAAA AGTCTAATGAACTCCTCTTTAGTGCTGTGAAAGCTTACC AGCCTATCATTACACTACTATAGCAACAACCCACCCAG TGTTTATCATTTTTTTAACCCTTTGAATTTGACTGTTTTA TCAATGAGGAAAGACACAAAACATCCAGATTTAACAAC TGTCTCCTTCTAGTATTCAACAGTTTCAAACCTTGACTT TGTTTAACATAGAGAGGAGCCTCTCATATTCAGTGCTAG TCTCACTTCCCCTTTCGTGCCCATGGGTCTCTGCAGTTAT GAATCTCATCAAAGGACAGGATTCGACTGCCTCCCTGCT TAATGTTAAGATATCATCACTATCAGCAAGGTTTTCATA GAGCTCAGAGAATTCTTGATCAAGCCTTCAGGGTTTAC TTTCTGAAAGTTTCTCTTTAATTTCCCACTTTCTAAATCT CTTCTAAACCTGCTGAAAAGAGAGTTTATTCCAAAAACC ACATCATCACAGCTCATGTTGGGGTTGATGCCTTCGTGG CACATCCTCATAATTTTCATCATTGTGAGTTGACCTCGCA TCTTTCAGAATTTTCATAGAGTCCATACCGGAGCGCTTG TCGATAGTAGTCTTCAGGGACTCACAGAGTCTAAAATAT

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		TCAGACTCTTCAAAGACTTTCTCATTTTGGTTAGAATAC TCCAAAAGTTTGAATAAAAGGTCTCTAAATTTGAAGTTT GCCCACTCTGGCATAAAACTATTATCATAATCACAACGA CCATCTACTATTGGAATAATGTGACACCCGCAACAGCA AGGTCTTCCCTGATGCATGCCAATTTGTTAGTGTCTCT ATAAATTTCTTCTCAAACTGGCTGGAGTGCTCCTAACA AAACACTCAAGAAGAATGAGAGAATTGTCTATCAGCTT GTAACCATCAGGAATGATAAGTGGTAGTCCTGGGCATA CAATTCCAGACTCCACCAAAATTGTTTCCACAGACTTAT CGTCGTGGTTGTGTGTGCAGCCACTCTTGTCTGCACTGT CTATTTCAATGCAGCGTGACAGCAACTTGAGTCCCTCAA TCAGAACCATTCTGGGTTCCCTTTGTCCCAGAAAGTTGA GTTTCTGCCTTGACAACCTCTCATCCTGTTCTATATAGTT TAAACATAACTCTCTCAATTCTGAGATGATTCATCCAT TGCGCATCAAAAAGCCTAGGATCCTCGGTGCG
6	Нуклеотидная последователь ность E7E6- NP-S-сегмента 1 HPV16 PICV (Геномный сегмент представляет собой РНК, последователь ность в SEQ ID NO: 6 показана для ДНК; однако замена всех	GCGCACCGGGGATCCTAGGCATACCTTGGACGCGCATA TТАCTTGATCAAAGATGCATGGTGACACCCCCACCCTGC ATGAGTACATGCTGGACCTGCAGCCAGAGACCACAGAC CTGTATGGCTATGGCCAGCTGAATGACAGCAGTGAGGA AGAGGATGAGATTGATGGGCCAGCAGGCCAGGCAGAAC CTGACAGAGCCCACTACAACATTGTCACCTTCTGCTGCA AGTGTGACAGCACCCCTGAGACTGTGTGTGCAGAGCACC CATGTGGACATCAGAACCCTGGAAGACCTGCTGATGGG CACCCCTGGGCATTGTGGGCCCCATCTGCTCCCAGAAGCC CCACCAGAAAAGAACTGCCATGTTCCAGGACCCCCAGG AGAGGCCAGAAAGCTGCCCCAGCTCTGCACAGAGCTG CAGACCACCATCCATGACATCATCCTGGAATGTGTCTAC TGCAAGCAGCAGCTGCTGAGGAGAGAGGTGTATGACTT TGCCTTCAGGGACCTGTGCATTGTGTACAGGGATGGCAA CCCCTATGCTGTGGGGGACAAGTGCCTCAAGTTCTACAG

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
	тимидинов (Т) в SEQ ID NO:6 на уридины (U) дает последовательность РНК.)	CAAGATCAGTGAGTACAGGCACTACTGCTACAGCCTGT ATGGCACCAACCCTGGAACAGCAGTACAACAAGCCCCTG TGTGACCTCCTGATCAGATGCATCAATGGCCAGAAACCC CTCTGCCCTGAGGAAAAGCAGAGACACCTGGACAAGAA GCAGAGGTTCCACAACATCAGAGGCAGGTGGACAGGCA GATGCATGAGCTGCTGCAGAAGCAGCAGAACCAGAAGA GAGACCCAGCTGTGAGCCCTAGCCTCGACATGGGCCTC GACGTCACCTCCCAATAGGGGAGTGACGTCGAGGCCTC TGAGGACTTGAGCTCAGAGGTTGATCAGATCTGTGTTGT TCCTGTACAGCGTGTCAATAGGCAAGCATCTCATCGGCT TCTGGTCCCTAACCCAGCCTGTCACTGTTGCATCAAACA TGATGGTATCAAGCAATGCACAGTGAGGATTTCGCAGTG GTTTGTGCAGCCCCCTTCTTCTTCTTTATGACCAAAC CTTTATGTTTGGTGCAGAGTAGATTGTATCTCTCCAGA TCTCATCCTCAAAGGTGCGTGCTTGCTCGGCACTGAGTT TCACGTCAAGCACTTTTAAGTCTCTTCTCCCATGCATTTC GAACAAACTGATTATATCATCTGAACCTTGAGCAGTGA AAACCATGTTTTGAGGTAAATGTCTGATGATTGAGGAA ATCAGGCCTGGTTGGGCATCAGCCAAGTCCTTTAAAAG GAGACCATGTGAGTACTTGCTTTGCTCTTTGAAGGACTT CTCATCGTGGGGAAATCTGTAACAATGTATGTAGTTGCC CGTGTCAGGCTGGTAGATGGCCATTTCACCGGATCATT TGGTGTTCCCTTCAATGTCAATCCATGTGGTAGCTTTTGA ATCAAGCATCTGAATTGAGGACACAACAGTATCTTCTTT CTCCTTAGGGATTTGTTTAAGGTCCGGTGATCCTCCGTTT CTTACTGGTGGCTGGATAGCACTCGGCTTCGAATCTAAA TCTACAGTGGTGTTATCCCAAGCCCTCCCTTGAACCTTGA GACCTTGAGCCAATGTAAGGCCAACCATCCCCTGAAAG ACAAATCTTGTATAGTAAATTTTCATAAGGATTTCTCTG TCCGGGTGTAGTGCTCACAAACATACCTTCACGATTCTT TATTTGCAATAGACTCTTTATGAGAGTACTAAACATAGA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		AGGCTTCACCTGGATGGTCTCAAGCATATTGCCACCATC AATCATGCAAGCAGCTGCTTTGACTGCTGCAGACAAACT GAGATTGTACCCTGAGATGTTTATGGCTGATGGCTCATT ACTAATGATTTTTAGGGCACTGTGTTGCTGTGTGAGTTT CTCTAGATCTGTCATGTTTCGGGAAGTTGACAGTGTAGAG CAAACCAAGTGCACCTCAGCGCTTGGACAACATCATTA GTTGTTACCCCCCTTGCTCAGTCATACAAGCGATGGTTA AGGCTGGCATTGATCCAAATTGATTGATCAACAATGTAT TATCCTTGATGTCCCAGATCTTCACAACCCCATCTCTGTT GCCTGTGGGTCTAGCATTAGCGAACCCCATGAGCGAA GGATTTTCGGCTCTTTGTTCCAAGTGAAGTGTGAGAT TGCCCCCATAAACACCAGGCTGAGACAACTCTCAGTTC TAGTGACTTTCTTTCTTAAGTGTCCAATCAGATGCAA GCTCCATTAGCTCCTCTTTGGCTAAGCCTCCACCTTAA GCACATTGTCCCTCTGGATTGATCTCATATTCATCAGAG CATCAACCTCTTTGTTTCATGTCTCTTAAGTGTGAGATC AGAATCAGTCCTTTTATCTTTGCGCATCATTCTTTGAAGT TGAGCAACTTTGTGAAAGTCAAGAGCAGATAACAGTGC TCTTGTGTCCGACAACACATCAGCCTTCACAGGATGGGT CCAGTTGGATAGACCCCTCCTAAGGGACTGTACCCAGC GGAATGATGGGATGTTGTCAGACATTTTGGGGTTGTTG CACTTCCTCCGAGTCAGTGAAGAAGTGAACGTACAGCG TGATCTAGAATCGCCTAGGATCCACTGTGCG
7	Нуклеотидная последователь ность E7E6- GP-S-сегмента 2 HPV16 PICV (Геномный сегмент представляет	GCGCACCGGGGATCCTAGGCATACCTTGGACGCGCATA TТАCTTGATCAAAGATGCATGGTGACACCCCCACCCTGC ATGAGTACATGCTGGACCTGCAGCCAGAGACCACAGAC CTGTATGGCTATGGCCAGCTGAATGACAGCAGTGAGGA AGAGGATGAGATTGATGGGCCAGCAGGCCAGGCAGAAC CTGACAGAGCCCACTACAACATTGTCACCTTCTGCTGCA AGTGTGACAGCACCCCTGAGACTGTGTGTGCAGAGCACC CATGTGGACATCAGAACCCTGGAAGACCTGCTGATGGG

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
	собой РНК, последовательность в SEQ ID NO: 7 показана для ДНК; однако замена всех тимидинов (Т) в SEQ ID NO:7 на уридины (U) дает последовательность РНК.)	CACCCTGGGCATTGTGGGCCCCATCTGCTCCCAGAAGCC CCACCAGAAAAGAACTGCCATGTTCCAGGACCCCCAGG AGAGGCCCAGAAAGCTGCCCCAGCTCTGCACAGAGCTG CAGACCACCATCCATGACATCATCCTGGAATGTGTCTAC TGCAAGCAGCAGCTGCTGAGGAGAGAGGTGTATGACTT TGCCTTCAGGGACCTGTGCATTGTGTACAGGGATGGCAA CCCCTATGCTGTGGGGGACAAGTGCCTCAAGTTCTACAG CAAGATCAGTGAGTACAGGCACTACTGCTACAGCCTGT ATGGCACCAACCCTGGAACAGCAGTACAACAAGCCCCTG TGTGACCTCCTGATCAGATGCATCAATGGCCAGAAACCC CTCTGCCCTGAGGAAAAGCAGAGACACCTGGACAAGAA GCAGAGGTTCCACAACATCAGAGGCAGGTGGACAGGCA GATGCATGAGCTGCTGCAGAAGCAGCAGAACCAGAAGA GAGACCCAGCTGTGAGCCCTAGCCTCGACATGGGCCTC GACGTCACCTCCCAATAGGGGAGTGACGTCGAGGCCTC TGAGGACTTGAGCTTATTTACCCAGTCTCACCCATTTGT AGGGTTTCTTTGGGATTTTATAATACCCACAGCTGCAAA GAGAGTTCCTAGTAATCCTATGTGGCTTCGGACAGCCAT CACCAATGATGTGCCTATGAGTGGGTATTCCAATAAGT GGAGAAACACTGTGATGGTGTAACACCAAGACCAG AAGCAAATGTCTGTCAATGCTAGTGGAGTCTTACCTTGT CTTTCTTCATATTCTTTTATCAGCATTTCATTGTACAGAT TCTGGCTCTCCCACAACCAATCATTCTTAAATGCGTTT CATTGAGGTACGAGCCATTGTGAACTAACCAACACTGC GGTAAAGAATGTCTCCCTGTGATGGTATCATTGATGTAC CAAAATTTTGTATAGTTGCAATAAGGGATTTTGGCAAGC TGTTTGAGACTGTTTCTAATCACAAGTGAGTCAGAAATA AGTCCGTTGATAGTCTTTTAAAGAGATTCAACGAATTC TCAACATTAAGTTGTAAGGTTTTGATAGCATTCTGATTG AAATCAAATAACCTCATCGTATCGCAAATTCCTTCATTG TGATCTTTGTTGCATTTTGCCATCACAGTGTTATCAAAA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		CATTTTATTCCAGCCCAAACAATAGCCCATTGCTCCAAA CAGTAACCACCTGGGACATGTTGCCCAGTAGAGTCACTC AAGTCCCAAGTGAAAAAGCCAAGGAGTTTCCTGCTCAC AGAACTATAAGCAGTTTTTTGGAGAGCCATCCTTATTGT TGCCATTGGAGTATATGTACAGTGATTTTCCCATGTGGT GTTCTGTATGATCAGGAAATTGTAATGTGTCCCACCTTC ACAGTTTGTTAGTCTGCAAGACCCTCCACTACAGTTATT GAAACATTTTCCAACCCACGCAATTTTGGGTCCCCAAT GATTTGAGCAAGCGACGCAATAAGATGTCTGCCAACCT CACCTCCTCTATCCCCAACTGTCAAGTTGTACTGGATCA ACACCCCAGCACCTCAACTGTTTTGCATCTGGCACCTA CATGACGAGTGACATGGAGCACATTGAAGTGTAACCTCA TTAAGCAACCATTTTAATGTGTGACCTGCTTCTTCTGTCT TATCACAATTACTAATGTTACCATATGCAAGGCTTCTGA TGTTGGAAAAGTTTCCAGTAGTTTCATTTGCAATGGATG TGTTTGTCAAAGTGAGTTCAATTCCCCATGTTGTGTTAG ATGGTCCTTTGTAGTAATGATGTGTGTTGTTCTTGCTACA TGATTGTGGCAAGTTGTCAAACATTCTTGTGAGGTTGAA CTCAACGTGGGTGAGATTGTGCCTCCTATCAATCATCAT GCCATCACAACTTCTGCCAGCCAAAATGAGGAAGGTGA TGAGTTGGAATAGGCCACATCTCATCAGATTGACAAATC CTTTGATGATGCATAGGGTTGAGACAATGATTAAGGCG ACATTGAACACCTCCTGCAGGACTTCGGGTATAGACTGG ATCAAAGTCACAACTTGTCCCATTTTGGGGTTGTTTGCA CTTCCTCCGAGTCAGTGAAGAAGTGAACGTACAGCGTG ATCTAGAATCGCCTAGGATCCACTGTGCG
8	Нуклеотидная последовательность L-сегмента PICV (Геномный	GCGCACCGGGGATCCTAGGCATCTTTGGGTCACGCTTCA AATTTGTCCAATTTGAACCCAGCTCAAGTCCTGGTCAAA ACTTGGGATGGGACTCAGATATAGCAAAGAGGTCAGGA AGAGACATGGCGACGAAGATGTGGTGGGAAGGGTCCCC ATGACCCTCAATCTACCACAGGGCCTGTATGGCAGGTTC

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
	сегмент представляет собой РНК, последовательность в SEQ ID NO: 8 показана для ДНК; однако замена всех тимидинов (Т) в SEQ ID NO:8 на уридины (U) дает последовательность РНК.)	AACTGCAAATCTTGCTGGTTCGTCAACAAAGGTCTCATC AGGTGCAAAGACCACTATCTGTGTCTTGGGTGCTTAACC AAAATGCACTCCAGAGGCAATCTCTGCGAGATATGCGG CCACTCACTGCCAACCAAGATGGAGTTCCTAGAAAGCC CCTCTGCACCACCCTACGAGCCATAAACCAGGGCCCCCTG GGCGCACCCCCCTCCGGGGGTGCGCCCGGGGGCCCCCG GCCCCATGGGGCCGGTTGTTTACTCGATCTCCACTGACT CATTGTCCTCAAACAACCTTTCGACACCTGATTCCCTTGA TCTTGAAGGGTCCTGTCTCGTCTGCAATCATAACAGATC CTAGAGTCTTACTTCTTATTATACTAAAGTGACCACAAT TCAACCAATCTTTGGCATCATGCAACATGTGTTCAAACA CTTCGGGGAAATTTTCAATCATGAGTCTTAAATCCTGCT CGTTCATACTTATTCCTTGTGTTGTGAGACTGTGCACTTGA AAGGTACTGAAAAAGGTTGGCAATAAATCTTGGCCTTTT CTCAGGTTCTAATGCTTCCAGTGCAATGATGACCACCTT TGAGTCTAAGTTCACTTCCAATCTAGAAACCACTCTGTT GCCCTCTTTGATCAACCCACCCTCTAAAATGAGGGGTTG CATCCCAACATCAGGACCAATCAACTTATAGGAAAATTT GTTTTTCAAATCCTTGAAACGATTTTTTCAAATCTATTCTC ACCTTCTGGAACACAGTTGACCTTGACTTGAAGTGAATG TCTTGACCTTCCAATAGATCATTGAAGTCTAGAACATCT TTTCCGTTGATGAGAGGATTCAGAACCAAAAGTGACAC ACCATCCAGACTTATGTGATTCCCGGAAGATTGAGAAA CATAATACTCAACAGAATGGGGGTTCAACAATAGGTAA CCATCAGAGTCCAATGAGTCCAGCAATGACTCCCTTTCA ATAAGAAATCTTAATTTTAATATGTAATTGGTAGACCTC TCATATCTAAATTTGTGGCTCACTCTCTTATGAGAAAAT GTTAGGTTGAGCTCAATGGGAATGACCTCAGAAGGTGA TGCTAAAATGAGTTGTTCAATGTTCTCATAGTTATCTCT ATTCACCCAGTCAAGTTCATTAATAAATACACTAATGTT CAAATTAACACAGGACAAAATCAGTTTGCTGCTTACAA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		AGCCAACATCCAAGTCATCCAGATTCATTGTCCTAGAAG TGTTATTCTTTTTGCAGTCACAAATGAACTGGGTAAATT GTTTCAGATCATGTTGTGCATTGTTTGGCAACAATTCAA GCTCACCAAACCAAAAATATTTCTTGAAGTGAAGATGTTG ACATAATCACAGGCACCAACATTGACTCAAACAAAATC TGTATCAAGAAATTTGTGCACACTTCTTCTGGTTCAAGG TTGAATCCTCTCTCCAGTGGATGAGACTCTCTGCTATGG GACATTGCAAGCTCATTTTGCTTTACAATATAACAATTCT TCTCTGCGATGTTTTATAATATGACTAACAATACCAAGA CATTCTGATGTTATATCAATTGCCACACAAAGGTCTAAG AACTTTATCCTCTGAACCCATGATAGCCTCAGCATATTC AAATCAGACAGGAAAGGGGATATGTGTTTCATCAAATAG TGTAGGGAAGTTCCTCCTGATTGAGTAAAGTATGTGGTT GATGCCCACCTTGTCTCAAGCTCAGAATGTGTGCTTGG TTTTATTGGCCAGAAGTGATTGGGATTGTTTAGGTGAGT GACTATCTTGGGTACTTCAGCTTTTTGAAACACCCAGTT ACCCAACCTCGCAAGCATTGGTTAACACAAGAGCAAAAT AATCCCAAATTAAGGGTCTGGAGTACTCACTTACTTCAC CAAGTGCTGCTTTACAATAAACACCTTTGCGCTGATTAC AAAAGTGACAATCACGGTGTAAGATAATCTTGCTTGTA ATATCCCTGATATACTTAAATCCTCCTTTCCCATCTCTTA CACATTTTGAGCCCATACTTTTGCAAACCTCCTATGAATC CTGATGCTATGCTGCTCTGAAAAGCTGATTTGTTGATAG CATCAGCCAAAATCTTCTTAGCCCCTCTGACATAGTTCT TTGATAATTTGGACTGTACGGATTTGACAAGACTGGGTA TTTCTTCTCGCTGCACAGTTCTTGTTGTGCTCATTAAGTT AGTACGAAGCACCAATCTGAGATCACCATGAACCCTTA AATTTAACCACCTAATATTAAGAGCATCCTCAATAGCCT CAGTCTCGACATCACAAGTCTCTAATAACTGTTTTAAGC AGTCATCCGGTGATTGCTGAAGAGTTGTTACAATATAAC TTTCTTCCAGGGCTCCAGACTGTATTTTGTAATAATTTT

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		CCTGCATGCCTTTCTGATTATTGAAAGTAGCAGATCATC AGGAAATAGTGTCTCAATTGATCGCTGAAGTCTGTACCC TCTCGACCCATTAACCCAATCGAGTACATCCATTTCTTC CAGGCACAAAAATGGATCATTGGAACCCACTATAGA TTATCATGCTATTTGTTCGTTTTGCAATGGCCCCCTACAAC CTCTATTGACACCCCGTTAGCAACACATTGGTCCAGTAT TGTGTCAATTGTATCTGCTTGCTGATTGGGTGCTTTAGCC TTTATGTTGTGTAGAGCTGCAGCAACAACTTTGTAAGG AGGGGGACTTCTTGTGACCAAATGAAGAATCTCGATTTG AACTCACTTGCAAAGGTCCCCACAACCTGTTTTAGGGCTC ACAACTTGTTGAGTTTGTCTGATAGAAAGTAGTGAAAC TCCATACAGTCCAATACCAATTCAACATTCAACTCATCT CTGTCCTTAAATTTGAAACCCTCATTCAAGGATAACATG ATCTCATCATCACTCGAAGTATATGAGATGAACCGTGCT CCATAACAAAGCTCCAATGCGTAATTGATGAACTGCTCA GTGATTAGACCATATAAGTCAGAGGTGTTGTGTAGGAT GCCCTGACCCATATCTAAGACTGAAGAGATGTGTGATG GTACCTTGCCCTTCTCAAAGTACCCAAACATAAATTCCT CTGCAATTGTGCACCCCCCTTTATCCATCATACCCAACC CCCTTTTCAAGAAACCTTTCATGTATGCCTCAACGACAT TGAAGGGCACTTCCACCATCTTGTGAATGTGCCATAGCA ATATGTTGATGACTGCAGCATTGGGAACCTTCTGACCCAT CTTTGAGTTTGAACCTCAAGACCTTTTAATAATGCGGCAA AGATAACCGGCGACATGTGTGGCCCCCATTTTGAATGGT CCATTGACACCGCAAGACCACTTTGCCTAACAACTGACT TCATGTCTAATAATGCTCTCTCAAACCTTTTCTCGTTGTT CAGACAAGTATACCTCATGTTTTGCATAAGGGATTGAGA GTAATCCTCAATGAGTCTGGTTGTGAGTTTAGTATTTAA ATCACCGACATAAAGCTCCCTGTTGCCACCCACCTGTTC TTTATAAGAAAGACCAAATTTCAATCTCCCTACATTGGT GGATACACCAGACCTCTCTGTGGGAGACTCATCTGAATA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		GAAACAGAGATTTTCGTAAGGATGAGTTGGTAAAAAAGC TTTGATCCAATCTTTTAGCTATCGATTGAGAATTGCTCTC TCTTGAGCTTATACGTGATGTCTCTCTAATTTGTAGTGCT GCATCTGTGAACCCAAGTCTGCTTCTACTTTTGTGATCA TATCTTCCGACTCGATTATCATAATCGCTTGCAATGAGA ATGTATTTAAAGCACTCAAAATAATCAGCTTCTTTGTAC GCCTTCAATGTGAGGTTCTTTATTA AAAACTCCAGAGGA CACGGATTCATTAGTCTGTCTGCAAAGTACACTGATCTA GCAGTGACATCCTCATAGATCAAGTTTACAAGATCCTCA TACACTTCTGCTGAAAACAGGCTGTAATCAAAATCCTTT ACATCATGAAGTGAAGTCTCTCTTTTGATGACAACCATT GTCGATTTGGGCCATAATCTCTCTAGTGGACATGAAGTC TTAAGGTTGGTTTTGACATTGGTGTCAACCTTAGACAAT ACTTTTGCAACTCTGGTCTCAATTTCTTTAAGACAGTCA CCCTGATCTTCTGATAGTAACTCTTCAACTCCATCAGGC TCTATTGACTCCTTTTTTTATTTGGATCAATGATGACAACC TCTTCAGAATCTTGAAATTTACCTCCTTTGGATCTAACTT GTATTTACCCTTAGTTTTGAAATGTTCAATCATTTCCACA ACAACAGCAGACACAATGGAAGAGTAATCATATTCAGT GATGACCTCACCAACTTCATTGAGTTTTGGAACCACCAC ACTTTTGTTGCTGGACATATCCAAGGCTGTACTTGTGAA GGAGGGAGTCATAGGGTCACAAGGAAGCAGGGGTTTCA CTTCCAATGAGCTACTGTAAATAGTGATAGACAAACAC TAAGTACATCCTTATTCAACCCCGGCCTTCCCTCACATTT GGATTCCAGCTTTTTTACCAAGTAGTCTCTCTATATCATG CACCATCTTCTCTTCTCCTCAGTAGGAAGTTCCATACTA TTAGAAGGGTTGACCAAGACTGAATCAAACCTTTAACTTT GGTTCCAAGA ACTTCTCAAAACATTTGATTTGATCAGTT AATCTATCAGGGGTTTCTTTGGTTATAAAATGGCATAAA TAGGAGACATTCAAAACAACTTAAAGATCTTAGCCAT ATCTTCCTCTCTGGAGTTGCTGAGTACCAGAAGTATCAA

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		ATCATCAATAAGCATTGCTGTCTGCCATTCTGAAGGTGT TAGCATAACGACTTTCAATTTCTCAAACAATTCTTTAAA ATGAACTTCATTTACAAAGGCCATAATGTAATATCTAAA GCCTTGCAAGTAAACTTGAATACGCTTGGAAGGGGTGC ACAGTATGCAGAGAATAAGTCGTCTGAGTAAATCAGAA ACAGAATCCAAGAGGGGTTGGGACATAAAGTCCAACCA GGATAACATCTCCACACAAGTCCTTTGAATCACATCTGC ACTAAAGATCGGTAAGAAAAATCTCTTGGGATCACAGT AAAAAGACGCTTTTGTTCATACAAACCCCCACTTTTGG ATCTATAAGCAACAGCATAACACCTGGACCTCTCCCCTG TCTTCTGGTACAGTAGTGTGAGAGAACCTCCTTCTCCAA ATCGCTGGAAGAAAACCTTCGTCACAGTAAACCTTCCCAT AAAACATCATCAGCATTGTTACCTTCATCTTAGGAACTG CTGCTGTCTTCATGCTATTAATGAGTGACAAACTCAAAC TTGACAATGTTTTTCAGCAATTCCTCAAACCTCACTTTCGC CCATGATGGTATAATCAGGCTGCCCTCTTCCTGGCCTAC CCCCACACATACACTGTGACTTTGTCTTGTATTGAAGAC AGGGTTTAGCACCCCATTCATCTAACACTGATGTTTTCA GATTGAAGTAATATTCAACATCAGGTTCCCGTAGAAGA GGGAGAATGTCATCAAGGGGAAGTTCACCACAGACCGA GCTCAGTCTCTTCTTAGCCTTCTCTAACCAAGTTGGGGTTT TTAATGAATTTTTTAGTGATTTGTTCCATCAGGAAGTCG ACATTAATCAACCTGTCAATTACAGACGGTAACCCTTGC ATTAGGAGCACCTCTCTGAACACAGCACCTGGAGAAGA CTTGTTCCAAGTCACACAAAATGTTGTACATGATAAGGTC CAGAACCAACATGGTGTTCCTCCTTGTGTAAAAACCTT TTGAGACTTAATTTTGTTCATATTGAAAGTACTCTAAA ATATTCTCTGCTTTCAGTTGATGAATGCTTGACCTCAGA TTGCCTGAGTTGGCCTATTATGCCCAAAATGTGTACTGA GCAAACTCACATAATCTGATTTCTGATTTAGGTACATC TTTGACAGAACATTGGATAAATTCATGGTTCTGAAGTCT

SEQ ID NO.	Описание	Последовательность
		AGAAATCATATCTTCCCTATCTGTAGCCTGCAGTTTCCT ATCGAGTTGACCAGCAAGTTGCAACATTTTAAATTGCTG AAAGATTTCCATGATTTTTGTCTACATTGATCTGTTGTC AGTTTATTATTAATGCCAGACATTAATGCCTTTTCCAAC CTCACTTTGTAAGGAAGTCCCCTTTTCTTTACAGCAAGT AGTGACTCCAGACCGAGACTCTGATTTTCTAAGGATGAG AGGGAACCTTATAAGGCGTTCGTACTCCAACCTCCTCAACT TCTTCACCAGATGTCCTTAATCCATCCATGAGTTTTAAA AGCAACCACCGAAGTCTCTCTACCACCCAATCAGGAAC AAATTCTACATAATAACTGGATCTACCGTCAATAACAGG TACTAAGGTTATGTTCTGTCTCTTGAGATCAGAACTAAG CTGCAACAGCTTCAAAAAGTCCTGGTTGTATTTCTTCTC AAATGCTTCTTGACTGGTCCTCACAAACACTTCCAAAAG AATGAGGACATCTCCAACCATACAGTAACCATCTGGTGT AACATCCGGCAATGTAGGACATGTTACTCTCAACTCCCT AAGGATAGCATTGACAGTCATCTTTGTGTTGTGTTTGCA GGAGTGTTTCTTGCATGAATCCACTTCCACTAGCATGGA CAAAAGCTTCAGGCCCTCTATCGTGATGGCCCTATCTTT GACTTGTGCAAGAACGTTGTTTTTCTGTTTCAGATAGCTC TTCCCATTCGGGAACCCATTTTCTGACTATGTCTTTAAGT TCGAAAACGTATTCCTCCATGATCAAGAAATGCCTAGG ATCCTCGGTGCG

[00167] Нуклеотидная последовательность из SEQ ID NO: 1 и 2 кодирует гибридный белок E7E6 HPV16. Нуклеотидную последовательность гибридного белка E7E6 HPV16 из SEQ ID NO: 1 и 2 модифицируют для снижения динуклеотидных мотивов CpG (оптимизированные по динуклеотидам). Аренавирусные частицы, содержащие SEQ ID No: 1 или 2, могут демонстрировать улучшенную генетическую стабильность, улучшенную экспрессию и улучшенную иммуногенность в предложенных в данном документе способах. Анализы, демонстрирующие эти свойства, описаны ниже. Аттенуированный репликационно-компетентный вирусный вектор могут получать *de novo*

с использованием системы защиты кДНК, содержащей плазмиды, кодирующие два коротких (S) геномных сегмента, включающих нуклеотидную последовательность E7E6, оптимизированную по динуклеотидам, а также ген для аренавирусного нуклеопротеина (NP) или аренавирусного гликопротеина (GP), соответственно, и длинный (L) геномный сегмент, включающий в себя ген для RING-пальцевого белка Z и РНК-направляемой РНК полимеразы L.

Анализы для демонстрации клинической пользы оптимизированных по динуклеотидам последовательностей

[00168] Следующие анализы могут применять для демонстрации улучшения оптимизированных по динуклеотидам последовательностей SEQ ID NO: 1 или 2.

Генетическая стабильность

[00169] Трехсегментная аренавирусная частица, кодирующая оптимизированную по динуклеотидам нуклеотидную последовательность E7E6 HPV16, может обладать стабильной экспрессией антигена HPV после пересева нескольких поколений, что необходимо для крупномасштабного коммерческого производства. В некоторых вариантах осуществления трехсегментная аренавирусная частица может обладать стабильной экспрессией антигена HPV после проведения пассажей по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 поколений.

[00170] Последовательные пассажи потенциально пригодных векторов при размножении клеточной линии. Культуры клеток НЕК293 в малых объемах могут инфицировать репликационно-компетентными векторами со множественностью заражения MOI 0,001 (титр RCV FFU/мл). На день 4 после инфицирования супернатант можно отделять от клеток и дебриса путем центрифугирования. Определенные таким образом титры RCV FFU могут использовать для получения следующего пассажа путем заражения свежих клеток, как описано выше. Векторный исходный материал можно пассировать в течение 9 последовательных пассажей (до пассажа p10).

[00171] Анализ пассированного векторного материала. Векторный материал, полученный *de novo* (P1), а также полученный в результате его последовательных пассажей, могут впоследствии анализировать на инфекционность с помощью анализов на FFU и RCV FFU. Трансгенную стабильность вектора могут анализировать путем

выделения геномной вРНК из вирусосодержащего супернатанта различных уровней пассажей, транскрипции в кДНК и последующей амплификации методом ПЦР с фланкирующими трансген праймерами, специфичными для соответствующего трансгена и S-сегмента. Трансгенную экспрессию векторных исходных культур могут подтверждать вестерн-блот анализом лизатов клеток на разных уровнях пассажей с использованием трансген-специфических антител.

Экспрессия антигена

[00172] Трехсегментная аренавирусная частица, кодирующая оптимизированную по динуклеотидам нуклеотидную последовательность E7E6 HPV16, может обладать целостной экспрессией кодируемого HPV гибридного белка.

[00173] **Анализ уровня экспрессии кодируемого антигена E7E6.** Могут использовать вестерн-блот, твердофазный ИФА, радиоиммуноанализ, иммунопреципитация, иммуноцитохимический анализ или иммуноцитохимический анализ в сочетании с FACS для количественной оценки генных продуктов сегмента S аренавируса или трехсегментной частицы аренавируса.

[00174] **Вестерн-блоттинг.** Инфицированные клетки, выращенные в колбах для культуры тканей или в суспензии, могут лизировать в указанные моменты времени после заражения с использованием буфера RIPA (Thermo Scientific) или использовать непосредственно без лизиса клеток. Образцы могут нагревать до 99 °C в течение 10 минут с восстановителем и буфером NuPAGE LDS для образцов (NOVEX) и охлаждать до комнатной температуры перед загрузкой на 4–12% Bis-Tris SDS-гель NuPAGE для электрофореза. Белки могут переносить на мембраны с помощью устройства для переноса на гель Invitrogen iBlot. Наконец, мембраны могут зондировать первичными антителами, направленными против интересующих белков, и конъюгированными с пероксидазой хрена (HRP) вторичными антителами с последующим окрашиванием хемилюминесцентным субстратом HRP Immobilon Western (Merck/Millipore).

Иммуногенность

[00175] Трехсегментная аренавирусная частица, кодирующая оптимизированную по динуклеотидам нуклеотидную последовательность E7E6 HPV16, может индуцировать сильные иммунные реакции против кодируемого HPV гибридного белка.

[00176] Анализ окрашивания мультимеров МНС-пептидов для выявления антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток. Для измерения антигенспецифических ответов антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток могут использовать любой анализ, известные в данной области. Например, могут использовать анализ окрашивания МНС-пептидных тетрамеров (см., например, Altman J.D. et al., Science. 1996; 274:94-96; и Murali-Krishna K. et al., Immunity. 1998; 8:177-187). Вкратце, анализ может включать анализ тетрамеров, используемый для выявления присутствия антигенспецифических Т-клеток. Для того чтобы обнаружить антигенспецифическую Т-клетку, она должна связаться как с пептидом, так и тетрамером молекул МНС, полученных специально для определенной антигенной специфичности и гаплотипа МНС Т-клеток (обычно флуоресцентно меченых). Т-клетки, которые распознают тетрамер и, таким образом, являются специфическими для данного антигена, могут обнаруживать путем проточной цитометрии по флуоресцентной метке.

[00177] Анализ ELISPOT для выявления антигенспецифических Т-клеток. Для тестирования ответов антигенспецифических Т-клеток могут применять любой анализ, хорошо известный в данной области. Например могут применять анализ ELISPOT (см., например, Czerkinsky C.C. et al., J Immunol Methods. 1983; 65:109-121; and Hutchings P.R. et al., J Immunol Methods. 1989; 120:1-8), как приведено в качестве примера в таблице 1. Сводные данные по отбору образцов для анализов в центральной лаборатории, цитокины, такие как IFN- γ , но не ограничиваясь ими, могут измерять методом ELISPOT. Вкратце, анализ включает в себя следующие стадии: наносят на планшет для метода иммунноферментных пятен антитело против цитокина. Затем инкубируют клетки на планшете для метода иммунноферментных пятен с пептидами, происходящими из интересующего антигена. Антигенспецифические клетки секретируют цитокины, которые связываются с нанесенными антителами. Затем клетки промывают, добавляют на планшет второе биотинилированное антитело против цитокина и визуализируют с помощью системы авидин-HRP (пероксидаза хрена) или другими подходящими методами.

[00178] Таблица 1. Сводные данные по отбору образцов для анализов в центральной лаборатории

Категория	Тип образца	Тип анализов
Выделение вирусов	Слюна, фекалии, кровь и моча	Выделение вирусов анализируют с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией для количественного определения копий нуклеопротеиновой РНК
Вирусная инфекционность (RCV)	Сыворотка, моча и слюна	Вирусную инфекционность анализируют анализом на RCV для измерения количества репликационно-компетентных вирусных векторов
Биомаркер	Кровь/плазма	Экзомные и мутационные изменения (цодНК) Транскрипционный анализ (последовательность РНК)
Биомаркер	Сыворотка	Цитокины Нейтрализующие антитела bAb (антитела против PAP, антитела против PSA, антитела против PSMA)
Биомаркер	Опухолевая ткань	ИНС TIL Транскриптомный анализ (послед. РНК) Анализ WES
Иммуногенность	Кровь	Панель для внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) для CD4 и CD8: IFN- γ , TNF- α , IL-2, CD107a и CD154 из образцов МНПК
Иммуногенность	Кровь	Анализ ELISpot для измерения секретированного IFN- γ с использованием пептидов на основе PSA, PAP и PSMA и пептидов NP LCMV пептид из образцов МНПК

Сокращения: bAb = анализ на связывающие антитела, CD4 = кластер дифференцировки 4, CD8 = кластер дифференцировки 8, цодНК = циркулирующая опухолевая

дезоксирибонуклеиновая кислота, ELISpot = метод иммуноферментных пятен, ICS = внутриклеточное окрашивание цитокинов, IFN- γ = интерферон-гамма, ИНС = иммуногистохимический анализ, LCMV = вирус лимфоцитарного хориоменингита, NP = нуклеопротеин, PAP = кислая фосфатаза предстательной железы, МНПК = моноклеарные клетки периферической крови, PSA = простат-специфический антиген, PSMA = простат-специфический мембранный антиген, RCV = репликационно-компетентный вирус, РНК = рибонуклеиновая кислота, TIL = инфильтрующий опухоль лимфоцит, TNF α = фактор альфа некроза опухолей, WES = секвенирование полного экзона.

[00179] Анализ внутриклеточных цитокинов для выявления функциональности CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток. Для тестирования функциональности ответов CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток могут применять любой анализ, хорошо известный в данной области. Например, могут применять анализ внутриклеточных цитокинов в комбинации с проточной цитометрией, как в качестве примера показано, но без ограничения этим, в таблице 1. Сводные данные по отбору образцов для анализов в центральной лаборатории (см., например, Suni M.A. et al., J Immunol Methods. 1998; 212:89-98; Nomura L.E. et al., Cytometry. 2000; 40:60-68; и Ghanekar S.A. et al., Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2001; 8:628-63). Вкратце, анализ включает в себя следующие стадии: после активации клеток посредством пептидов или белка добавляют ингибитор транспорта белков (например, брэфельдин А) для удерживания цитокинов внутри клетки. После определенного периода инкубации, как правило 5 часов, следует стадия промывания, и к клеткам можно добавлять антитела к другим клеточным маркерам. Затем клетки фиксируют и делают проницаемыми. Добавляют конъюгированные с флуорохромом антитела против цитокинов, и клетки можно анализировать проточной цитометрией.

[00180] Твердофазный ИФА сыворотки крови. Могут выполнять определение гуморального иммунного ответа при вакцинации животных (*например*, мышей, морских свинок) методом твердофазного ИФА с антигенспецифической сывороткой (твердофазные иммуноферментные анализы). Вкратце, планшеты могут покрывать антигеном (*например*, рекомбинантным белком), блокируют, чтобы избежать неспецифического связывания антител, и инкубируют с последовательными разведениями сывороток. После инкубации можно выявлять связанные сывороткой антитела, *например*, с использованием соединенных с ферментом антивидовых специфических антител

(например, мыши, морской свинки) (выявление общего IgG или подклассов IgG) и последующей колориметрической реакции. Титры антител определяют как, например, среднегеометрический титр конечного критерия оценки.

[00181] Подразумевается, что модификации, которые по существу не влияют на действенность различных вариантов осуществления этого описания, также предложены в рамках определения предложенного в данном документе раскрытия. Соответственно, следующие примеры предназначены для иллюстрации, но не ограничения настоящего раскрытия.

ПРИМЕР I

Противораковая иммунотерапия на основе аренавирусов, отдельно или в комбинации с ингибитором иммунной контрольной точки, у пациентов с HPV16⁺ раковыми заболеваниями

[00182] В данном примере описывается стратегия лечения иммунотерапией с использованием частиц на основе аренавирусов, отдельно или в комбинации с ингибитором иммунной контрольной точки.

[00183] Аренавирусная частица, которую могут применять в данной стратегии лечения, включает в себя Конструкцию 1 и Конструкцию 2, антигенные конструкции HPV, описанные на **ФИГ. 2В**. Более того, антигенные конструкции для антигена E7/E6 HPV16, которые могут применять в стратегии лечения описанные в данном документе, включают в себя антигены, описанные в публикации заявки на патент США US-2018-0179257-A1, опубликованной 28 июня 2018 г., которые включены в данный документ посредством ссылки. В частности, в определенных вариантах осуществления антиген E7/E6 HPV16, кодируемый аренавирусными частицами, применяемыми в описанной стратегии лечения, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 из публикации заявки на патент США US-2018-0179257-A1 (Конструкция 1 и Конструкция 2).

[00184] Ингибитор иммунной контрольной точки, применяемый в данной стратегии лечения, включает в себя анти-PD-1 ингибитор иммунной контрольной точки. Ингибиторы иммунных точек, которые могут применять в стратегии лечения описанной в данном документе, включающие ингибитор анти-PD-1 иммунной контрольной точки, включают в себя описанные в публикации заявки на патент США US-2018-0344830-A1,

опубликованной 6 декабря 2018 г., которые включены в данный документ посредством ссылки.

[00185] Внутритропухоловое введение аренавирусной частицы, применяемой в данной стратегии лечения, включает способы, описанные в публикации заявки на патент США US-2020-0113995-A1, опубликованной 16 апреля 2020 г., которые включены в данный документ посредством ссылки.

[00186] Конструкция 1 представляет собой репликационно-компетентный живой аттенуированный вектор на основе аренавируса LCMV, кодирующий неонкогенный гибридный белок E7 и E6. В моделях доклинических исследований Конструкция 1, вводимая как внутривенно (ВВ), так и внутрь опухоли (ВО), демонстрирует сильную иммуногенность посредством HPV16-специфических цитотоксических Т-клеток и связанной с ними эффективности (**ФИГ. 3А – 3С**).

[00187] Стратегия лечения с использованием иммунотерапии раковых заболеваний на основе аренавируса, отдельно или в комбинации с ингибитором иммунной контрольной точки, у пациентов с HPV16⁺ раковыми заболеваниями, описана на ФИГ. 4. Данная стратегия лечения впервые применяется у людей в виде исследования I/II фазы монотерапии Конструкцией 1 или в комбинации с ингибитором иммунной контрольной точки PD-1 (анти-PD-1) при подтвержденном рецидивирующем/метастатическом раке HPV16⁺. Исследование I фазы состоит из 2 группы лечения, каждая из которых проводится по схеме повышение дозы 3⁺3. В группу 1 включают пациентов с HPV16⁺ сквамозной карциномой головы и шеи, которые будут получать ВВ только Конструкцию 1. В группу 2 включают пациентов с HPV16⁺ раковыми заболеваниями с безопасно достижимым опухолевым участком, которые будут получать Конструкцию 1 ВО при первой дозе, с последующей Конструкцией 1 ВО при последующих дозах (ВО-ВВ). Конструкцию 1 могут вводить каждый 21 день. Компонент II фазы может исследоваться с рекомендованными на II фазе дозами (RP2D), определенными I фазе, и может состоять из 3 групп: группа А (только Конструкция 1, ВВ), группа В (конструкция 1 ВВ плюс анти-PD-1) и группа С (Конструкция 1, ВО-ВВ).

[00188] Основные критерии включения и исключения для стратегии лечения включают следующее:

- Все пациенты -

- Возраст ≥ 18 лет
- Функциональный статус по ECOG 0 или 1
- По меньшей мере одно измеримое поражение согласно критериям RECIST 1.1, которое будет оцениваться по ответу опухоли
- Прогрессирование или рецидив опухоли на фоне стандартной терапии (включая как минимум одну системную терапию) или противопоказания для стандартной терапии
- Отсутствие нелеченного и/или симптоматического метастатического заболевания центральной нервной системы, если оно не лечится и стабильно в течение не менее 4 недель

[00189] Частицы на основе аренавирусов отдельно, ВВ введение –

- Гистологически подтвержденная HPV 16⁺ (генотип) сквамозная карцинома головы и шеи
- Опухолевая ткань, собранная после прогрессирования после последнего лечения, если не оговорено иное

[00190] Частицы на основе аренавирусов, ВВ или ВО введение –

- Гистологически подтвержденное HPV 16⁺ (генотип) раковое заболевание любого происхождения
- Безопасный и доступный опухолевый участок, пригодный для биопсии и введения ВО, если не согласовано иное
- По меньшей мере одно дополнительное измеримое поражение по критериям RECIST 1.1, помимо опухолевого участка, пригодного для биопсии и введения ВО

[00191] Используя описанную выше стратегию лечения, можно оценивать следующие цели и конечные критерии оценки исследования:

- Первичные
- Только I фаза: доза, рекомендованная на II фазе, для каждой группы
- Только II фаза: ориентировочные противоопухолевые активности для всех групп (ORR)
- Вторичные

- Безопасность и переносимость для всех групп
- Ориентировочные противоопухолевые активности для всех групп (PFS, OS, продолжительность ответа, частота контроля заболевания)
- Изучаемые
- Ориентировочная иммуногенность (антигенспецифические анализы на E7 и E6, измерения CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток)
- Биомаркеры, коррелирующие с иммунным и/или противоопухолевым ответом, в крови, тканях, сыворотке и плазме

[00192] Статистический анализ, который могут проводить, включает каждую группу части исследования I фазы с повышением дозы в соответствии с традиционной схемой 3⁺3, с не менее чем 3 пациентами с DLT-оцениваемыми показателями на каждый уровень дозы. Для данной терапии на основе вирусов самая высокая доза не обязательно будет самой эффективной. Таким образом, повторное наполнение когорт могут использовать для более точной оценки безопасности и потенциальной эффективности разных доз.

[00193] Для анализа безопасности количество нежелательных явлений, вызванных лечением (TEAE), и показатели частоты заболеваемости могут группировать по классам СТСАЕ. Частоту возникновения внезапных отклонений в лабораторных показателях, жизненно-важных показателях и ЭКГ также могут обобщать с помощью описательной статистики.

[00194] Для анализов эффективности все конечные критерии оценки могут определять в соответствии с RECIST v1.1 и iRECIST. Для I фазы могут представлять конечные критерии оценки эффективности и требовать проведения формального статистического тестирования. Для II фазы ORR и частоты контроля заболевания данные могут обобщать с помощью точных 2-сторонних 95% ДИ по методу Клоппера-Пирсона. Продолжительность ответа, PFS и OS могут получать с помощью кривых Каплана-Мейера.

ПРИМЕР II

Иммуногенность противораковой иммунотерапии на основе аренавирусов у пациентов с запущенным HPV16⁺ раковыми заболеваниями

[00195] В данном примере описывается иммуногенность иммунотерапии с использованием частиц на основе аренавирусов, приводящая к изменениям содержания цитокина и хемокина, и индукция специфических к опухолевым антигенам Т-клеток у

пациентов с запущенным HPV16⁺ раковыми заболеваниями.

[00196] Аттенуированные реплицирующиеся аренавирусные векторы, несущие неонкогенный HPV16-специфический гибридный белок E7 и E6, экспрессировали на геномной основе вирусов LCMV или PICV (т. е., Конструкция 1 и Конструкция 2, соответственно; см. **ФИГ. 2В**).

[00197] В предыдущих доклинических исследованиях было показано, что как отдельное введение только одного аренавируса на основе LCMV, так и последовательное введение аренавируса на основе PICV, а затем одного вируса на основе LCMV (т. е. чередование 2-векторной терапии) является безопасным и эффективным. Чередующаяся 2-векторная терапия, индуцированная E7- E6-специфическими CD8⁺ Т-клеточными ответами, которые составляют до 50% циркулирующих Т-клеток (см. Schmidt S, *et al.* Oncoimmunology. 2020;9(1):1809960; Bonilla W, *et al.* Cell Rep Med. 2021;2(3):1-17).

[00198] В настоящем примере результаты по иммуногенности были получены в ходе части 1 фазы открытого, впервые проводимого у людей клинического исследования 1/2 фазы у пациентов после интенсивного предварительного лечения с предшествующей неудачей химиотерапии с помощью анти-PD-1/PD-L1 и/или препаратов платины при HPV16⁺ раковых заболеваний. Конструкция 1 представляет собой генетически сконструированную репликационно-компетентную трехсегментную аренавирусную частицу, содержащую два S-сегмента, каждый кодирует гибридный белок E7/E6 HPV16, на основе клона 13 штамма LCMV с вирусным поверхностным гликопротеином из штамма WE LCMV. Конструкция 2 представляет собой генетически сконструированную репликационно-компетентную трехсегментную частицу PICV, содержащую два S-сегмента, каждый кодирует гибридный белок E7/E6 HPV16, на основе пассажа 18 вирулентного штамма PICV. Проанализировали различные уровни доз и схемы инъекций монотерапии Конструкцией 1 отдельно или Конструкцией 2 в чередовании с Конструкцией 1 (см. **ФИГ. 5**, Bonilla W, *et al.* Cell Rep Med. 2021;2(3):1-17).

[00199] В исследование фазы 1/2 привлекли пациентов. Когорты по дозам и количество включенных в исследование пациентов было следующим. Для когорты 1 с монотерапией Конструкцией 1 дозировка составляла 5×10^5 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентного вируса (RCV FFU; n=13); для когорты 2 с монотерапией Конструкцией 1 дозировка составляла 5×10^6 RCV FFU (n=13). Для когорты 1 с чередующейся

монотерапией Конструкцией 1 и Конструкцией 2 дозировка для Конструкции 1 составляла 5×10^6 RCV FFU, и дозировка для Конструкции 2 составляла 1×10^6 RCV FFU ($n=5$); для когорты 2 с чередующейся монотерапией Конструкцией 1 и Конструкцией 2 дозировка для Конструкции 1 составляла 5×10^6 RCV FFU, и дозировка для Конструкции 2 составляла 1×10^7 RCV FFU ($n=1$). У 78,2% включенных в исследование пациентов была сквамозная карцинома головы и шеи, и 75% были мужчинами. Медианный возраст составил 62 года (диапазон возрастов от 30 до 86). У 59,4% включенных в исследование пациентов общее состояние имело оценку 1 согласно Восточной объединенной онкологической группы (ECOG), а медиана состояния до применения схем терапии составляла 3 (диапазон оценки от 1 до 8). Измерение и анализ иммуногенности после начального цикла лечение представлены ниже (*т. е.* в примере II). Конкретно, пациенты, которых лечили монотерапией Конструкцией 1, получали 5×10^6 RCV FFU Конструкции 1. Пациентов, которых лечили монотерапией Конструкцией 2, но не Конструкцией 1, еще до момента сбора данных, получали 1×10^6 RCV FFU Конструкции 2.

[00200] Оценивали паттерны содержания цитокинов и хемокинов в сыворотке из 66 образцов крови (12 пациентов с отбором в до 13 временных точек) с помощью 30-плексной панели Meso Scale Discovery (MSD). Наличие сигнатуры IFN- γ в сыворотке после лечения представляет собой ранний признак иммунной активации. Иерархическая кластеризация 30-плексного анализа сыворотки показала, что уровни IFN- γ увеличились у 90% пациентов после однократного введения Конструкции 1 (*см. ФИГ. 6А*). На 4^е сутки после лечения однократной дозой Конструкции 1 уровни IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельного белка (IP)-10 и TNF α увеличились почти у всех 9 пациентов в данном анализе (*см. ФИГ. 6В*).

[00201] Указанные выше изменения уровней иммунностимулирующих цитокинов и хемокинов являются ранним признаком активации клеток-естественных киллеров (NK) и Т-клеток. Кроме того, сбалансированное и физиологическое увеличение системных уровней цитокинов также указывает на вирусиндуцированную иммунную активацию. В то же время, изменения уровней цитокинов, в целом, не ассоциировались с нежелательными явлениями.

[00202] Прямой анализ на IFN- γ ELISpot проводили у пяти пациентов, используя образцы от исходного состояния до дня 15 после введения однократной дозы Конструкции 1 или Конструкции 2, соответственно. Конкретно, криоконсервированные и

размороженные мононуклеарные клетки периферической крови (МНПК) от семи пациентов стимулировали перекрывающимися пептидами Е6/Е7 HPV16 в течение 24 ч ($\pm$ 2 ч) для прямого измерения IFN- γ методом ELISpot *ex vivo*. У пяти из семи пациентов имелось достаточное количество клеток для оценки методом ELISpot на момент отсечения данных. Количество циркулирующих функциональных Е6/Е7-специфических Т-клеток у получавших лечение Конструкцией 1 и Конструкцией 2 пациентов достигало уровней, которые давали возможность их выявлять прямым методом ELISpot *ex vivo* (*m. e.*, без размножения Т-клеток *in vitro*).

[00203] Как показано на ФИГ. 7А, у всех пациентов (n=5) отмечена сильная индукция антигенспецифических ответов Т-клеток на перекрывающиеся пептиды Е6/Е7 HPV16 от исходного состояния до дня 15. Как показано на ФИГ. 7В, до 250-кратное увеличение антигенспецифических, секретирующих IFN- γ Т-клеток от исходного состояния до дня 15 наблюдали у четырех пациентов, получавших одну дозу монотерапии Конструкцией 1 системно (ВВ). Кроме того, 150-кратное увеличение наблюдали у одного пациента после введения однократной дозы монотерапии Конструкцией 2 (ВВ).

[00204] Внутриклеточное окрашивание цитокинов (ICS) проводили у трех пациентов. Конкретно, образцы от трех пациентов оценивали методом ICS на исходном состоянии и на день 15. Кримоконсервированные МНПК от трех пациентов (двух пациентов лечили Конструкцией 1 и одного пациента лечили Конструкцией 2) стимулировали перекрывающимися пептидами Е6/Е7 HPV16 в течение 6 часов, и промывали для последующего иммуноокрашивания. Частоту встречаемости IFN- γ^+ , TNF- α^+ , IL-2 $^+$, CD107a $^+$, CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-клеток определяли методом ICS с последующим анализом многоцветной проточной цитометрией. Три пациента, оцениваемые методом ICS, были среди семи пациентов, клетки которых тестировали методом ELISpot.

[00205] На ФИГ. 7С–7Е показаны графики частоты встречаемости CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-клеток и частоты встречаемости IFN- γ^+ , TNF- α^+ и CD107a $^+$ клеток после разделения в гейтах для CD8 $^+$ Т-клеток в исходном состоянии и на день 15 для трех пациентов. У двух пациентов отмечено увеличение по Т-клеткам, преимущественно CD8 $^+$ Т-клеткам, в пределах общей популяции Т-клеток после одной дозы Конструкции 1 (8,3% против 32,9%; см. ФИГ. 7С) и Конструкции 2 (48,2% против 69,3%; см. ФИГ. 7Е) в исходном состоянии по сравнению с днем 15, соответственно. Среди CD8 $^+$ Т-клеток, Е6/Е7-специфические IFN- γ^+ CD8 $^+$ Т-клетки существенно увеличивали число после следующего

введения однократных доз Конструкции 1 или Конструкции 2. Например, антигенспецифические $\text{IFN-}\gamma^+$ CD8^+ Т-клетки увеличились от 0% на исходном уровне до 2,8% на день 15 после однократной дозы Конструкции 1 (см. **ФИГ. 7С**). После однократной дозы Конструкции 2 антигенспецифические $\text{IFN-}\gamma^+$ CD8^+ Т-клетки увеличились от 0% на исходном уровне до 8,1% на день 15 (см. **ФИГ. 7Е**). Сходным образом, Е6/Е7 специфические CD8^+ Т-клетки обладали более высокой экспрессией CD107a на день 15. С другой стороны, у одного пациента, лечившегося Конструкцией 1, отмечено слабое увеличение числа $\text{TNF-}\alpha^+$ и CD107a^+ , но не отмечено увеличение числа $\text{IFN-}\gamma^+$ или CD8^+ Т-клеток (см. **ФИГ. 7D**).

[00206] Кроме того, для изучения мультифункциональности циркулирующих Е6/Е7-специфических HPV16^+ CD8^+ Т-клеток проводили совместное окрашивание маркера дегрануляции CD107a и/или цитокинов $\text{IFN-}\gamma$ и $\text{TNF-}\alpha$ у трех пациентов, и относительные частоты встречаемости изображены на **ФИГ. 7F**.

[00207] Как проиллюстрировано выше, полученные в первом исследовании у людей с применением аренавирусных векторов данные в первый раз продемонстрировали, что пациент с HPV16^+ раковым заболеванием, которому системно вводили Е7/Е6-экспрессирующую Конструкцию 1 или Конструкцию 2 в виде монотерапии, получали увеличение уровней ключевых системных цитокинов и хемокинов, что является показателем вирусиндуцированной иммунной активации. Дополнительно, у пациентов показана сильная индукция циркулирующих Е6/Е7-специфических HPV16^+ полифункциональных CD8^+ Т-клеток до 8% после первой дозы.

[00208] В совокупности, в примере указывается, что аренавирусные векторы, экспрессирующие Е7/Е6, представляют собой новую потенциальную терапию для пациентов с резистентными к иммунотерапии и/или химиотерапии HPV16^+ раковыми заболеваниями.

ПРИМЕР III

Повышение дозы и расширение когорт приема доз противораковой иммунотерапии на основе аренавирусов у пациентов с HPV16^+ раковыми заболеваниями

[00209] В данном примере описывается первое многонациональное, мультицентровое, открытое исследование I/II фазы у людей монотерапии Конструкцией 1 и чередующейся

2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 у пациентов с HPV 16⁺ подтвержденными раковыми заболеваниями. Данный пример состоит из двух частей: I фаза повышения дозы и II фаза расширения когорт приема доз. Во время расширения когорт приема доз изучали монотерапию Конструкцией 1 и чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1 с пембролизумабом или без него у пациентов с HPV 16⁺ сквамозной карциномой головы и шеи (HNSCC) и другими HPV 16⁺ подтвержденными раковыми заболеваниями.

1. Используемые реагенты и предыдущие эксперименты *in-vivo*

[00210] Конструкция 1 представляет собой генетически сконструированный вектор TheraT® на основе клона 13 штамма LCMV с вирусным поверхностным гликопротеином из штамма WE LCMV (Kallert et al, 2017, Nat Commun. 2017; 8:15327). Векторы Конструкции 1 доставляют неонкогенный синтетический гибридный белок на основе белков E7 и E6 HPV 16 (*т. е.*, гибридный белок E7E6) в трехсегментном, репликационно-компетентном, аттенуированном аренавирусном векторе. Данный синтетический гибридный белок E7E6 прошел, в частности, мутацию по пяти шарнирным положениям (Cassetti et al, 2004, Vaccine. 2004;22(3-4):520-27) для удаления его способности связывания белка ретинобластомы и опухолевого белка p53, таким образом исключая онкогенность исходных белков E7 и E6 белки, при этом сохраняя полную антигенность.

[00211] Конструкция 1 содержит несколько фракций векторных частиц, которые создают иммунный ответ. Для разработки Конструкции 1 конструировали векторы TheraT® для кодирования мутировавшей версии белка E7E6 таким образом, чтобы один малый (Small) сегмент (S-сегмент) нес поверхностный гликопротеин вируса LCMV из штамма WE LCMV плюс мутировавший гибридный белок E7E6, и второй S-сегмент нес поверхностный нуклеопротеин вируса LCMV плюс вторую идентичную копию мутантного гибридного белка E7E6. Дополнительно, Конструкция 1 содержит большой (Large) сегмент (L-сегмент) клона 13 LCMV. Таким образом, Конструкция 1 содержит три геномные сегменты (*т. е.*, г3LCMV), два S-сегмента и один L-сегмент. Неэффективная упаковку трех геномных сегментов является основой аттенуации Конструкции 1 по сравнению с LCMV дикого типа.

[00212] Неклинические исследования продемонстрировали эффективность Конструкции 1 при контроле опухолевого роста пальпируемых опухолей HPV 16⁺ в

модели на мышах ТС-1. Доза Конструкции 1 сильно коррелировала с иммуногенностью, как описано на **ФИГ. 14А**, и более высокие дозы Конструкции 1 также привели в улучшении контроля опухолевого роста в опухолевой модели на мышах ТС-1, как описано на **ФИГ. 14В**. Конкретно, дозы Конструкции 1, содержащие всего лишь 100 RCV FFU, существенно супрессировали опухолевый рост. Дозирование наибольшими тремя дозами Конструкции 1, в диапазоне от 10 000 до 1 000 000 RCV FFU на дозу, приводило к почти полной супрессии опухолевого роста и значительной пользе в отношении времени выживаемости и общей выживаемости (OS). Эти данные позволяют предположить, что максимальная эффективная доза была достигнута при самой низкой из этих трех доз (10 000 RCV FFU). В этой модели все дозы Конструкции 1 переносились хорошо. В дополнительном неклиническом исследовании Конструкцию 1 вводили животным либо ВВ, либо ВО, когда опухоли достигали приблизительно 100 мм³. В обоих случаях, как описано на **ФИГ. 14С**, однократные дозы Конструкции 1 приводили к значительной супрессии опухолевого роста у всех получавших лечение мышей, и ВО введения приводили к приблизительно 40% долговременной выживаемости. Эти неклинические данные указывают, что Конструкция 1 является высокоэффективной при введении в виде местного лечения HPV 16⁺ опухолей (ВО введение в опухоли ТС-1), что подтверждает правильность введения Конструкции 1 прямым ВО введением как части общей клинической программы развития. Более того, когда этим выжившим при длительном наблюдении животным повторно инокулировали ту же опухоль через 6 месяцев, не обнаруживалось никакого нового опухолевого роста. Эта защита была очевидна у мышей, которые получили только однократную дозу Конструкции 1 для лечения первичной опухоли. Эти результаты свидетельствуют о возможности дальнейшего исследования Конструкции 1 у людей для лечения первичных опухолей, метастатических опухолей и рецидивирующих опухолей.

[00213] Конструкции 2 представляет собой генетически сконструированный, аттенуированный репликационно-компетентный трехсегментный вектор PICV на основе варианта P18 PICV. Конструкция 2 доставляет такие же неонкогенные антигены E7E6 HPV 16, что и Конструкция 1.

[00214] Вектор Конструкции 2 был сконструирован с использованием того же принципа трех сегментов, что и вектор Конструкции 1, путем сегрегации основных поверхностных гликопротеина и нуклеопротеина вируса PICV из исходного одного геномного сегмента на два искусственно дублированных геномных S-сегмента. В результате вектор

Конструкции 2 содержит три геномных сегмента (*m.e. r3PICV*), включая S-сегмент, несущий поверхностный гликопротеин вируса PICV плюс мутировавший гибридный белок E7E6, и второй S-сегмент несет поверхностный нуклеопротеин вируса PICV плюс вторую идентичную копию мутантного гибридного белка E7E6 и L-сегмент варианта P18 PICV. Как и в Конструкции 1, генетическая структура этих S-сегментов в Конструкции 2 полностью предотвращает межсегментную рекомбинацию и реверсию к функциональному единственному S-сегменту дикого типа, кодирующему как гликопротеин, так и нуклеопротеин PICV.

[00215] В текущем примере Конструкцию 2 вводят вместе с Конструкцией 1 в соответствии со стратегией последовательного чередующегося ВВ введения, при которой Конструкция 2 вводится ВВ в качестве примиряющей дозы, следующей дозой является бустерная доза Конструкции 1 ВВ, а последующие введения чередуются последовательно между Конструкцией 2 и Конструкцией 1. Этот план лечения обозначен как «чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1». Неклинические исследования с использованием пальпируемых опухолей HPV 16⁺ в модели TC1 продемонстрировали, что режим лечения чередующимися Конструкцией 2 / Конструкцией 1 приводил к супрессии опухолевого роста и пролонгировал общую выживаемость (OS), что превосходит любой из векторов, применявшихся отдельно (гомологичные Конструкция 1 + Конструкция 1 и Конструкция 2 + Конструкция 2) или примирование Конструкцией 1, затем бустер Конструкцией 2. Кроме того, чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1 индуцировала самые сильные HPV 16 E7-специфические CD8 Т-клеточные ответы (иммуногенность) среди всех возможных протестированных комбинированных режимов. Как описано на **ФИГ. 14D**, среди всех рационально разработанных режимов дозирования Конструкции 1 и Конструкции 2 доказано, что последовательное ВВ введение Конструкции 2 с последующим введением Конструкции 1 (примирование 10⁵ RCV FFU Конструкции 2 и бустер 10⁵ RCV FFU Конструкции 1, режим обозначен как чередующееся 2-векторное введение Конструкции 2 / Конструкции 1) являлся наиболее иммуногенным режимом, который запускал существенно более сильный HPV 16, E7-специфический ответ CD8 Т-клеток по сравнению с ответами, индуцированными другой последовательностью комбинаций или режимами с одним вектором. Конкретно, в группе, получавшей чередующийся 2-векторный режим Конструкцией 2 / Конструкцией 1 (G4), частоты встречаемости HPV E7-специфических клеток достигали ~43% от общего количества CD8 Т-клеток через 5 дней

после бустерного введения Конструкции 1. Кроме того, превосходящее иммунологическое действие чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 было устойчивым в течение всего периода наблюдения (см. **ФИГ. 14D**). В дополнительных исследованиях эффективности с использованием опухолевой модели HPV 16⁺ ТС 1, как описано на **ФИГ. 14E**, чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1 с ВВ введением каждого из векторов в дозе 10⁵ RCV FFU (G4) также оказывало превосходящую способность супрессии опухолей по сравнению с гомологичными режимами примирования-бустера с использованием любой из Конструкции 1 или Конструкции 2 отдельно (G1 и G2). В совокупности эти результаты дают основания для дальнейшего клинического тестирования чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 у пациентов с раковым заболеванием, вызванным HPV 16⁺.

[00216] Дополнительно, в данном примере используют пембролизумаб (KEYTRUDA[®]). Пембролизумаб недавно был одобрен FDA и Европейской комиссией для лечения первой линии пациентов с метастатической или неоперабельной рецидивирующей HNSCC в монотерапии (для пациентов с PD-L1 положительными опухолями [CPS $\geq$ 1]) или в комбинации с химиотерапией.

2. План эксперимента

[00217] В группы ВВ лечения включают пациентов с HPV 16⁺ HNSCC (сквамозная карцинома головы и шеи). Пациентов с HPV 16⁺ HNSCC и другими подтвержденными HPV 16⁺ раковыми заболеваниями включают в группу ВО ВВ. См. **ФИГ. 15** для получения схемы плана исследования.

[00218] Повышения дозы на I фазе проводят в двух режимах лечения: монотерапией Конструкцией 1 и чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Монотерапию Конструкцией 1 предоставляют 3 различным группам (1, 2 и 5, см. **ниже таблицу 2**). В группах 1, 2 и 5 проводят исследование для определения безопасной рекомендованной дозы на II фазе (RP2D) Конструкции 1 для внутривенного (ВВ) и внутритропухового (ВО) лечения. В группе 5 изучают Конструкцию 1 в виде ВВ введения, предоставляемого в виде 3 доз. Чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1 предоставляют 3 различным группам (3, 4 и 6). В группах 3, 4 и 6 проводят исследование для определения безопасной (RP2D) Конструкции

2 для ВВ введения. В группе 6 изучают введение 3 доз чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2/ Конструкцией 1, таким образом что пациент получает вводимую первой Конструкцию 2 с последующей Конструкцией 1 чередующимся способом до тех пор пока каждый пациент получит 3 дозы каждой Конструкции 2 и Конструкции 1, всего 6 доз.

[00219] Расширение когорт приема доз на II фазе проводят на до шести группах лечения, как показано ниже в **таблице 2**. На основании данных о безопасности, эффективности и/или биомаркерах, полученных по результатам увеличения дозы, соответственно открываются конкретные группы лечения с расширением когорт приема доз. Исследование II фазы с расширением когорт приема доз на группах А и В начинается с I фазы увеличения дозы на группе 1. Исследование II фазы с расширением когорт приема доз на группах D и E начинается после завершения I фазы увеличения дозы на группе 3. Исследование II фазы с расширением когорт приема доз на группе С начинается после завершения I фазы увеличения дозы на группе 2. Исследование II фазы с расширением когорт приема доз на группе F начинается после завершения I фазы увеличения дозы на группе 4.

[00220] Для I фазы изучения увеличения дозы в группы 1, 2, 3 и 4 включают приблизительно 20 пациентов в каждую группу; в каждую группу 5 и 6 включают приблизительно от 3 до 6 пациентов. Фактическое количество пациентов, включенных в каждую группу, зависит от того, когда будут достигнуты показатели RP2D. Дополнительные пациенты могут добавлять в каждую группу после того, как будет определен безопасный уровень дозы, чтобы обеспечить получение достаточного количества данных о биомаркерах. Для II фазы расширения когорт приема доз в каждую группу из групп А, В, С, D, E и F включают приблизительно 20 пациентов. Всего в данное исследование включают приблизительно 200 пациентов, из них приблизительно 100 в I фазу и приблизительно от 60 до 100 во II фазу.

Таблица 2. Обзор групп лечения I и II фаз

	I фаза повышения дозы						II фаза расширения когорты приема доз					
Группы	1 ^a	2 ^b	3 ^c	4 ^d	5 ^a	6 ^c	A ^a	B ^e	C ^b	D ^c	E ^f	F ^d
Монотерапия конструкцией 1	ВВ	ВО-ВВ	-	-	-	-	ВВ	ВВ	ВО-ВВ	-	-	-
Чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1	-	-	ВВ-ВВ	ВО-ВВ	-	-	-	-	-	ВВ-ВВ	ВВ-ВВ	ВО-ВВ
Конструкция 1 3-дозное лечение	-	-	-	-	ВВ	-	-	-	-	-	-	-
3-дозное лечение Конструкцией 2 / Конструкцией 1	-	-	-	-	-	ВВ-ВВ	-	-	-	-	-	-
Пембролизумаб	-	-	-	-	-	-	-	ВВ	-	-	ВВ	-

ВО = внутрь опухоли, ВВ= внутривенно).

^a Конструкция 1 в виде ВВ введения.

^b Конструкция 1 в виде ВО введения для первой дозы, а затем Конструкция 1 в виде ВВ введения в последующих дозах.

^c Последовательное ВВ введение Конструкции 2 и Конструкции 1.

^d Первая доза вводится с ВО введением Конструкции 1, а затем последовательные чередующиеся ВВ введения Конструкции 2 и Конструкции 1.

^e Конструкция 1 в виде ВВ введения в комбинации с пембролизумабом.

^f Последовательные чередующиеся введения Конструкции 2 ВВ и Конструкции 1 ВВ, а также пембролизумаба.

[00221] Для групп 2, 4, С и F, в которых первая доза вводится с ВО введением Конструкции 1, если ВО введение не предполагается для введения, то затем первую дозу для данного уровня дозы предоставляют ВВ. В этом случае данная группа для предоставляемого уровня дозы ограничена HPV 16⁺ раковыми заболеваниями, не

являющимися HNSCC.

2.1 I фаза повышения дозы

[00222] I фаза повышение дозы представляет собой фазу изучения безопасности и переносимости; в которой отсутствует первичный критерий оценки эффективности. Отслеживается частота возникновения дозопримирующей токсичности (DLT) от первого препарата исследования, введенного в течение периода наблюдения при DLT. Фиксируют параметры безопасности (*например*, типы, частоту возникновения и тяжесть НЯ и СНЯ). Фиксируют также параметры переносимости (*например*, прерывания, снижения и изменения интенсивности дозирования, и оценки лабораторных показателей). Вторичными критериями оценки эффективности для I фазы являются частота объективных ответов (ORR) и частота контроля заболевания (DCR) по критериям оценки ответа солидных опухолей (RECIST) и критериям оценки иммунного ответа солидных опухолей (iRECIST). Представлены данные ORR и DCR. Перечислены критерии оценки эффективности (продолжительность ответа, выживаемость без прогрессирования [PFS] и общая выживаемость [OS]). В качестве экспериментальных показателей тестируют E7- и E6-антигенспецифический ответ Т-клеток, измерения количества CD4 и CD8 Т-клеток, изменения количественных показателей на основе SUV при ПЭТ-сканировании по CD8-трассеру в исходном состоянии и после лечения, а также биомаркеры в образцах опухолей, крови и сыворотке/плазме. Распределяют шесть групп пациентов и лечат их следующим образом.

[00223] Группа 1 (Конструкция 1 только ВВ): Конструкция 1 в виде продолжительного ВВ введения пациентам с HPV 16⁺ HNSCC.

[00224] Группа 2 (Конструкция 1 ВО-ВВ): Конструкция 1 в виде ВВ введения в виде первой дозы с последующим продолжительным введением Конструкции 1 в виде ВВ введения для последующих доз у пациентов с HPV 16⁺ раковыми заболеваниями с безопасным и доступным опухолевым участком, пригодным для ВВ введения.

[00225] Группа 3 (Конструкция 1 ВВ и Конструкция 2 ВВ): Конструкция 2 в виде ВВ введения (начальное), а затем Конструкция 1 ВВ, чередующееся лечение на продолжительной основе у пациентов с HPV 16⁺ HNSCC.

[00226] Группа 4 (Конструкция 1 ВО, а затем Конструкция 2 ВВ и Конструкция 1 ВВ):

Конструкция 1 в виде ВВ введения для первой дозы. Лечение продолжается Конструкцией 2 ВВ, а затем Конструкцией 1 ВВ, чередующееся лечение на продолжительной основе у пациентов с HPV 16⁺ раковыми заболеваниями с безопасным и доступным опухолевым участком, пригодным для ВВ введения. Требуется только один опухолевый участок для ВО введения.

[00227] Группа 5 (3 дозы Конструкции 1 ВВ): оценка индукции 3 введений в наивысших оцененных дозах сходную иммуногенность к E7/E6, как и непрерывное дозирование. У пациента будет возможность получить еще 3 дозы Конструкции 1 ВВ в случае обнаруженного рентгенологически прогрессирования.

[00228] Группа 6 (3 дозы Конструкции 2 ВВ и Конструкции 1 ВВ, каждой): оценка 3 введений каждой из Конструкции 1 и Конструкции 2, всего 6 введений, с целью тестирования обеспечения ограниченным количеством введений конструкции 1 и 2 терапевтических вакцин достижения уровня циркулирующих Т-клеток, сравнимого с контролем заболевания, и определения длительности эффекта после последней инъекции.

[00229] Пациенты из групп 1, 3, 5 и 6 являются пациентами, которые болеют HPV 16⁺ HNSCC с прогрессированием или рецидивом опухоли при стандартной терапии, включая применение 1 или более системных терапий. Пациенты из групп 2 и 4 являются пациентами, которые болеют HPV 16⁺ раковыми заболеваниями с безопасным и доступным опухолевым участком, пригодным для ВО введения, с отмеченным прогрессированием или рецидивом опухоли при стандартной терапии, включая применение 1 или более системных терапий.

[00230] В ходе I фазы повышения дозы изучают дополняемые когорты для набора дополнительных пациентов, которые будут оцениваться на уровне (-ях) дозы при монотерапии Конструкцией 1 и/или чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1, которая признана безопасной, чтобы лучше оценить безопасность и потенциальную эффективность.

[00231] Отдельным дополняемым когортам требуются «свежие парные биопсии» с целью изучения эффектов лечения Конструкцией 1 и/или 2 на молекулярную сигнализацию и ответы опухолевых клеток, выявление биомаркеров, которые могут прогнозировать эффективность и ответ. Дополнительно, опухолевые материалы применяют для количественного определения уровней инфильтрованных в опухоли

лимфоцитов путем иммуногистохимического окрашивания. Данный анализ обеспечивает оценку инфильтрации в опухоли иммунных клеток и, в частности, CD8⁺ Т-клеток в опухоли.

[00232] Схема получения дополняемых когорт представлена на **ФИГ. 16**. В дополняемых когортах сохраняется такой же номер как и для когорты изучения дозы монотерапии Конструкцией 1, и их дополнительно идентифицируют добавлением строчной буквы для каждой дополняемой когорты. В качестве примера, после монотерапии дозами Конструкции 1 в когорте 1 изучаемая Конструкция 1 на дозовом уровне 1 определена безопасной, дополняемые когорты названы когортами 1a, 1b, 1c, 1d и 1e.

В дополняемых когортах могут изучать лечение Конструкцией 1 и/или Конструкцией 2:

- при различных схемах введения,
- для изучения лечения комбинацией пембролизумаба с Конструкции 1 и/или Конструкции 2,
- для включения пациентов с HPV 16+ раком анального канала для введения Конструкции 1 и/или Конструкции 2 только ВВ, и/или

для отбора биологических образцов в дополнительные моменты времени для централизованного анализа выделения вирусов, субпопуляций лимфоцитов (TruCount), сывороточных биомаркеров и иммуногенности.

2.1.1 Дополнительный анализ биомаркеров

[00233] В дополняемую когарту -k добавляют дополнительные моменты времени для сбора данных о выделении вирусов, субпопуляциях лимфоцитов (TruCount), сывороточных биомаркерах и иммуногенности, чтобы обеспечить дополнительные данные о трансляции и биомаркерах касательно монотерапии Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 при схеме дозирования каждые 3 недели, каждые 6 недель.

2.1.2 Изучение альтернативной схемы дозирования касательно исследуемого лечения Конструкцией 1 и/или 2

[00234] Частота дозирования с использованием ранее рекомендованной безопасной дозы увеличивается. Например, в дополняемых когортах -b и -d изучают монотерапию Конструкцией 1 при схеме введения каждые 2 недели (2 раза в неделю). В дополняемых когортах -с и -е изучали монотерапию Конструкцией 1 и/или чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1 при схеме дозирования каждые 4 недели от цикла 1 до 4, и каждые 8 недель, начиная с цикла 5. Эта схема известна как «каждые 4 недели, каждые 8 недель». В случае применения схемы дозирования «каждые 2 недели» или «каждые 4 недели, каждые 8 недель» в дополняющих когортах оценивают DLT с использованием того же процесса, что и в когортах повышения дозы. Определение характеристик безопасности, переносимости, противоопухолевой активности и иммуногенности исследуемого лечения Конструкцией 1 и/или 2 оценивается при изучении альтернативной схемы дозирования.

2.1.3 Пациенты на лечении пембролизумабом, для которых добавляется исследуемое лечение Конструкцией 1 и/или 2 при прогрессировании

[00235] В части I фазе исследования в отдельные дополняющие когорты включают пациентов, находящихся на лечении монотерапией пембролизумабом, у которых впоследствии произошло прогрессирование заболевания, для продолжения лечения пембролизумабом и добавления либо монотерапии Конструкцией 1, либо чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Основанием для разрешения пациентам продолжать монотерапию пембролизумабом после прогрессирования заболевания и добавления лечение Конструкцией 1 и/или 2 является изучение гипотезы о том, что после прогрессирования заболевания у пациентов, получающих пембролизумаб, пациенты с резистентностью или рефрактерностью могут снова начать отвечать на лечение, если пембролизумаб будет вводиться в комбинации с другим лечением.

[00236] На дополняющих когортах -f и -h разрешено пациентам, находящимся на лечении пембролизумабом, у которых впоследствии произошло прогрессирование заболевания, продолжать лечение пембролизумабом, и добавляется монотерапия Конструкцией 1 или чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1, идущие по схеме «каждые 3 недели, каждые 6 недель». Сходным образом, на дополняющих когортах -g и -i разрешено пациентам, находящимся на лечении пембролизумабом, у которых впоследствии произошло прогрессирование заболевания, продолжать лечение пембролизумабом, и добавляется монотерапия Конструкцией 1 или

чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1, идущие по схеме «каждые 4 недели, каждые 8 недель».

[00237] Прогрессирование заболевания у пациентов во время монотерапии пембролизумабом должно характеризоваться, соответственно, как рефрактерное заболевание или резистентность к пембролизумабу. Определения рефрактерного и резистентного заболевания следующие: пациенты с рефрактерным заболеванием (первичной резистентностью) определяются как имеющие прогрессирование в течение < 6 месяцев после первой дозы монотерапии пембролизумабом по критериям оценки ответа солидных опухолей (RECIST) версии 1.1 (v1.1). Пациент, у которого наблюдается стабильное заболевание (SD), а затем в течение < 6 месяцев после введения первой дозы пембролизумаба он отвечает критериям прогрессирования болезни, должен рассматриваться как пациент с рефрактерной болезнью. Пациенты с резистентностью к пембролизумабу (вторичная резистентность) определяются как имеющие прогрессирование через ≥ 6 месяцев после первой дозы монотерапии пембролизумабом. Исключение: пациентов с прогрессированием заболевания после прекращения лечения вследствие нежелательных явлений (НЯ), которые не получали пембролизумаб по меньшей мере 6 месяцев и не имели подтверждений первоначальной клинической пользы, лучше всего классифицировать как пациентов с первичной резистентностью.

2.1.4 Пациенты с HPV 16⁺ раком анального канала, получающие только ВВ введение

[00238] В дополняемую когорту -j включают пять пациентов с HPV 16⁺ раком анального канала, получающие только ВВ для оценки эффективности либо монотерапии Конструкцией 1, либо чередуемой 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 при схеме дозирования каждые 3 недели, каждые 6 недель. Для допустимости к участию в этой дополняемой когорте (-ах) пациенты должны соответствовать необходимым критериям включения и исключения.

2.2 II фаза расширения когорт приема доз

[00239] В исследование II фазы расширения когорт приема доз оценивают терапию монотерапией Конструкцией 1 и/или чередуемой 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1 при дозе RP2D, которая была определена на I фазе повышения дозы.

[00240] Пациенты, включенные в группы A, B, D и E являются пациентами с HPV 16⁺ HNSCC с прогрессированием или рецидивом опухоли при стандартной терапии, включая применение 1 или более системных терапий. Пациенты, включенные в группы C и F являются пациентами с HPV 16⁺ раковыми заболеваниями с безопасным и доступным опухолевым участком, пригодным для ВО введения, с отмеченным прогрессированием или рецидивом опухоли при стандартной терапии, включая применение 1 или более системных терапий.

[00241] Первичные критерии оценки эффективности в группах II фазы расширения когорт приема доз являются ORR и частота контроля заболевания на основе RECIST и iRECIST. Критерии ORR согласно RECIST обобщены с использованием оценок по моменту времени вместе с точными двусторонними 95% ДИ согласно методу Клоппера-Пирсона. Вторичными критериями оценки эффективности для II фазы являются продолжительность ответа, PFS и OS. Фиксируют параметры безопасности (*например*, типы, частоту возникновения и тяжесть НЯ и СНЯ). Фиксируют также параметры переносимости (*например*, прерывания, снижения и изменения интенсивности дозирования, и оценки лабораторных показателей). Процентное изменение размера опухоли целевого поражения по сравнению с исходным состоянием суммируется с помощью описательной статистики и представляется в каждый момент времени. Лучшие процентные изменения размера опухоли также суммируются. Размер опухоли также представлен графически с использованием каскадных графиков. Два пациента в группе лечения с объективными ответами рассматриваются как подтверждающий фактор для дальнейшей разработки. В качестве экспериментальных показателей тестируют E7- и E6-антигенспецифический ответ Т-клеток, измерения количества CD4 и CD8 Т-клеток и биомаркеры в образцах опухолей, крови и сыворотке/плазме.

3. Популяция пациентов

[00242] Данный пример выполняется у взрослых пациентов с: HPV 16⁺ HNSCC и HPV 16⁺ раковым заболеванием любого происхождения (*например*, раком шейки матки, анального канала, влагалища, вульвы или полового члена). В данное исследование могут включать только пациентов, соответствующих всем критериям включения и ни одному из критериев исключения. Указанные ниже критерии применяются как к I фазе повышения дозы и II фазе расширения когорт приема доз.

3.1 Критерии включения

[00243] Участники могут допускаться для включения в данное исследование, только если они соответствуют всем следующим критериям:

1. Пациенты мужчины или женщины возрастом 18 лет или старше на момент подписания формы информированного согласия (ФИС);
2. Пациент должен иметь ≥ 1 измеримого поражения по данным компьютерной томографии (КТ) и/или магнитно-резонансной томографии (МРТ), который оценивается по ответу опухоли согласно RECIST и iRECIST во время проведения исследования.
3. Показатель общего состояния в соответствии с Восточной кооперативной онкологической группой (ECOG) от 0 до 1
4. Предыдущая лечебная лучевая терапия должна быть завершена за ≥ 4 недели до начала введения исследуемого лекарства. Предшествующая фокальная паллиативная лучевая терапия должна быть завершена за ≥ 2 недели до начала введения исследуемого лекарства.
5. Показатели скрининговых лабораторных исследований должны соответствовать следующим критериям и должны быть получены в течение 28 дней до начала введения исследуемого лекарства:
 - Абсолютное количество нейтрофилов $\geq 1500/\text{мм}^3$ ($1,5 \times 10^9/\text{л}$).
 - Тромбоциты $\geq 100 \times 10^3/\text{мм}^3$ ($100 \times 10^9/\text{л}$).
 - Гемоглобин ≥ 9 г/дл.
 - Сывороточный креатинин $\leq 2,0 \times$ верхний предел нормы (ULN) или клиренс креатинина > 30 мл/мин (по формуле Кокрофта-Голта).
 - Аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза $\leq 2,5 \times \text{ULN}$ или $\leq 5 \times \text{ULN}$ для субъектов с метастазами в печень.
 - Общий билирубин $\leq 1,5 \times \text{ULN}$. Прямой билирубин $\leq \text{ULN}$ для субъектов с уровнями общего билирубина $> 1,5 \times \text{ULN}$.
 - Международное нормализованное отношение (МНО) или протромбиновое время (ПВ) $\leq 1,5 \times \text{ULN}$, если субъект не получает антикоагулянтную терапию, пока ПВ или частичное тромбопластиновое время (ЧТВ) находится в терапевтическом диапазоне предполагаемого использования антикоагулянтов.
 - Активированное частичное тромбопластиновое время (аЧТВ) или частичное

тромбопластиновое время (ЧТВ) $\leq 1,5 \times \text{ULN}$, если субъект не получает антикоагулянтную терапию, пока ПВ или ЧТВ находится в терапевтическом диапазоне предполагаемого использования антикоагулянтов.

6. Способность понимать и желание соблюдать процедуры исследования, ограничения и требования, по мнению исследователя.
7. Готовность и способность дать письменное информированное согласие для участия в данном исследовании.

[00244] Для пациентов, включенных в группу 1, группу 3, группу 5, группу 6, группу А или группу D лечения

8. Пациент должен иметь документальное подтверждение HPV 16⁺ HNSCC с помощью тестирования генотипа.
9. Пациент должен иметь прогрессирование или рецидив опухоли, находясь на стандартной терапии, включая ≥ 1 системной терапии (*например*, неудачная терапия на основе платины и/или анти-PD-1/анти-PD-L1 терапия), или быть пациентом, которому стандартная терапия противопоказана.
10. Наличие опухолевой ткани (архивная [не старше 2 лет] или способность предоставить свежий образец биопсии во время скрининга), собранные после прогрессирования заболевания у пациента после последнего лечения, если спонсор и исследователь не договорились об ином.

[00245] Для пациентов, включенных в дополняемые когорты для добавления лечения Конструкцией 1 и/или 2 к их длительной терапии пембролизумабом (применительно к дополняемым когортам -f, -g, -h и -i) в группах лечения 1, 2, 3 или 4 на I фазе.

11. Пациент должен иметь документальное подтверждение HPV 16⁺ HNSCC с помощью тестирования генотипа.
12. Пациент должен иметь прогрессирование или рецидив опухоли, находясь на стандартной терапии, включая ≥ 1 системной терапии (*например*, неудачная терапия на основе платины и/или анти-PD-1/анти-PD-L1 терапия), или быть пациентом, которому стандартная терапия противопоказана.
13. Наличие опухолевой ткани (архивная [не старше 2 лет] или способность предоставить свежий образец биопсии во время скрининга), собранные после прогрессирования заболевания у пациента после последнего лечения, если спонсор и исследователь не

договорились об ином.

14. Пациенты должны получать длительное лечение монотерапией пембролизумабом до включения в исследование и иметь признаки прогрессирования после первоначального ответа.

Должны выполняться следующие критерии.

Пациенты должны:

- Получить не менее 2 циклов монотерапии пембролизумабом по схеме «каждые 3 недели» или эквивалентной для более длительной схемы (например, 1 цикл при схеме «каждые 6 недель»)
- Показать наилучший ответ в виде либо опухолевого ответа (полный ответ [CR], либо частичного ответа [PR]) или длительного SD продолжительностью 6 месяцев или более согласно RECIST v1.1 во время монотерапии пембролизумабом
- Затем получить прогрессирование на фоне монотерапии пембролизумабом согласно iRECIST (прогрессирование подтверждено вторым сканированием по меньшей мере через 4 недели после первоначального прогрессирования по RECIST v1.1, если это приемлемо с клинической точки зрения).

Примечание: пациенты НЕ должны прекращать монотерапию пембролизумабом до начала данного исследования.

[00246] Для пациентов, включенных в дополняемую когорту I фазы -j (HPV 16⁺ рак анального канала)

Пациенты должны иметь:

15. Гистологически или цитологически подтвержденную местнораспространенную или метастатическую плоскоклеточную карциному анального канала.

Примечание: допускаются ВИЧ-положительные пациенты, не соответствующие критериям синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). Примечание: допускаются пациенты, которые могли получить профилактическую вакцину против HPV более чем за 90 дней до включения в исследование.

16. Документированную опухоль HPV 16⁺ по данным иммуногистохимического анализа. Образец для тестирования на HPV 16⁺ должен быть представлен до включения на проведения тестирования генотипа.

17. Прогрессирование или рецидив опухоли на фоне стандартного лечения, включая ≥ 1

системной терапии, например химиотерапии на основе платины, или непригодность к стандартному лечению.

18. Безопасный и доступный опухолевый участок, пригодный для биопсии и введения ВО, если не согласовано иное между спонсором и исследователем:

Примечание: опухолевая ткань может быть получена с помощью биопсии под визуальным наведением, например как при интервенционной рентгенологии, в соответствии с собственными рекомендациями и требованиями учреждения к таким процедурам.

19. ≥ 1 измеримого поражения, которое оценивается по ответу опухоли согласно RECIST и iRECIST во время проведения исследования, не считая опухолевого (-ых) участка (участков), доступных для биопсии.

[00247] Для пациентов, включенных в группу 2, группу 4, группу С или группу F лечения (первая доза является Конструкцией 1 в виде внутриопухолевого введения)

20. Документальное подтверждение HPV 16⁺ ракового заболевания (любого происхождения) с помощью тестирования генотипа.

21. Пациенты, у которых имеется прогрессирование или рецидив опухоли, находясь на стандартной терапии, включая ≥ 1 системной терапии, или пациенты, для которых стандартная терапия противопоказана.

22. У пациента должен быть безопасный и доступный опухолевый участок, пригодный для биопсии и введения ВО, если не согласовано иное между спонсором и исследователем:

- Опухолевая ткань может быть получена с помощью биопсии под визуальным наведением, например как при интервенционной рентгенологии, в соответствии с собственными рекомендациями и требованиями учреждения к таким процедурам.
- Затем в опухолевый участок ВО вводят Конструкцию 1.

23. Не считая опухолевого (-ых) участка (участков), доступного (-ых) для биопсии и ВО введения, у пациента должно быть ≥ 1 измеримого поражения, которое (-ые) оценивается (оцениваются) по ответу опухоли согласно RECIST и iRECIST во время проведения исследования.

[00248] Для пациентов, включенных в группу 2, группу 4, группу С или группу F лечения (если внутриопухолевое введение дается вместо ВВ введения)

24. Документальное подтверждение HPV 16⁺ ракового заболевания, не являющегося HNSCC, с помощью тестирования генотипа.
25. Пациенты, у которых имеется прогрессирование или рецидив опухоли, находясь на стандартной терапии, включая ≥ 1 системной терапии, или пациенты, для которых стандартная терапия противопоказана.
26. Наличие опухолевой ткани (архивная [не старше 2 лет] или способность предоставить свежий образец биопсии во время скрининга), собранные после прогрессирования заболевания у пациента после последнего лечения, если спонсор и исследователь не договорились об ином.

[00249] Для пациентов, включенных во группу В или группу Е лечения II фазы

27. Документальное подтверждение HPV 16⁺ HNSCC с помощью тестирования генотипа.
28. Пациент должен быть допущен к получению пембролизумаба (т. е. не подвергаться ранее анти-PD-1/анти-PD-L1 терапии и иметь прогрессирование, находясь на терапии на основе платины), согласно вкладышу в упаковку или краткому описанию характеристик препарата (SmPC).
29. Наличие опухолевой ткани (архивная [не старше 2 лет] или способность предоставить свежий образец биопсии во время скрининга), собранные после прогрессирования заболевания у пациента после последнего лечения, если спонсор и исследователь не договорились об ином.

3.2 Критерии исключения

[00250] Пациенты исключаются из участия в данном исследовании, если они соответствуют любому из следующих критериев или имеют любой из признаков:

[00251] Все пациенты

1. Пациенты с нелеченным и/или симптоматическим метастатическим заболеванием центральной нервной системы (ЦНС) и/или карциноматозным менингитом.

Исключение: пациенты с метастазами в головной мозг/ЦНС допускаются, если

- они перенесли операцию или лучевую терапию, и их заболевание стабильно (без признаков прогрессирования при визуализации с использованием идентичного метода визуализации для каждой оценки, либо МРТ, либо КТ), и все неврологические симптомы вернулись к исходному уровню, И

- у них нет данных о новых или увеличивающихся метастазах в головной мозг, И
- они принимали стабильную дозу кортикостероидов (≤ 10 мг преднизона или эквивалентного) в течение ≥ 4 недель до первого введения исследуемого лекарства, такие пациенты допускаются.

Примечание: это исключение не включает карциноматозный менингит, который исключается независимо от клинической стабильности.

2. Любое серьезное или неконтролируемое медицинское нарушение, которое может увеличивать риск, связанный с участием в исследовании или введением исследуемого лекарства, ухудшает возможность пациента получать исследуемое лекарство или мешает интерпретации результатов исследования. Нарушение включает клинически значимые (т. е. активные) сердечно-сосудистые заболевания, включая нарушение мозгового кровообращения/инсульт и инфаркт миокарда менее чем за 6 месяцев до включения в исследование, нестабильную стенокардию, застойную сердечную недостаточность (II класс по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца) или серьезные неконтролируемые сердечные аритмии.
3. Сопутствующее злокачественное новообразование, которое является клинически значимым или требует активного вмешательства на момент скрининга (за исключением адекватно леченной базально- или сквамозно-клеточной карциномы, немеланоматозного рака кожи), если иное не согласовано между спонсором и исследователем.
4. Активные, известные или предполагаемые, аутоиммунные или воспалительные заболевания, требующие иммуносупрессивной терапии, за исключением преднизона в низких дозах (≤ 10 мг или эквивалентной). Исключениями из данного критерия являются следующие:
 - Пациенты с витилиго или алопецией.
 - Пациенты с гипотиреозом (например, после синдрома Хашимото), стабильно находящиеся на заместительной гормональной терапии.
 - Любое хроническое заболевание кожи, не требующее системного лечения.
5. Токсичность, связанная с предшествующей системной противораковой терапией, включая облучение и хирургическое вмешательство, за исключением алопеции и утомляемости, которые не разрешились до степени 1 или исходного уровня до

первого введения исследуемого лекарства. Пациенты с токсичностью, связанной с предшествующей системной противораковой терапией, которая, как ожидается, не пройдет и не приведет к длительным последствиям, таким как невропатия или ототоксичность после терапии на основе платины, допускаются к включению в исследование.

6. Лечение любой химиотерапией, биологическим или исследовательским терапевтическим препаратом против рака в течение 28 дней после первого введения исследуемого лекарства, если иное не согласовано между спонсором и исследователем в каждом конкретном случае на основании периода полувыведения противоракового терапевтического лекарственного препарата.

Исключение: Продолжение лечения пембролизумабом допускается, если субъект включается в когорту пополнения, продолжающую лечение пембролизумабом и с добавлением монотерапии Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1.

7. Лечение иммуносупрессивным или заместительным лекарственным средством:
 - Иммуносупрессивные дозы системных лекарственных средств, таких как стероиды или абсорбированные стероиды местного применения (дозы > 10 мг /сутки преднизона или его эквивалента) в течение 14 дней до первого введения исследуемого лекарства.
Примечание: ингаляционные или местные стероиды и заместительные адренокортикостероиды в дозах, эквивалентных > 10 мг/сутки преднизона, разрешены при отсутствии активного аутоиммунного заболевания.
 - Любой длительный прием иммуносупрессивного препарата в течение 6 месяцев до первого введения исследуемого лекарства (если иное не согласовано между спонсором и исследователем в каждом конкретном случае).
 - Активное аутоиммунное заболевание, которое требовало системного лечения в течение последних 2 лет (т. е. с использованием модифицирующих болезнь агентов, кортикостероидов или иммуносупрессивных лекарственных средств).
Заместительная терапия (например, тироксин, инсулин или физиологическая кортикостероидная заместительная терапия при недостаточности надпочечников или гипопиза и т. д.) не считается формой системного лечения.
8. Предшествующая анафилактическая или другая тяжелая реакция на введение человеческого иммуноглобулина или лекарственной формы антител.
9. Живые вакцины, полученные в течение 28 дней до первой дозы исследуемого

лекарства, если иное не согласовано между спонсором и исследователем.

10. Растительные препараты с иммуностимулирующими свойствами или известные потенциальным нарушением функции основных органов, принимаемые в течение 28 дней до первой дозы исследуемого лекарства, если иное не согласовано между спонсором и исследователем.
11. Женщины, которые беременны, кормят грудью или планируют забеременеть во время исследования.
12. Активная инфекция, требующая системной терапии, если иное не согласовано между спонсором и исследователем в каждом конкретном случае.
13. Положительный тест на поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) или на антитела к вирусу гепатита С (ВГС), указывающий на острую или хроническую инфекцию. Пациенты с положительным тестом на антитела к ВГС, но с отрицательным тестом на рибонуклеиновую кислоту (РНК) ВГС, допускаются к участию в исследовании.
14. Известный анамнез СПИДа. Тестирование на ВИЧ не является обязательным.

Примечание: В исследование включают ВИЧ-положительные пациенты с числом CD4 Т-клеток $> 200/\text{мм}^3$, не больные СПИДом.

15. Другие сопутствующие тяжелые и/или неконтролируемые медицинские состояния, которые, по мнению исследователя, являются противопоказанием для участия в данном исследовании (например, панкреатит, активный гепатит, хроническая обструктивная или рестриктивная болезнь легких, включая одышку в покое или интерстициальное заболевание легких, надпочечниковая недостаточность, неконтролируемая гипертония).
 16. Психологические, семейные, социологические или географические условия, которые не позволяют осуществлять медицинское наблюдение и соблюдать протокол исследования.
- [00252]** Для пациентов, получающих пембролизумаб в ходе исследования (дополняемые когорты -f, -g, -h и -i для группы 1, группы 2, группы 3, группы 4 из I фазы; все пациенты в группе В или группе Е из II фазы)

17. История тяжелой реакции гиперчувствительности на пембролизумаб.
18. Любое противопоказание к приему пембролизумаба согласно вкладышу к упаковке или SmPC
19. Трансплантация аллогенных тканей/цельных органов.

20. История (неинфекционного) пневмонита, потребовавшего применения стероидов, или текущий пневмонит.

4. Режимы лечения

4.1 Режимы I фазы

[00253] Группа 1 (внутривенное введение Конструкции 1): от цикла 1 до 4, Конструкцию 1 вводят каждые 3 недели. Начиная с цикла 5 цикла и далее, Конструкцию 1 вводят каждые 6 недель. Эта схема называется «каждые 3 недели, каждые 6 недель». Для циклов с 1 по 4, цикл лечения определяется как период в 21 день. Дозы Конструкции 1 для каждого цикла вводят ВВ на день 1 (± 3 дня). Для цикла 5 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Дозы Конструкции 1 для каждого цикла вводят ВВ на день 1 (± 7 дней).

[00254] Группа 2 (однократное внутриопухолевое введение Конструкции 1 с последующим внутривенным введением Конструкции 1): от цикла 1 до 4, Конструкцию 1 вводят каждые 3 недели. Начиная с цикла 5 цикла и далее, Конструкцию 1 вводят каждые 6 недель. Эта схема называется «каждые 3 недели, каждые 6 недель». Для циклов с 1 по 4, цикл лечения определяется как период в 21 день. Лечение начинается с однократного ВО введения Конструкции 1 на день 1 цикла 1. Последующие дозы Конструкции 1 вводятся ВВ на день 1 (± 3 дня) цикла 2 и так далее. Для цикла 5 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Дозы Конструкции 1 для каждого цикла вводят ВВ на день 1 (± 7 дней).

[00255] ВО введение могут осуществлять с помощью процедур под визуальным наведением, таким как интервенционная рентгенология. Методология ВО введения определена по стандарту медицинского учреждения. Если доставка всего объема путем прямого ВО введения технически невозможна, оставшийся объем Конструкции 1 должен доставляться перитуморально и/или местным введением (раздел 5).

[00256] У пациентов выбирается одно поражение для биопсии и ВО введения Конструкции 1. Выбранное поражение не оценивается на опухолевого ответа в соответствии с RECIST и iRECIST (например, поражение можно отслеживать по отдельности на изменение диаметра, но его не следует включать в общую сумму диаметров для оценки RECIST).

[00257] Группа 3 (внутривенное введение Конструкции 1 и Конструкции 2): Для циклов 1 и 2 цикл лечения определяется как период в 42 дня. Пациентам сначала вводят Конструкцию 2, затем Конструкцию 1, чередуя лечение каждые 3 недели (21 день), с промежутком ± 3 дня следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 циклов 1 и 2. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 22 циклов 1 и 2. Для цикла 3 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 84 дня. День 1 цикла 3 начинается после завершения дня 42 цикла 2. Дозы Конструкции 2 и Конструкции 1 вводят последовательно, чередуя каждые 6 недель (42 дня), с промежутком ± 7 дней, следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 цикла 3 и последующих циклов. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 43 цикла 3 и последующих циклов. Эта схема называется «каждые 3 недели, каждые 6 недель».

[00258] Группа 4 (однократное ВО введение Конструкции 1 с последующим чередующимся внутривенным введением Конструкции 2 и Конструкции 1): лечение начинается с первоначального ВО введения Конструкции 1 на день 1 цикла 0. Через 21 день (3 недели) лечение продолжается ВВ введением Конструкции 2 на день 1 цикла 1 и ВВ введением Конструкции 1 на день 22. Для циклов 1 и 2, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Последовательно вводят Конструкцию 2 и Конструкцию 1, чередуя каждые 3 недели (21 день), с промежутком ± 3 дня следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 циклов 1 и 2. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 22 циклов 1 и 2. Для цикла 3 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 84 дня. День 1 цикла 3 начинается после завершения дня 42 цикла 2. Дозы Конструкции 2 и Конструкции 1 вводят последовательно, чередуя каждые 6 недель (42 дня), с промежутком ± 7 дней, следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 цикла 3 и последующих циклов. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 43 цикла 3 и последующих циклов. Эта схема называется «каждые 3 недели, каждые 6 недель». ВО введение сходно введению, описанному выше для группы 2.

[00259] Группа 5 (три дозы внутривенного введения Конструкции 1): группу 5 лечения изучали введением 3 доз монотерапии Конструкцией 1. Пациенты получают ВВ введение Конструкции 1 каждые 3 недели и прекращают после получения третьей дозы. Этот план лечения называется «3 дозы Конструкции 1». Цикл лечения определяется как период в 21 день (3 недели). Дают 3 дозы Конструкции 1 дают с разницей в 3 недели на день 1 (± 3 дня) циклов 1, 2 и 3. Сканирование опухоли для оценки эффективности проводят каждые 42 дня (6 недель), начиная с первой введенной дозы Конструкции 1.

Опухолевый ответ измеряется с помощью RECIST до прогрессирования заболевания. При прогрессировании заболевания согласно RECIST для оценки опухолевого ответа используется iRECIST.

[00260] При подтвержденном рентгенологически прогрессировании, как определено согласно RECIST или iRECIST, и после того, как пациент получил полный 3-дозовый режим, пациент может получать еще 3 дозы Конструкции 1, вводимые с интервалом в 3 недели. Пациенты с прогрессированием заболевания во время 3-дозового режима не допускаются к получению дополнительных 3 доз. Оценка эффективности повторно приводят к исходному уровню согласно RECIST. Сканирование (-я) опухоли продолжается (-ются) каждые 42 дня (6 недель). При прогрессировании заболевания согласно RECIST для оценки опухолевого ответа используется iRECIST. После прогрессирования заболевания в соответствии с iRECIST пациент переходит к визиту EOT исследования и проходит необходимые оценки.

[00261] Группа 6 (три дозы внутривенного введения Конструкции 2 и Конструкции 1): группу 6 лечения изучали введением 3 доз чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Пациенты получают 3 дозы каждой из Конструкции 2 и Конструкции 1, то есть они получают, в общем, 6 доз. Цикл лечения определяется как период в 42 дня. В каждом цикле сначала вводится Конструкция 2, а затем Конструкция 1, с их чередованием. Каждая доза вводится с интервалом в 3 недели с промежутком ± 3 дня следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 циклов 1, 2 и 3. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 22 циклов 1, 2 и 3. Этот план лечения называется «3 дозы Конструкции 1 и Конструкции 2».

[00262] Сканирование опухоли для оценки эффективности проводится каждые 42 дня, начиная с первой введенной дозы Конструкции 2. Опухолевый ответ измеряется с помощью RECIST до прогрессирования заболевания. При подтвержденном рентгенологически прогрессировании, как определено согласно RECIST или iRECIST, и после того, как пациент получил полный 3-дозовый режим, могут давать еще одно лечение «3 дозы Конструкции 2 и Конструкции 1». Пациенты с прогрессированием заболевания во время режима «3 дозы Конструкции 2 и Конструкции 1» не должны допускаться к получению дополнительных 3 доз. Оценка эффективности повторно приводят к исходному уровню согласно RECIST. Сканирование (-я) опухоли продолжается (-ются) каждые 42 дня (6 недель). При прогрессировании заболевания

согласно RECIST для оценки опухолевого ответа используется iRECIST. После прогрессирования заболевания в соответствии с iRECIST пациент переходит к визиту EOT исследования и проходит необходимые оценки.

4.2 Схема лечения исследования II фазы расширения когорт приема доз

[00263] Схема дозирования для II фазы расширения когорт приема доз аналогичным образом выбирается на основе обзора имеющихся данных по безопасности, эффективности и/или биомаркеров, полученных в группах лечения с повышением дозы. Схема дозирования исследуемого лекарства для расширения когорт приема доз может быть одной из следующих:

- Вводимые исследуемые лекарственные Конструкции 1 и/или 2 согласно схемы «каждые 3 недели, каждые 6 недель».
- Исследуемые лекарственные Конструкции 1 и/или 2 вводили каждые 2 недели. Эта схема называется «каждые 2 недели».
- Исследуемые лекарственные Конструкции 1 и/или 2 вводили каждые 4 недель циклов от 1 до 4 и каждые 8 недель, начиная с цикла 5 и дальше. Эта схема называется «каждые 4 недели, каждые 8 недель».
- Трехдозный режим лечения Конструкцией 1 и/или 2 с каждой дозой, вводимой с интервалом в 3 недели. Этот план лечения называется «3 дозы лечения Конструкцией 1 и/или 2».

[00264] Группа А (внутривенное введение Конструкции 1): монотерапия Конструкцией 1 II фазы исследования расширения когорт приема доз в группе А может начинаться после завершения I фазы исследования увеличения дозы в группе 1 (с определением RP2D Конструкции 1 при ВВ введении). Для циклов с 1 по 4, цикл лечения определяется как период в 21 день. Дозы Конструкции 1 каждого цикла вводили ВВ на день 1 (± 3 дня). Для цикла 5 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 42 день. Дозы Конструкции 1 каждого цикла вводили ВВ на день 1 (± 7 дня).

[00265] Группа В (внутривенное введение Конструкции 1 и пембролизумаба): монотерапия Конструкцией 1 и пембролизумабом II фазы исследования расширения когорт приема доз в группе В может начинаться после завершения I фазы исследования

увеличения дозы в группе 1 (с определением RP2D Конструкции 1 при ВВ введении). Пациент получают монотерапию Конструкцией 1 и пембролизумаб. Для циклов с 1 по 4, цикл лечения определяется как период в 21 день. Дозы Конструкции 1 для каждого цикла вводят ВВ только на день 1 (± 3 дня). Для цикла 5 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Конструкцию 1 для каждого цикла вводят ВВ на день 1 (± 7 дней). Пембролизумаб вводят по схеме каждые 3 недели или каждые 6 недель параллельно с визитами во время исследования.

[00266] Группа С (однократное ВО введение Конструкции 1 с последующим внутривенным введением Конструкции 1): монотерапия Конструкцией 1 II фазы исследования расширения когорт приема доз в группе С может начинаться после завершения I фазы исследования увеличения дозы в группе 2 (с определением RP2D Конструкции 1 ВВ и ВО). Для циклов с 1 по 4, цикл лечения определяется как период в 21 день. Лечение начинается с однократного ВО введения Конструкции 1 на день 1 цикла 1. Последующие дозы Конструкции 1 вводятся ВВ на день 1 каждого цикла (± 3 дня). Для цикла 5 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Дозы Конструкции 1 для каждого цикла вводят ВВ на день 1 (± 7 дней).

[00267] ВО введение могут осуществлять с помощью процедур под визуальным наведением, таким как интервенционная рентгенология. Методология ВО введения определена по стандарту медицинского учреждения. В идеале весь объем должен быть предоставлен посредством прямого ВО введения. Если доставка всего объема путем прямого ВО введения технически невозможна, оставшийся объем Конструкции 1 должен доставляться перитуморально и/или местным введением (см. раздел 5).

[00268] У пациентов выбирается одно поражение для биопсии и ВО введения Конструкции 1. Выбранное поражение не оценивается на опухолевого ответа в соответствии с RECIST и iRECIST (например, поражение можно отслеживать по отдельности на изменение диаметра, но его не следует включать в общую сумму диаметров для оценки RECIST). Все остальные поражения не получают Конструкции 1 и не подвергаются биопсии.

[00269] Группа D (последовательные чередующиеся внутривенные введения Конструкции 2 и Конструкции 1): чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 /Конструкцией 1 II фазы исследования расширения когорт приема доз в группе D может

начинаться после завершения I фазы исследования увеличения дозы в группе 3 (с определением RP2D Конструкции 2 при ВВ введении с Конструкцией 1 в последовательной чередующейся схеме). Для циклов 1 и 2, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Лечение начинается с ВВ введения Конструкции 2 на день 1 цикла 1, с последующим чередованием Конструкции 1 каждые 3 недели (21 день), как описано ниже. Введения доз Конструкции 2 и Конструкции 1 имеют промежуток ± 3 дня. Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 циклов 1 и 2. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 22 циклов 1 и 2. Для цикла 3 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 84 дня. День 1 цикла 3 начинается после завершения дня 42 цикла 2. Введения доз Конструкции 2 и Конструкции 1 в цикле 3 и последующих циклах имеют промежуток ± 7 дней. Дозы Конструкции 2 и Конструкции 1 чередуются каждые 6 недель (42 дня) следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 цикла 3 и последующих циклов. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 43 цикла 3 и последующих циклов.

[00270] Группа Е (последовательные чередующиеся внутривенные введения Конструкции 2 и Конструкции 1, и пембролизумаба): чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 /Конструкцией 1 и пембролизумабом II фазы исследования расширения когорт приема доз в группе Е может начинаться после завершения I фазы исследования увеличения дозы в группе 3 (с определением RP2D Конструкции 2 при ВВ введении с Конструкцией 1 в последовательной чередующейся схеме). Для циклов с 1 по 2, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Лечение начинается с ВВ введения Конструкции 2 на день 1 цикла 1. Введения доз Конструкции 2 и Конструкции 1 в циклах 1 и 2 имеют промежуток ± 3 дня. Пациентам вводят первые две дозы Конструкции 2 и Конструкции 1, чередующиеся каждые 3 недели (21 день) следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 циклов 1 и 2. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 22 циклов 1 и 2. Для цикла 3 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 84 дня. День 1 цикла 3 начинается после завершения дня 42 цикла 2. Введения доз Конструкции 2 и Конструкции 1 в цикле 3 и последующих циклах имеют промежуток ± 7 дней. Дозы Конструкции 2 и Конструкции 1 чередуются каждые 6 недель (42 дня) следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 цикла 3 и последующих циклов. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 43 цикла 3 и последующих циклов. Пембролизумаб вводят по схеме каждые 3 недели или каждые 6 недель параллельно с визитами во время исследования.

[00271] Группа F (внутриопухолевое введение Конструкции 1 с последующим

последовательными внутривенными введениями Конструкции 2 и Конструкции 1):

[00272] II фаза исследования расширения когорт приема доз в группе F может начинаться после завершения I фазы исследования расширения когорт приема доз в группе 4 (с определением RP2D Конструкции 1 при ВО введении и последующей чередующейся схеме по определению RP2D Конструкции 2 и Конструкции 1 при ВВ введении).

[00273] Лечение начинается с первоначального ВО введения Конструкции 1 на день 1 цикла 0. ВО введение может корректироваться с помощью процедур под визуальным наведением, таких как при интервенционной рентгенологии. Через 21 день лечение продолжается с ВВ введением Конструкции 2 на день 1 цикла 1 и ВВ введением Конструкции 1 на день 22. В идеале весь объем должен быть предоставлен посредством прямого ВО введения. Если доставка всего объема путем прямого ВО введения технически невозможна, оставшийся объем Конструкции 1 должен доставляться перитуморально и/или местным введением (см. раздел 5).

[00274] Для циклов 1 и 2, цикл лечения определяется как период в 42 дня. Введения доз Конструкции 2 и Конструкции 1 в цикле 2 имеют промежуток ± 3 дня. Пациентам вводят Конструкцию 2 и Конструкцию 1, чередующиеся каждые 3 недели (21 день) следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 циклов 1 и 2. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 22 циклов 1 и 2. Для цикла 3 и последующих циклов, цикл лечения определяется как период в 84 дня. День 1 цикла 3 начинается после завершения дня 42 цикла 2. Введения доз Конструкции 2 и Конструкции 1 в цикле 3 и последующих циклах имеют промежуток ± 7 дней. Дозы Конструкции 2 и Конструкции 1 чередуются каждые 6 недель (42 дня) следующим образом: Конструкцию 2 вводят ВВ на день 1 цикла 3 и последующих циклов. Конструкцию 1 вводят ВВ на день 43 цикла 3 и последующих циклов. ВО введение сходно введению, описанному выше для группы С.

4.3 Добавление пембролизумаба при прогрессировании заболевания

[00275] Для пациентов, включенных только в группы лечения 1, 2, 3 или 4 и имеющих впоследствии подтвержденное рентгенологически прогрессирование, как определено согласно iRECIST, пембролизумаб может добавляться к лечению Конструкцией 1 и/или 2. Допуск к получению пембролизумаба должен оцениваться с использованием критериев включения и исключения из исследования, относящихся к когортам пембролизумаба (см.

раздел 3). Дозировка пембролизумаба должна совпадать с визитами на исследование и соответствовать схеме каждые 3 недели или каждые 6 недель в зависимости от назначенной схемы лечения с монотерапией Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1.

[00276] Оценка эффективности повторно базируется на RECIST v1.1, когда пембролизумаб добавляют к монотерапии Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1. При прогрессировании заболевания согласно RECIST для оценки опухолевого ответа используется iRECIST.

5. Введение лекарства

[00277] Общий объем Конструкции 1 для ВО введения зависит от предварительной назначенной дозы Конструкции 1 (см. таблицу 3). Для ВО введения Конструкции 1 выбирают одно поражение и/или участок заболевания. Это должен быть то же самое поражение/участок заболевания, который был выбран для биопсии до и после ВО введения Конструкции 1. В идеале весь объем должен быть предоставлен посредством прямого ВО введения. Если доставка всего объема путем прямого ВО введения технически невозможна, оставшийся объем Конструкции 1 должен доставляться перитуморально и/или местным введением для первичной цели лечения одного конкретного поражения или участка заболевания. Чтобы обеспечить введение всего объема предписанной дозы Конструкции 1, разрешаются следующие виды введения:

- прямое ВО введение (вытекание из опухоли, если оно происходит, является приемлемым);
- перитуморальное введение (если прямая ВО инъекция технически затруднено);
- местное введение в непосредственной близости от опухоли (если ВО и перитуморальное введение технически затруднено).

[00278] Доставка общего объема ВО может происходить посредством одной инъекции или более чем одной инъекции, или посредством одной инъекции и многократного повторного позиционирования иглы без извлечения, или комбинацией подходов.

[00279] Пембролизумаб следует назначать в соответствии с рекомендациями медицинского учреждения или стандартом лечения, например соответствующим KEYTRUDA® SmPC или вкладышу в упаковку.

6. Дозирование

6.1 Уровни изучаемых доз Конструкции 1

[00280] В приведенной ниже **таблице 3** описана начальная доза и уровни доз Конструкции 1, которые могут оцениваться во время I фазы исследования повышения дозы (группы 1 и 2). Для I фазы исследования повышения дозы в группе 1 (Конструкция 1, только ВВ) исходная доза Конструкции 1 начинается с 5×10^5 RCV FFU. Последующую дозу Конструкции 1 увеличивают до следующего последовательного уровня дозы, как указано в **таблице 3**. Для I фазы исследования повышения дозы в группе 2 (Конструкция 1, ВО-ВВ) исходная доза для ВО введения Конструкции 1 начинается с 5×10^5 RCV FFU. Исходная доза для ВО введения также начинается с 5×10^5 RCV FFU. Последующие дозы Конструкции 1 для ВО и ВВ введения являются одинаковыми и увеличиваются до следующего последовательного уровня дозы, как указано в **таблице 3**.

[00281] Для фазы I исследования повышения дозы в группе 5 (3-дозовый режим с Конструкцией 1) доза может начинаться на один порядок выше самого высокого уровня дозы, установленного безопасным в группе 1. Например, в то время, когда в группу 5 набирают пациентов и самая высокая доза Конструкции 1, установленная безопасной в группе 1, составляет 5×10^6 RCV FFU, уровень дозы Конструкции 1 в группе 5, которую могут изучать составляет 5×10^7 RCV FFU. Последующий уровень дозы Конструкции 1 увеличивают до следующего последовательного уровня дозы, как указано в **таблице 3**.

Таблица 3. Предварительное повышение дозы Конструкции 1

Уровень / Когорта	Доза Конструкции 1
-1	5×10^4 RCV FFU
1 (исходная доза)	5×10^5 RCV FFU
2	5×10^6 RCV FFU
3	5×10^7 RCV FFU
4	1×10^8 RCV FFU или 5×10^8 RCV FFU

FFU = бляшкообразующих единиц, RCV = репликационно-компетентный вирус.

6.2 Предварительные уровни доз, изучаемые для чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1

[00282] Предлагаемая начальная доза Конструкции 2 для человека составляет 1×10^6 RCV FFU. Предлагаемая начальная доза Конструкции 1 для человека представляет собой самый высокий уровень дозы, признанный безопасным в группе 1 или группе 2. Если для Конструкции 1 при монотерапии установлен RP2D, то уровень дозы Конструкции 1 при чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 остается на этом уровне RP2D, при этом изучают предварительные уровни Конструкции 2. В таблице 4 описана начальная доза для чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 и уровни доз, которые могут оцениваться во время I фазы исследования повышения дозы (группы 3 и 4).

[00283] Для фазы I исследования повышения дозы в группе 6 (3 дозы ВВ Конструкции 2 и Конструкции 1) доза Конструкции 2 и Конструкции 1 может начинаться на один порядок выше самого высокого уровня дозы, установленного безопасным в группе 3. Например, в то время, когда в группу 6 набирают пациентов и самая высокая доза чередующегося 2-векторного лечения Конструкцией 2 и Конструкцией 1, установленная безопасной в группе 3, составляет 5×10^6 RCV FFU для Конструкции 1 и 1×10^6 RCV FFU Конструкции 2, дозировки для группы 6 могут составлять 5×10^7 RCV FFU для Конструкции 1 и 1×10^7 RCV FFU Конструкции 2. Последующие уровни доз Конструкции 2 и Конструкции 1 увеличивают до следующего последовательного уровня дозы, как указано в таблице 4.

Таблица 4. Предварительные дозы Конструкции 2 и Конструкции 1

Когорта	Доза Конструкции 2	Доза Конструкции 1 ^a
-1	1×10^5 RCV FFU	Один порядок ниже исходной дозы
1 (исходная доза)	1×10^6 RCV FFU	RP2D или наивысшая безопасная доза ^b
2	1×10^7 RCV FFU	До одного порядка выше исходной дозы
3	1×10^8 RCV FFU	До двух порядков выше исходной дозы
4	1×10^9 RCV FFU	До трех порядков выше исходной дозы

FFU = бляшкообразующих единиц, RCV = репликационно-компетентный вирус, RP2D = рекомендованная доза для II фазы.

^a Изучаемые дозы Конструкции 1 или Конструкции 2 в когорте могут представлять собой уровень дозы меньше, чем указано в таблице предварительных доз.

^b Дозой Конструкции 1 в когорте 1 является RP2D, определенная в группах 1 и 2, или самая высокая доза, определенная как безопасная, если RP2D не была достигнута.

6.3 Дозирование пембролизумаба

Пембролизумаб вводят по 200 мг один раз каждые 3 недели или по 400 мг один раз каждые 6 недель в группах В и Е II фазы.

7. Оценка эффективности

[00284] Эффективность оценивают с помощью КТ или МРТ грудной клетки/брюшной полости/таза и всех предполагаемых анатомических зон, вовлеченных в заболевание, и ее определяют для оценки опухолевого ответа. Для сканирования грудной клетки обязательно используется КТ. Для измерения участков заболевания не следует использовать ультразвук. Если сканирование КТ/МРТ запланировано на тот же день, что и введение исследуемого лекарства, то КТ/МРТ следует проводить до введения дозы.

[00285] Пациентам, у которых впоследствии определяли рентгенологически прогрессирование, как определено согласно iRECIST и которым добавляли пембролизумаб при продолжении монотерапии Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2/ Конструкцией 1 (раздел 5.3.5), оценку эффективности повторно приводили к базовому уровню согласовано RECIST. При прогрессировании заболевания согласно RECIST для оценки опухолевого ответа используется iRECIST.

[00286] Любой полный ответ (CR) или частичный ответ (PR) должен подтверждаться, предпочтительно через запланированный интервал времени, но не ранее чем через 4 недели после первоначального документирования CR или PR. Подтверждение CR или PR могут получать при следующей исчисляемой оценке опухоли после первоначального документирования CR или PR.

Таблица 5. Оценка опухолевого ответа

Оценка эффективности	Значение	Конечный критерий оценки эффективности
Первичные	RECIST	ORR (II фаза, только расширения когорт приема доз)
Вторичные	iRECIST	ORR (II фаза, только расширения когорт приема доз)
Вторичные	RECIST и iRECIST	ORR (I фаза повышения дозы) Продолжительность ответа Частота контроля заболевания PFS

iRECIST = критериям оценки иммунного ответа солидных опухолей, ORR = частота объективных ответов, PFS = выживаемость без прогрессирования, RECIST = критерии оценки ответа солидных опухолей.

8. Оценки эффективности

[00287] Проводятся определенные измерения безопасности, хорошо известные в данной области, такие как физикальный осмотр, определение жизненно-важных показателей, роста, веса, получение электрокардиограмм и клинических лабораторных параметров.

[00288] Дополнительно, для анализов выделения вирусов отбирают образцы слюны, кала (например, мазки кала), крови и мочи. Выделение вирусов анализируют с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией для количественного определения копий нуклеопротеиновой РНК, и его могут сочетать с анализом инфекционности для определения характеристик выделяющего материала, чтобы подтверждать отсутствие инфекционного вируса. Для проведения отбора для определения выделения вирусов, отобранные образцы не должны происходить из зон, потенциально содержащих жизнеспособные раковые клетки.

9. Биомаркеры

9.1 Оценки содержания биомаркеров в крови

[00289] Для решения исследовательской задачи по идентификации возможных PD-

маркеров для Конструкции 1, Конструкции 2 и пембролизумаба, оценивают несколько экспериментальных потенциальных биомаркеров (см. **таблицу 6**).

[00290] Во время данного исследования, образцы крови (включая сыворотку и плазму) отбирают для фенотипического, геномного, протеомного и транскрипционного анализов. Образцы крови отбирают для определения фенотипических характеристик субпопуляций лимфоцитов. Определение профиля экспрессии матричной РНК в крови выполняют для оценки наличия генных сигнатур, ассоциированных с клиническим ответом и/или резистентностью. Плазму отбирают для оценки циркулирующей опухолевой ДНК. В сыворотке оценивают нейтрализующие и связывающие антитела против исследуемого лекарства (по существу, гибридного белка E7E6) и таких провоспалительных Th1/Th2 цитокинов, как IL 1, IL 12, и IL-18, TNF и IFN- γ .

Таблица 6. Сводные данные по отбору образцов с биомаркерами и анализам

Тип образца	Анализы на биомаркеры
Кровь/плазма	• Субпопуляции лимфоцитов (TruCount) • цоДНК • Транскрипционный анализ (последовательность РНК)
Сыворотка	• Цитокины • Нейтрализующие антитела • bAb
Опухолевая ткань	• ИHC TIL • Транскриптомный анализ (послед. РНК) • Анализ WES

bAb = антитела против лекарственных средств, цоДНК = циркулирующая опухолевая дезоксирибонуклеиновая кислота, GEP = профиль экспрессии генов, ИГХ = иммуногистохимический анализ, МНС = главный комплекс гистосовместимости, РНК = рибонуклеиновая кислота, TCR = Т-клеточный рецептор, TIL = инфильтрующий опухоль лимфоцит, WES = секвенирование целого генома.

9.2 Оценки содержания биомаркеров в опухолевых тканях

[00291] Отбирают образцы опухолевых тканей с целью изучения эффектов монотерапии Конструкцией 1 и чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 на молекулярную сигнализацию и ответы опухолевых клеток, выявление биомаркеров, которые могут прогнозировать эффективность и ответ.

[00292] Опухолевую ткань получают с помощью биопсии под визуальным наведением, например как при интервенционной рентгенологии. Для оценки биомаркеров все пациенты предоставляют в центральную лабораторию ткани, полученные путем либо биопсии, либо эксцизионной биопсии (тонкоигольный аспират не принимается).

[00293] Применение новых технологий, таких как секвенирование следующего поколения, дает возможность проводить оценку опухоли на генетическом уровне. Биомаркеры нового поколения, такие как сигнатуры профилей экспрессии генов, получаемые путем секвенирования РНК, микросателлитная нестабильность, мутационная опухолевая нагрузка и потеря гетерозиготности антигенов лейкоцитов человека, исследуются в опухолевых тканях, полученных от пациентов, чтобы понять потенциальные биомаркеры клинического ответа и/или резистентности.

[00294] Дополнительно, опухолевые материалы применяют для количественного определения уровней инфильтрованных в опухоли лимфоцитов путем иммуногистохимического окрашивания. Данный анализ обеспечивает оценку инфильтрации в опухоли иммунных клеток и, в частности, CD8⁺ Т-клеток в опухоли.

9.2.1 Отбор образцов опухолевых тканей

[00295] Образцы опухолей отбирают во время скрининга или на день первого введения исследуемого лекарственного средства и после введения дозы. При наличии возможности следует проводить свежую биопсию опухоли. Если биопсия опухоли и сканирование КТ/МРТ выполняются в один и тот же визит, сначала следует выполнять КТ/МРТ, а затем биопсию опухоли.

[00296] Для пациентов, получающих Конструкцию 1 ВО в качестве первой дозы (день 1 цикла 1 изучения предварительной дозы для монотерапии Конструкцией 1 или день 1 цикла 0 изучения предварительной дозы для чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1):

- Для ВО введения Конструкции 1 выбирают одно поражение, выбранное для биопсии.
- В это же поражение также вводят Конструкцию 1 для ВО введения, если не согласовано иное между спонсором и исследователем.

[00297] Для пациентов, набранных для участия в дополняемых когортах, как указано на **ФИГ. 16**, требуется проведение парных свежих биопсий опухолей до первого введения исследуемого лекарственного средства и после введения дозы до первого сканирования КТ/МРТ для оценки эффективности для участия в резервных когортах.

[00298] Для оценки биомаркеров образцы тканей должны быть получены недавно путем либо биопсии, либо эксцизионной биопсии (тонкоигольный аспират не принимается). Необходимо представлять опухолевые блок с наибольшим опухолевым очагом (минимум два ядра) или наибольшей плотностью опухолевых клеток. Предпочтение отдается опухолевым блокам из образцов резекции/эксцизии, а не срезам.

9.3 Другие оценки экспериментальных биомаркеров

[00299] В дополнение к биомаркерам, указанным в разделах 9.1 и 9.2, экспериментальные исследования биомаркеров могут проводить на любых образцах опухолевой ткани, сыворотки/плазмы и периферических мононуклеарных клеток (МНПК), отобранных во время реализации примера. Эти дополнительные исследования могут расширять поиск других потенциально значимых биомаркеров для изучения влияния Конструкции 1 и/или Конструкции 2, и/или безопасности. Дополнительные экспериментальные биомаркеры включают определение профиля антигенспецифических Т-клеток с сортировкой тетрамеров, секвенирование рецепторов Т-клеток и изменения хроматина антигенспецифических Т-клеток.

10. Иммуногенность

[00300] Тестирование иммуногенности выполняется на всех пациентах для отслеживания функциональности и антигенного распознавания CD8⁺ Т-клеток путем измерения IFN- γ , TNF- α , IL-2, CD107a посредством внутриклеточного окрашивания и определения секретируемого IFN- γ специфическими клетками в мононуклеарных клетках периферической крови в качестве антигенспецифического иммунного ответа против Конструкции 1 и/или Конструкции 2 с пембролизумабом или без него (см. **таблицу 7**).

Таблица 7. Сводные данные по анализу иммуногенности

Тип образца	Анализ иммуногенности
Кровь (МНПК)	Панель для ICS для CD4 и CD8: IFN- γ , TNF- α , IL-2, CD107a и CD154
	Анализ ELISpot, измеряющий секретируемый IFN- γ с использованием пептидов на основе E7E6, NP пептидов LCMV и PICV.

CD4 = кластер дифференцировки 4, CD8 = кластер дифференцировки 8, E7E6 = антигенный гибридный белок E7 и E6 из папилломавируса 16 человека, ELISpot = метод иммуноферментных пятен, ICS = внутриклеточное окрашивание цитокинов, IFN- γ = интерферон-гамма, IL-2 = интерлейкин-2, LCMV = вирус лимфоцитарного хориоменингита, NP = нуклеопротеин, МНПК = моноклеарные клетки периферической крови; PICV = вирус Пичинде, TNF- α = фактор некроза опухолей альфа.

11. Подисследование экспериментальной визуализации

[00301] Целью данной задачи экспериментальной иммунной визуализации заключается в захвате распределения и поступления CD8⁺ клеток в опухолевые ткани при лечении монотерапией Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Конкретно, измеряли распределение CD8⁺ клеток путем оценки изображений ПЭТ/КТ всего тела с использованием маркера CD8 ПЭТ для оценки изменений до и после лечения монотерапией Конструкцией 1 или чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Проводят корреляцию клинического исхода посредством количественного определения уровня сигнала от маркера CD8 ПЭТ. Кроме того, используют оценку изменения уровня сигнала маркера CD8 ПЭТ до и после лечения для прогнозирования эффективности лечения, а также для различения действительного рентгенологического прогрессирования и псевдопрогрессирования во время ранней фазы при монотерапии Конструкцией 1 и чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1.

[00302] Во время части примера для I фазы исследования повышение дозы проводили подисследование для включения экспериментальной иммунной визуализации с помощью

сканирования методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ)/КТ для оценки распределения $^{89}\text{Zr-Df-IAB22M2C}$ (маркер CD8 ПЭТ, минитело против CD8 (IAB22M2C), конъюгированное с дефероксамином (Df) и меченое радиоизотопом Цирконий-89 ($^{89}\text{Zr-Df-IAB22M2C}$)) у пациентов с HNSCC, получающих монотерапию Конструкцией 1 или чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Дозу 1,0 ($\pm 20\%$) мКи маркера CD8 ПЭТ в 1,5 мг АФИ вводят ВВ в течение 5-10 минут. Накопление CD8 ПЭТ опухолями определяли количественными измерениями на основе стандартизированного значения накопления SUV (SUV_{макс}, SUV_{пиковое}, SUV_{среднее}, опухолевый объем CD8). Количественно определяли объем опухолевых тканей с помощью увеличенного накопления CD8 с SUV > 20% SUV_{макс}.

[00303] Для исследования визуализации маркером CD8 ПЭТ набирали две дополняемые когорты пациентов с подтвержденными HPV 16⁺ раковыми заболеваниями I фазы увеличения дозы в группе 1 и группе 3 лечения (см. раздел 2.1 в примере III) соответственно. Для пациентов из группы 1 маркер CD8 ПЭТ в виде ВВ вливания давали в пределах 2 недель (14 дней) до первой дозы ВВ введения Конструкции 1 (визуализация исходного уровня) и от 8 до 12 дней после второй дозы введения Конструкции 1 (визуализация после лечения). Сканирования ПЭТ/КТ (ПЭТ исходного уровня и ПЭТ после лечения) проводили через 24 ± 3 часа после каждого вливания маркера CD8 ПЭТ. Для пациентов из группы 2 маркер CD8 ПЭТ в виде ВВ вливания давали в пределах 2 недель (14 дней) до первой дозы ВВ введения Конструкции 2 (визуализация исходного уровня) и от 8 до 12 дней после первой дозы введения Конструкции 1 (визуализация после лечения). Сканирования ПЭТ/КТ (ПЭТ исходного уровня и ПЭТ после лечения) проводили через 24 ± 3 часа после каждого вливания маркера CD8 ПЭТ.

ПРИМЕР IV

Эффективная противораковая иммунотерапии на основе аренавирусов у пациентов с HPV16⁺ раковыми заболеваниями

[00304] В данном примере иллюстрируются предварительные данные для части исследования повышения дозы из примера III.

[00305] В исследование было включено всего 38 пациентов, из которых у 32 пациентов диагностировали HNSCC, и у 6 пациент диагностировали HPV16⁺ раковые заболевания, не являющиеся HNSCC (см. **таблица 8**)

Таблица 8. Характеристики исходного состояния привлеченных пациентов

Когорты	Всего	HNSCC	He HNSCC
Количество HPV16+ пациентов	38	32	6
Первичный участок			
Ротоглотка	29 (76,3)	29 (90,6)	0 (0)
Другие, уточнений	9 (23,7)	1 назальный 1 ротоглоточный 1 неизвестный	3 цервикальных 1 вагинальный 1 анальный 1 пенисный
Возраст, лет, медиана (диапазон)	62(30-86)	64(30-86)	54 (49–66)
Пол, мужчины	30 (78,9)	29 (90,6)	1 (16,7)
Происхождение, европеиды	34 (89,5)	30 (93,8)	4 (80,0)
ECOG PS 1	23 (60,5)	19 (59,4)	4 (66,7)
Предварительные терапии, медиана (диапазон)	3 (1–10)	3 (1–10)	3 (2–3)
Перед применением СРІ	31 (81,6)	28 (87,5)	3 (50,0)
Перед применением препаратов платины	34 (89,5)	29 (90,6)	5 (83,3)
Перед применением цетуксимаба	18 (47,4)	18 (56,3)	0 (0,0)
Удаленные метастазы в исходном состоянии	30 (78,9)	24 (75,0)	6 (100,0)

[00306] Не наблюдалось ограничивающих дозы токсических проявлений среди всех оцениваемых когорт, и не отмечены существенные изменения среди уровней доз и режимов. Не сообщалось о связанных с лечением серьезных неблагоприятных явлений или связанных с лечением явлений с оценкой ≥ 3 , и не происходило снижения дозы, прерывания, прекращения дозирования или смертельного исхода.

[00307] Среди проходивших лечение пациентов наблюдали ограничение заболевания и продление выживаемости. Как проиллюстрировано на **ФИГ. 17**, у значительной части пациентов отмечалось стабильное течение заболевания или сокращение опухолей. На столбчатом графике на **ФИГ. 17А** показаны длительность лечения и ответ на терапию аренавирусными векторами у отдельных пациентов с временем на лечение, рассчитанным как последнее лечение или смерть минус дата введения первой дозы плюс один. На столбчатом графике на **ФИГ. 17В** показано изменение целевого поражения от исходного уровня у пациентов, получавших терапию аренавирусными векторами. У большинства пациентов отмечалось стабильное заболевание. У некоторых пациентов с частичным ответом или сокращением опухолей наблюдали противоопухолевую активность терапии аренавирусными векторами. Частота контроля заболевания, в целом, составила 62%. Около 34% пациентов получили регрессию опухолей. Для оценки различий между разными способами введения, схемами и уровнями доз, для когорт >1 пациента анализировали среднее значение наибольшего изменения целевых поражений (SOD) от исходного уровня. Соответствующие результаты на **ФИГ. 17С** демонстрируют преимущество внутривенного (ВВ) введения над внутриопухолевым (ВО). Кроме того, трехнедельный интервал между введениями векторов оказались предпочтительными на векторами, вводимыми каждые две недели. Эти данные дополнительно подтверждают превосходящее противоопухолевое действие у пациент получавших лечение чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1 по сравнению с пациентами, получавшими лечение одним вектором Конструкции 1 в той же дозе. Как проиллюстрировано на **ФИГ. 17D** и в таблице 9, значительная субпопуляция пациентов демонстрировала стабильное течение заболевание после терапии аренавирусными векторами. Некоторые конечные критерии оценки, такие как частота ответа, частота контроля заболевания и выживаемость без прогрессирования, у пациентов, получавших терапию аренавирусными векторами, обобщены ниже в **таблице 9**. В общем, частота объективных ответов составила 6,9%, среди которых 2 пациента достигли частичного ответа и 16 пациентов получили стабильное заболевание. Среди пациентов со стабильным

заболеванием у 4 этот ответ сохранялся по меньшей мере 16 недель. У одиннадцати пациентов было прогрессирование заболевания, и контроль заболевания отмечен у 18 пациентов. Медианная выживаемость без прогрессирования для всех пациентов составила 2,27 месяцев. Тем не менее, сквамозная карцинома головы и шеи у пациентов, получавших лечение Конструкцией 1, вводимой внутривенно каждые 3 недели на уровне 1 или 2 доз, дала частоту объективных ответов 18,2%, среди которых 2 пациента достигли частичного ответа и 6 пациентов (54,5%) получили стабильное заболевание. Медиана PFS составила 3,45 месяца. У пациентов, получавших чередующуюся 2-векторную терапию Конструкцией 2 / Конструкцией 1, вводимую ВВ каждые 3 недели при уровне дозы DL1 для Конструкции 2 и DL2 для Конструкции 1, 4 из 4 пациентов достигли стабильного заболевания с медианной выживаемостью без прогрессирования 3,58 месяца. На **ФИГ. 17Е** показана выживаемость без прогрессирования для всех пациентов с HNSCC.

Таблица 9. Значения конечных критериев оценки для пролеченных пациентов

	Конструкция 1 ВВ при DL1 и DL2 кажд. 3 недели для HNSCC	Конструкция 1 ВВ при DL2 / Конструкция 2 ВВ при DL1 кажд. 3 недели для HNSCC	Все HNSCC с	Все пациенты
N, колич. оценка (≥1 сканир.)	11	4	24	29
ORR, n (%)	2 (18,2)	0 (0,0)	2 (8,3)	2 (6,9)
PR, n (%) ^a	2 (18,2)	0 (0,0)	2 (8,3)	2 (6,9)
SD, n (%)	6 (54,5)	4 (100,0)	14 (58,3)	16 (55,2)
SD ≥16 нед.	4 (36,4)	0 (0,0)	4 (16,7)	4 (13,8)
PD, n (%)	3 (27,3)	0 (0,0)	8 (33,3)	11 (37,9)
DCR, n (%)	8 (72,7)	4 (100,0)	16 (66,7)	18 (62,1)
PFS ^b , медиана (мес)	4,50	3,65	2,63	2,63

PFS, исключ. время на пембролизумабе, медиана (мес)	3,45	3,58	2,27	2,27
---	------	------	------	------

^aPR включает 1 подтвержденный PR и 1 неподтвержденный PR; ^bУ пациентов, получавших пембролизумаб с Конструкциями 1 и 2

Данные EDC использовали для некоторых пациентов вследствие отсутствующих/некорректно введенных данных для TLF на дату переноса данных.

ORR, частота объективных ответов; PR, частичный ответ; SD, стабильное заболевание; PD, прогрессирующее заболевание; DCR, частота контроля заболевания; PFS, выживаемость без прогрессирования. PFS включает время после добавления к лечению пембролизумабом перед прогрессированием согласно RECIST.

[00308] Интересно, что пациенты с поражениями лимфоузлов только целевые поражения отвечали лучше на терапию аренавирусными векторами, чем пациенты без органов с лимфоузлами в качестве целевых поражений (см. **ФИГ. 17F**). Не менее интересно, что пациенты, получающие ВВ введение DL2 Конструкции 1 каждые три недели (G1DL2Q3W) и ВВ введение чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1 каждые три недели (G3 DL1 и DL2 Q3W) показали наилучший ответ от целевых поражений (см. **ФИГ. 17G**). При сравнении наибольшего изменения суммы диаметра целевого поражения и времени лечения, у большинства пациентов с большей продолжительностью лечения отмечена стабильная болезнь или уменьшение опухоли. Корреляция между наибольшим изменением суммы диаметров и продолжительности лечения описана на **ФИГ. 17H**. Как в ситуационном исследовании, у одного конкретного пациента с метастатической сквамозной карциномой головы и шеи (HNSCC) и участком первичного поражения в ротоглотке быстрая стабилизация заболевания с последующим частичным ответом наблюдалась после внутривенного лечения монотерапией DL2 Конструкции 1 каждые три недели. Соответствующий пациент получил следующие предварительные терапии перед лечением Конструкцией 1: (1) цисплатин + XRT; (2) карбоплатин/паклитаксел/цетуксимаб и (3) пембролизумаб. Сканирования КТ, показанные на **ФИГ. 17G**, демонстрируют уменьшение опухоли на дни 39 и 80 (см. **ФИГ. 17F**). Пациент продолжал получать терапию аренавирусным вектором Конструкцией 1 в течение 127 дней, когда было подтверждено прогрессирование заболевания.

[00309] В целом, профиль безопасности терапевтических вакцин на основе

аренавирусов был определенно приемлемым. Как монотерапия Конструкцией 1, так и чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1, в целом, хорошо переносились пациентами с запущенными HPV16⁺ опухолями. В качестве одного агента без какой-либо комбинации, эти терапии продемонстрировали предварительную противоопухолевую активность у этих пациентов с HPV16⁺ HNSCC, получавших предварительное лечение (см. ниже таблицу 10).

Таблица 10. Сравнение между аренавирусной терапией и 1-й и 2-й линиями лечения ингибиторами контрольных точек

HNSCC		ORR (%)	PFS (мес)	OS (мес)
1-я линия с CPI		17–23	2,2–3,4	12–15
2-я линия с CPI		14–16	2,0–2,3	7–9
3-я линия с CPI	Все схемы	8*	2,27	NR
Терапия аренавирусными векторами	Конструкция 1 ВВ кажд. 3 нед	18,2*	3,45	NR

ПРИМЕР V.

Иммуногенность, индуцируемая противораковой иммунотерапией на основе аренавирусов у пациентов с HPV16⁺ раковыми заболеваниями

[00310] В данном примере иллюстрируется иммуногенность, индуцированная отдельной Конструкцией 1, а также чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1.

[00311] На ФИГ. 18А, как на обновлении ФИГ. 6А, демонстрируется отличающиеся сигнатуры цитокинов или хемокинов сыворотки после введения Конструкции 1. Увеличенные уровни IFN-γ уже наблюдали на день 4 после первого лечения у 90%

анализировавшихся пациентов. Помимо IFN- γ у прошедших лечение пациентов также повышается уровень других иммуностимулирующих цитокинов и хемокинов, что свидетельствует о ранних признаках активации клеток НК и Т-клеток. Например, однократная доза Конструкции 1 увеличивала уровни IFN- γ , IFN-индуцибельного белка (IP)-10, интерлейкина (IL)-12p40, IL-15 и фактора некроза опухолей TNF- α у пациентов на день 4 после лечения. На **ФИГ. 18В**, как на обновлении **ФИГ. 6В**, показаны увеличенные уровни IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельного белка (IP)-10 и TNF α у пациентов на 4-й день после лечения монотерапией Конструкцией 1 при DL 1 (5×10^5 RCV FFU) или DL2 (5×10^6 RCV), или чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1 (Конструкция 2: 1×10^6 RCV FFU, Конструкция 1: 5×10^6 RCV FFU).

[00312]

[00313] Кроме того, индукцию антигенспецифических Т-клеточных ответов измеряли методом ELISpot и внутриклеточным окрашиванием цитокинов. Поскольку обычно в данной области иммуногенность противораковых терапевтических средств измеряют с помощью IFN- γ ELISpot только после стимуляции *in-vitro* (IVS) в течение 4–14 дней для размножения Т-клеток и повышения вероятности обнаружения антигенспецифических Т-клеток, индукцию антигенспецифических Т-клеточных ответов после лечения аренавирусной векторной терапией измеряли напрямую без предварительного размножения *in vitro*. Конкретно, отбирали МНПК у пациентов с доступными образцами для Т-клеточного анализа методом IFN- γ ELISpot и внутриклеточным окрашиванием цитокинов (ICS).

[00314] Как проиллюстрировано на **ФИГ. 19А** и **ФИГ. 19В**, да 3,5% IFN- γ^+ E6/E7 специфических CD8 Т-клеток были выявлены после первой дозы Конструкции 1 при дозовом уровне 2 (т. е., 5×10^6 RCV FFU).

[00315] Удивительно, но беспрецедентные уровни E6/E7-специфических CD8 Т-клеток наблюдали у одного пациента (пациент 106-0005) после внутривенной чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Как показан на **ФИГ. 19С** и **ФИГ. 19D**, около 10% антигенспецифических CD8+ Т-клеток наблюдали после однократной дозы Конструкции 2 и до около 40% IFN- γ +E6/E7-специфических CD8 Т-клеток могли обнаруживать после 2 циклов чередующейся 2-векторной терапии Конструкцией 2 / Конструкцией 1. Для выбранного пациента (пациент 106-0005) проводили многоцветную

цитометрии в различные моменты времени посредством множества циклов лечения чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1. На **ФИГ. 19E** показано увеличение количества общих циркулирующих CD8⁺ Т-клеток. На **ФИГ. 19F** показано увеличение функциональных и цитотоксических Е6/Е7-специфических CD8 Т-клеток, которые экспрессируют IFN- γ , TNF α или CD107a у того же пациента. Продукция IFN- γ , TNF α или CD107a демонстрирует, что индуцированные Е6/Е7-специфические CD8 Т-клетки являются мультифункциональными и не истощаются.

[00316] На **ФИГ. 19G – ФИГ. 19I** дополнительно показано, что лечение либо Конструкцией 1 отдельно, либо чередующейся 2-векторной терапией Конструкцией 2 / Конструкцией 1, индуцирует существенные антигенспецифические Т-клеточные ответы у пациентов, с содержанием до 40% циркулирующих CD8⁺ Т-клеток, являющихся Е6/Е7-специфическими. Продукция IFN- γ и TNF- α указывает, что соответствующие Т-клетки не истощаются. Кроме того, размножение Е6/Е7-специфических CD8⁺ Т-клеток у пациентов отражают результаты, наблюдавшиеся в мышинных моделях.

[00317] В целом, Конструкция 1 и Конструкция 2 индуцирует секрецию цитокинов типа 1 в сыворотке крови. Прямые анализы на IFN- γ ELISpot и ICS выполненные без предварительного размножения *in-vitro*, фиксировали Т-клеточные ответы большой интенсивности. Однократные дозы, соответственно Конструкции 1 и Конструкции 2, были способны стимулировать сильные ответы Е6/Е7-специфических CD8 Т-клеток с содержанием до 9,9% IFN- γ ⁺ CD8 Т-клеток. Например, у трех пациентов после однократной дозы Конструкции 1 продуцировалось более 3% антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток. Один пациент после однократной дозы Конструкции 2 отвечал содержанием около 10% антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток. У 83% пациентов, получавших ВВ дозы либо Конструкции 1 отдельно, либо чередующейся 2-векторной терапии Конструкции 2 / Конструкции 1, демонстрировалась индукция опухолеантигенспецифических Т-клеточных ответов к HPV16 Е7/Е6, измеренных ELISpot и/или ICS, а также сдвиг в IFN- γ сигнатуре. Принимая во внимание предварительное измерение эффективности, наблюдаемое для пациентов с HPV16⁺ HNSCC, одновекторная Конструкция 1, вводившаяся каждые 3 недели, приводила к частоте общего ответа (ORR) равной 18% (1 частичный ответ (PR), 1 неподтвержденный полный ответ (uCR)) и частоте контроля заболевания (DCR) равной 73%, и чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1 приводила к 100% DCR.

[00318] Важно отметить, что чередующаяся 2-векторная терапия Конструкцией 2 / Конструкцией 1 достигала беспрецедентных 40% E6/E7-специфических IFN- γ +CD8 Т-клеток, которые являются наибольшим ответом, когда-либо сообщавшимся в широких пределах для терапии *in-vivo*, такой как противораковая вакцина.

[00319] Во всем объеме данной заявки приведены ссылки на различные публикации. Содержание указанных публикаций включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылок для более полного описания состояния области техники, к которой относится настоящее изобретение. Хотя настоящее изобретение было описано со ссылками на предложенные выше примеры, следует понимать, что могут быть выполнены различные модификации без отступления от сути настоящего изобретения.

[00320] Данное описание подается вместе с копией в машиночитаемой форме (CRF) Перечня последовательностей в формате ASCII. Копия CRF Перечня последовательностей под названием 13194-071-228_Sequence_Listing_ST25.txt была создана 4 мая 2021 года, имеет размер 35 725 байт и включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^5 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU).

2. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU).

3. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU).

4. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU).

5. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих

единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU).

6. Способ по любому из пп. 1–5, в котором раковое заболевание представляет собой HPV 16⁺.

7. Способ по п. 6, в котором HPV 16⁺ раковое заболевание представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи.

8. Способ по п. 6, в котором HPV 16⁺ раковое заболевание представляет собой рак анального канала, рак шейки матки, рак вульвы или влагалища.

9. Способ по любому из пп. 1–8, в котором пациент демонстрировал прогрессирование или рецидив опухоли в ответ на по меньшей мере одну стандартную терапию до применения указанного способа.

10. Способ по п. 9, в котором по меньшей мере одна стандартная терапия включает в себя монотерапию пембролизумабом.

11. Способ по любому из пп. 1–10, в котором у пациента имеются только целевые поражения в лимфатических узлах.

12. Способ по любому из пп. 1–11, в котором введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы включает внутривенные инъекции.

13. Способ по п. 12, в котором внутривенные инъекции вводят с частотой каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8 недель.

14. Способ по п. 12 или п. 13, в котором внутривенные инъекции проводят длительно или вводят в течение ограниченного количества циклов.

15. Способ по п. 14, в котором ограниченное количество циклов составляет два, три, четыре, пять или шесть.

16. Способ по п. 15, в котором эффективное количество сконструированной

репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы на один логарифмический порядок больше, чем эффективные количества, используемые при длительных внутривенных инъекциях.

17. Способ по п. 14, в котором внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с более высокой частотой, а потом — с более низкой частотой.

18. Способ по п. 17, в котором внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 3 недели, а потом — с частотой каждые 6 недель.

19. Способ по п. 18, в котором внутривенную инъекцию проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов, а потом — с частотой каждые 6 недель для последующих циклов.

20. Способ по п. 17, в котором внутривенную инъекцию проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 4 недели, а потом — с частотой каждые 8 недель.

21. Способ по п. 20, в котором внутривенную инъекцию проводят длительно и сначала вводят с частотой каждые 4 недели в течение 4 циклов, а потом — с частотой каждые 8 недель для последующих циклов.

22. Способ по любому из пп. 12–21, причем способ дополнительно включает внутриопухолевую инъекцию перед внутривенными инъекциями.

23. Способ по любому из пп. 1–11, в котором введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы включает внутриопухолевые инъекции.

24. Способ по любому из пп. 1–23, причем способ дополнительно включает введение эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки.

25. Способ по п. 24, в котором ингибитор иммунной контрольной точки включает в себя анти-PD-1 ингибитор контрольной точки (белок 1 запрограммированной гибели клеток).

26. Способ по п. 25, в котором анти-PD-1 ингибитор контрольной точки

представляет собой антитело.

27. Способ по п. 26, в котором антитело представляет собой ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб или цемиплимаб.

28. Способ по любому из пп. 1–27, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы получены из вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV).

29. Способ по п. 28, в котором LCMV представлен штаммом MP, штаммом WE, штаммом Armstrong, клоном 13 штамма Armstrong или клоном 13 штамма LCMV, экспрессирующими гликопротеин штамма WE LCMV вместо эндогенного гликопротеина клона 13 LCMV.

30. Способ по п. 29, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы включают в себя Конструкцию 1.

31. Способ по п. 30, в котором эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 RCV FFU, и в котором Конструкцию 1 вводят с частотой каждые 3 недели.

32. Способ по любому из пп. 1–27, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы получены из вируса Пичинде (PICV).

33. Способ по п. 32, в котором PICV представлен изолятом P18 штамма Munchique CoAn4763 или штаммом P2.

34. Способ по п. 33, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы включают в себя Конструкцию 2.

35. Способ по любому из пп. 1–34, причем способ приводит к изменению уровня цитокина или хемокина в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента.

36. Способ по п. 35, в котором цитокин и хемокин включает в себя IFN- γ , IL-

12p40, IL-15, IFN-индуцибельный белок (IP)-10 и TNF α .

37. Способ по любому из пп. 1–36, причем способ приводит к увеличению количества HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента.

38. Способ по п. 37, в котором HPV16 E7/E6-специфические Т-клетки являются положительными по CD8, IFN- γ , TNF α и/или CD107a.

39. Способ по п. 37 или 38, в котором Т-клетки выявляют без предварительной стимуляции и/или размножения *in-vitro*.

40. Способ по любому из пп. 1–39, причем способ приводит к большей инфильтрации Т-клеток в опухолевые ткани по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентами, получающими плацебо.

41. Способ по любому из пп. 1–40, причем способ приводит к улучшению одного или более конечных критериев оценки эффективности с использованием Критериев оценки ответа при солидных опухолях (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) и/или Критериев оценки иммунного ответа при солидных опухолях (Immune Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, iRECIST) по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентами, получающими плацебо.

42. Способ по п. 41, в котором улучшение одного или более конечных критериев оценки эффективности включает в себя более высокий процент частоты объективных ответов, более высокий процент частоты контроля заболевания, более высокий процент частичных ответов, более длительную выживаемость без прогрессирования и/или более длительную общую выживаемость.

43. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий одну или более сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 штамма 16 папилломавируса человека (HPV16), полученного из первого вида аренавируса, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9

бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц, содержащих два S-сегмента, кодирующих гибридный белок E7/E6 HPV16, полученного из второго вида аренавируса, в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 или 1×10^9 RCV FFU.

44. Способ по п. 43, в котором первый вид аренавируса в (i) представляет собой вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и второй вид аренавируса в (ii) представляет собой вирус Пичинде (PICV).

45. Способ по п. 43, в котором первый вид аренавируса в (i) представляет собой PICV, и второй вид аренавируса в (ii) представляет собой LCMV.

46. Способ по п. 44 или п. 45, в котором LCMV представлен штаммом MP, штаммом WE, штаммом Armstrong, клоном 13 штамма Armstrong или клоном 13 штамма LCMV, экспрессирующими гликопротеин штамма WE LCMV вместо эндогенного гликопротеина клона 13 LCMV.

47. Способ по п. 46, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы включают в себя Конструкцию 1.

48. Способ по п. 44 или 45, в котором PICV представлен изолятом P18 штамма Munchique CoAn4763 или штаммом P2.

49. Способ по п. 48, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы включают в себя Конструкцию 2.

50. Способ по п. 45, в котором сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы в (i) представляют собой Конструкцию 2, и сконструированные репликационно-компетентные трехсегментные аренавирусные частицы в (ii) представляют собой Конструкцию 1.

51. Способ по п. 50, включающий одну или более сессий, причем каждая сессия включает:

- i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 или 1×10^9 RCV FFU; и
- ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 RCV FFU.

52. Способ по п. 51, в котором эффективное количество Конструкции 2 составляет около 1×10^6 RCV FFU и эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 RCV FFU, и при этом Конструкцию 2 и Конструкцию 1 вводят внутривенно, и каждая сессия длится 6 недель.

53. Способ по любому из пп. 43–52, в котором раковое заболевание представляет собой HPV 16⁺.

54. Способ по п. 53, в котором HPV 16⁺ раковое заболевание представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи.

55. Способ по п. 53, в котором HPV 16⁺ раковое заболевание представляет собой рак анального канала, рак шейки матки, рак вульвы или влагалища.

56. Способ по любому из пп. 43–55, в котором пациент демонстрировал прогрессирование или рецидив опухоли в ответ на по меньшей мере одну стандартную терапию до применения указанного способа.

57. Способ по п. 56, в котором по меньшей мере одна стандартная терапия включает в себя монотерапию пембролизумабом.

58. Способ по любому из пп. 43–57, в котором у пациента имеются только целевые поражения в лимфатических узлах.

59. Способ по любому из пп. 43–58, в котором введение сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц в (i) и (ii) включает внутривенную инъекцию.

60. Способ по п. 59, в котором каждая сессия длится 4 недели, 6 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель, 14 недель или 16 недель.

61. Способ по п. 59 или п. 60, в котором сессии проводят длительно или повторяют в течение ограниченного количества сессий.

62. Способ по п. 61, в котором ограниченное количество сессий составляет две, три, четыре, пять или шесть.

63. Способ по п. 62, в котором эффективное количество сконструированных репликационно-компетентных трехсегментных аренавирусных частиц на один логарифмический порядок больше, чем эффективное количество, используемое при длительных внутривенных инъекциях.

64. Способ по п. 61, в котором внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят в более коротких сессиях, а потом более длительными сессиями.

65. Способ по п. 64, в котором внутривенную инъекцию проводят длительно и сначала вводят сессиями, каждая из которых продолжается 6 недель, , а потом сессиями, каждая из которых продолжается 12 недель.

66. Способ по п. 65, в котором внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят 2 сессиями, каждая из которых продолжается 6 недель, а потом сессиями, каждая из которых продолжается 12 недель.

67. Способ по п. 64, в котором внутривенные инъекции проводят длительно и сначала вводят сессиями, каждая из которых продолжается 8 недель, а потом сессиями, каждая из которых продолжается 16 недель.

68. Способ по п. 67, в котором внутривенную инъекцию проводят длительно и сначала вводят 2 сессиями, каждая из которых продолжается 8 недель, а потом сессиями, каждая из которых продолжается 16 недель.

69. Способ по любому из пп. 59–68, причем способ дополнительно включает внутриопухолевую инъекцию перед внутривенными инъекциями.

70. Способ по п. 69, в котором внутриопухолевую инъекцию вводят за 3 недели перед внутривенными инъекциями.

71. Способ по п. 69 или 70, в котором внутриопухолевую инъекцию вводят с Конструкцией 1.

72. Способ по любому из пп. 43–58, в котором введение сконструированной репликационно-компетентной трехсегментной аренавирусной частицы включает внутриопухолевые инъекции.

73. Способ по любому из пп. 43–72, причем способ дополнительно включает введение эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки.

74. Способ по п. 73, в котором ингибитор иммунной контрольной точки включает в себя анти-PD-1 ингибитор контрольной точки (белок 1 запрограммированной гибели клеток).

75. Способ по п. 74, в котором анти-PD-1 ингибитор контрольной точки представляет собой антитело.

76. Способ по п. 75, в котором антитело представляет собой ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб или цемиплимаб.

77. Способ по любому из пп. 43–76, причем способ приводит к изменению уровня цитокина или хемокина в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента.

78. Способ по п. 77, в котором цитокин и хемокин включают в себя IFN- γ , IL-12p40, IL-15, IFN-индуцибельный белок (IP)-10 и TNF α .

79. Способ по любому из пп. 43–78, причем способ приводит к увеличению количества HPV16 E7/E6-специфических Т-клеток в сыворотке пациента по сравнению с уровнем перед лечением пациента.

80. Способ по п. 79, в котором HPV16 E7/E6-специфические Т-клетки являются положительными по CD8, IFN- γ , TNF α и/или CD107a.

81. Способ по п. 79 или 80, в котором Т-клетки выявляют без предварительной стимуляции и/или размножения *in-vitro*.

82. Способ по любому из пп. 43–81, причем способ приводит к большей инфильтрации Т-клеток в опухолевые ткани по сравнению с уровнем перед лечением пациента или пациентами, получающими плацебо.

83. Способ по любому из пп. 43–82, причем способ приводит к улучшению одного или более конечных критериев оценки эффективности с использованием Критериев оценки ответа при солидных опухолях (RECIST) и/или Критериев оценки иммунного ответа при солидных опухолях (iRECIST).

84. Способ по п. 83, в котором улучшение одного или более конечных критериев оценки эффективности включает в себя более высокий процент частоты объективных ответов, более высокий процент частоты контроля заболевания, более высокий процент частичных ответов, более длительную выживаемость без прогрессирования, более длительную общую выживаемость.

85. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и при этом Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов, а потом — длительными циклами с частотой каждые 6 недель.

86. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(i) введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество составляет около 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 или 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и при этом Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 4 циклов, а потом — длительными циклами с частотой каждые 6 недель; и

(ii) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

87. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2

внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

88. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

89. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

90. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

91. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

92. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий множество сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

93. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель; и

(2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

94. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель; и

(2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

95. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель; и

(2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

96. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель; и

(2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

97. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель; и

(2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

98. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) множество сессий введения Конструкции 2 и Конструкции 1, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель; и

(2) введение пациенту 200 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 3 недели или 400 мг пембролизумаба внутривенно с частотой каждые 6 недель.

99. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) введение пациенту внутрь опухоли эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

(2) через 3 недели проведение для пациента множества сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^6 RCV FFU; и

ii. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

100. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) введение пациенту внутрь опухоли эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^6 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

(2) через 3 недели проведение для пациента множества сессий, причем каждая сессия включает

- i. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 RCV FFU; и
 - ii. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^6 RCV FFU,
- и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

101. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) введение пациенту внутрь опухоли эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

(2) через 3 недели проведение для пациента множества сессий, причем каждая сессия включает

- i. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 RCV FFU; и
- ii. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

102. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) введение пациенту внутрь опухоли эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

(2) через 3 недели проведение для пациента множества сессий, причем каждая сессия включает

- i. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU; и
- ii. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

103. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) введение пациенту внутрь опухоли эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

(2) через 3 недели проведение для пациента множества сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU; и

ii. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

104. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента включающий:

(1) введение пациенту внутрь опухоли эффективного количества Конструкции 1, причем эффективное количество Конструкции 1 составляет около 5×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

(2) через 3 недели проведение для пациента множества сессий, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 2, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 RCV FFU; и

ii. введение пациенту внутривенно эффективного количества Конструкции 1 в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая из первых двух сессий длится 6 недель, и каждая из следующих длительных сессий длится 12 недель.

105. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту эффективного количества Конструкции 1, причем

эффективное количество составляет около 5×10^6 , 5×10^7 , 5×10^8 , 1×10^9 или 5×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и при этом Конструкцию 1 вводят внутривенно с частотой каждые 3 недели в течение 3 циклов, и способ завершается после 3 циклов.

106. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^7 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая сессия длится 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

107. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^7 RCV FFU,

и при этом каждая сессия длится 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

108. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^8 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая сессия длится 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

109. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^8 RCV FFU,

и при этом каждая сессия длится 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

110. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 RCV FFU,

и при этом каждая сессия длится 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

111. Способ лечения ракового заболевания у нуждающегося в этом пациента, включающий 3 сессии, причем каждая сессия включает

i. введение пациенту эффективного количества Конструкции 2 внутривенно, причем эффективное количество составляет около 1×10^9 бляшкообразующих единиц репликационно-компетентных вирусов (RCV FFU); и

ii. введение пациенту эффективного количества Конструкции 1 внутривенно в момент времени приблизительно на половине длительности сессии, причем эффективное количество составляет около 5×10^9 RCV FFU,

и при этом каждая сессия длится 6 недель, и способ завершается после 3 сессий.

112. Нуклеотидная последовательность, содержащая нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 1 или 2.

113. Нуклеотидная последовательность, содержащая нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

114. Нуклеотидная последовательность по п. 112 или 113, причем нуклеотидная последовательность представляет собой РНК.

115. Клетка-хозяин, содержащая нуклеотидную последовательность по любому из пп. 112–114.

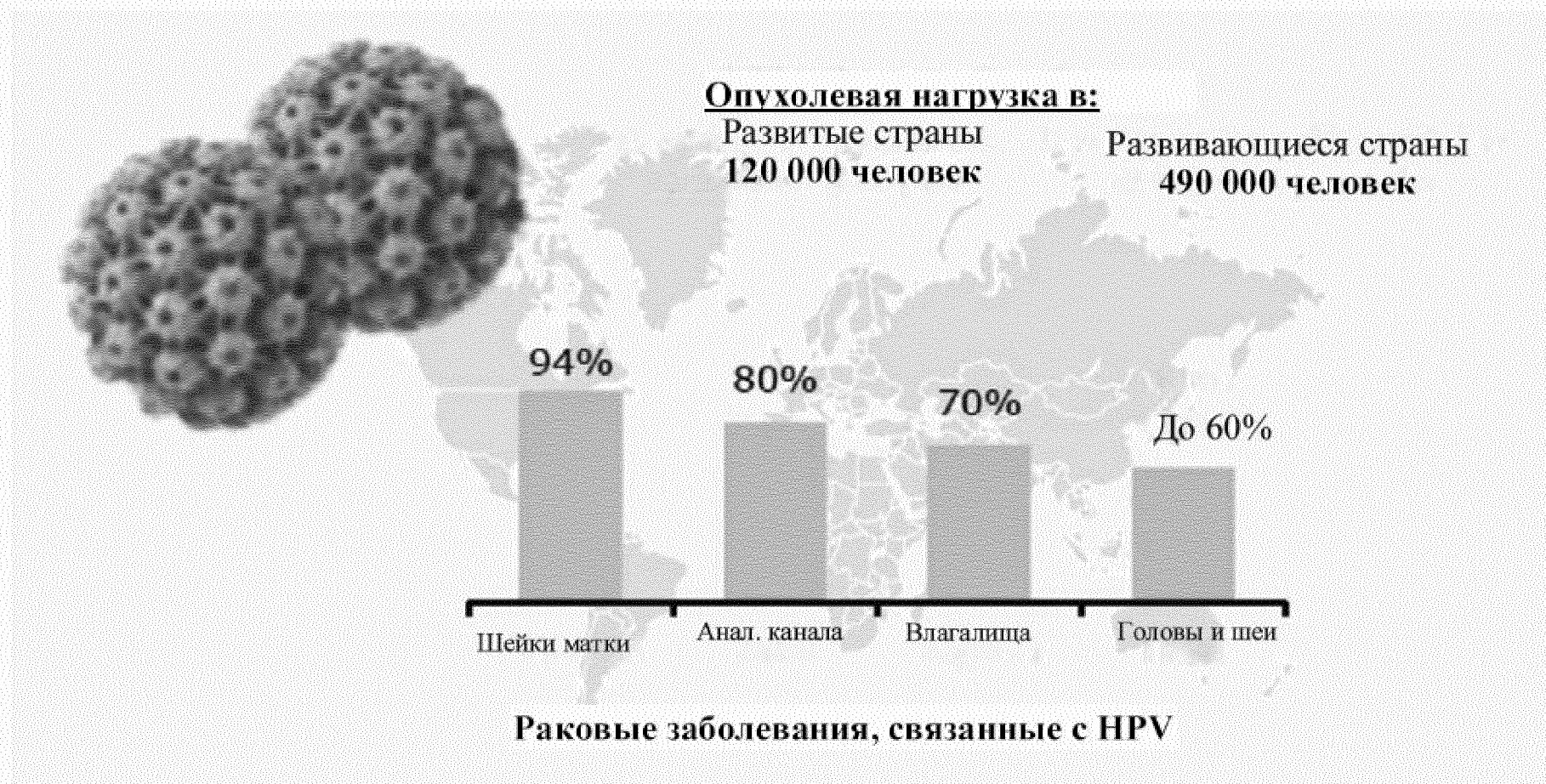
116. Трехсегментная частица LCMV, содержащая нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 3, 4 и 5.

117. Трехсегментная частица PICV, содержащая нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8.

118. Фармацевтическая композиция, содержащая трехсегментную вирусную частицу по п. 116 или 117 и фармацевтически приемлемый носитель.

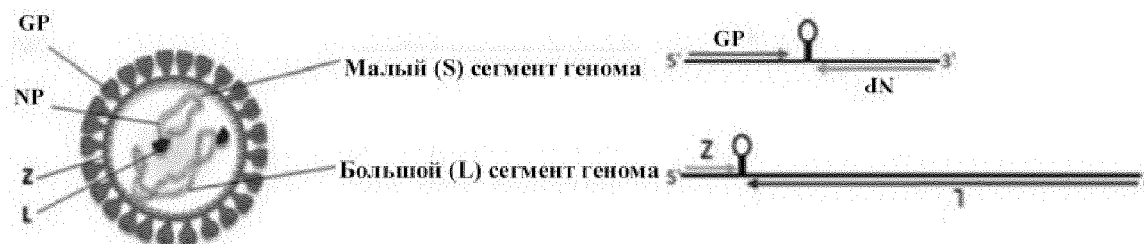
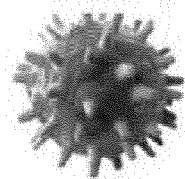
119. Трехсегментная аренавирусная частица по п. 116 или 117, причем оптимизированная по динуклеотидам нуклеотидная последовательность E7E6 HPV16 может:

- i. обладать стабильной экспрессией антигена HPV после проведения пассажей по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 поколений;
 - ii. обладать стойкой экспрессией кодируемого HPV гибридного белка;
- или
- iii. индуцировать сильные иммунные реакции против кодируемого HPV гибридного белка.



ФИГ. 1

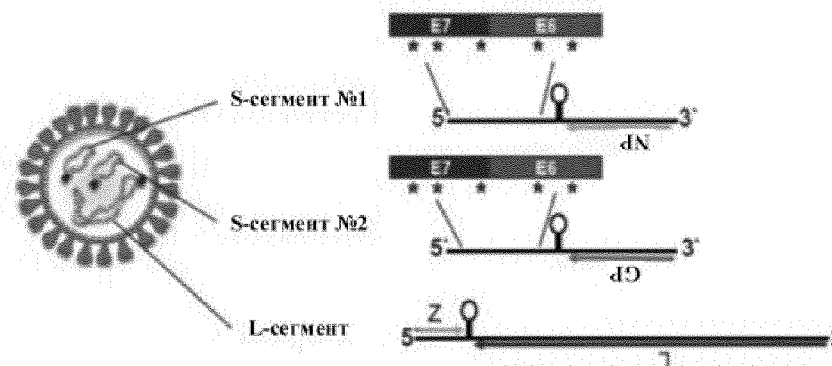
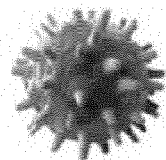
Ареновирус
LCMV / PICV



ФИГ. 2А

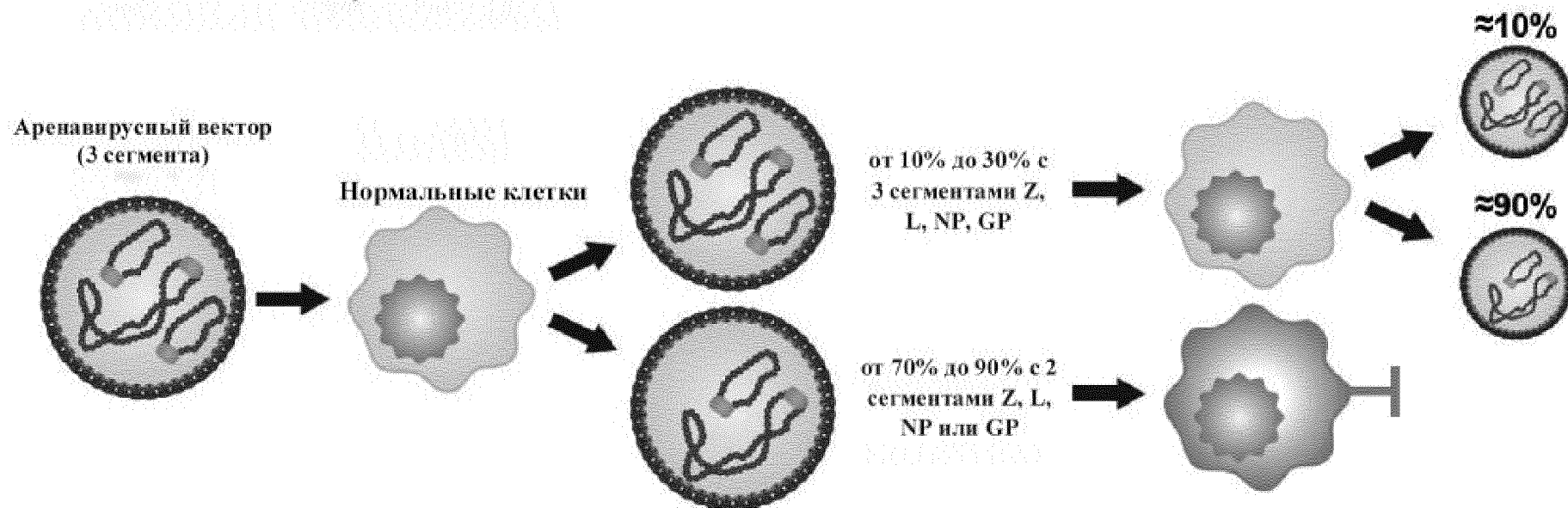
(В) Конструкция 1 (на основе LCMV) / Конструкция 2 (на основе PICV)

Ареновирус
LCMV / PICV

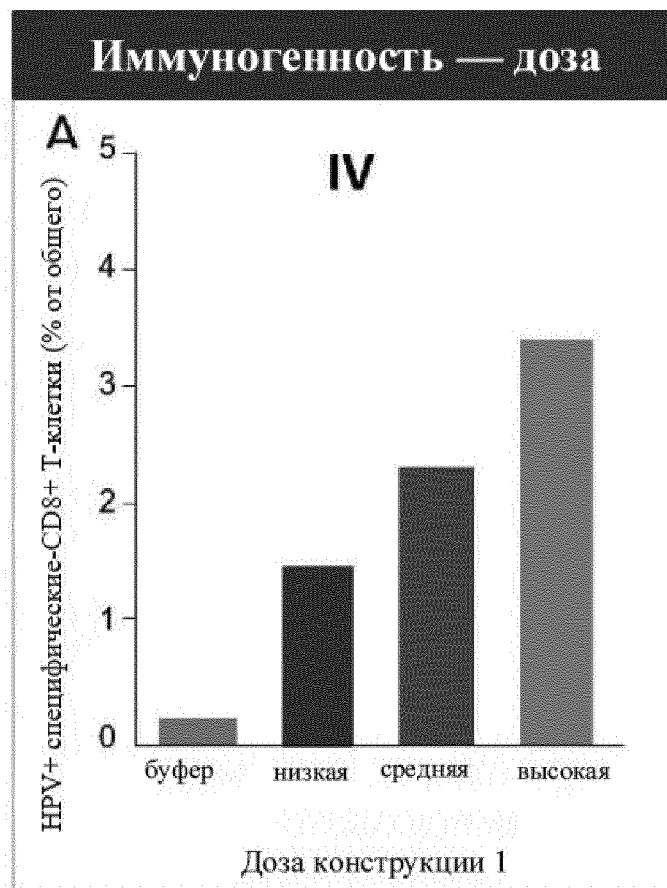


ФИГ. 2В

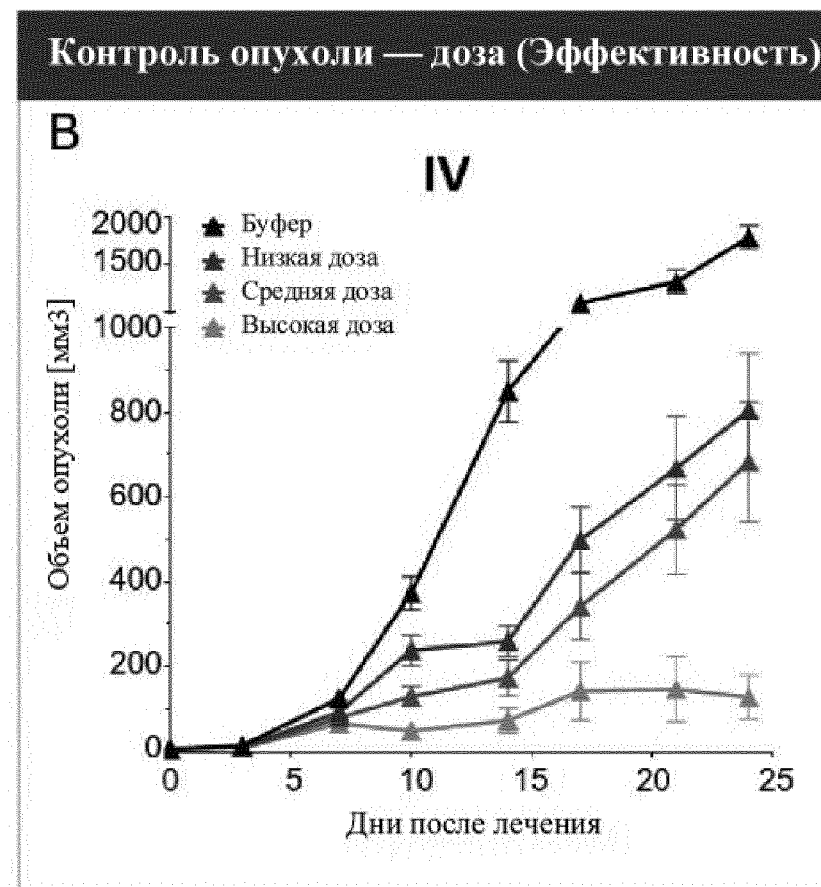
Способ аттенуации



ФИГ. 2С

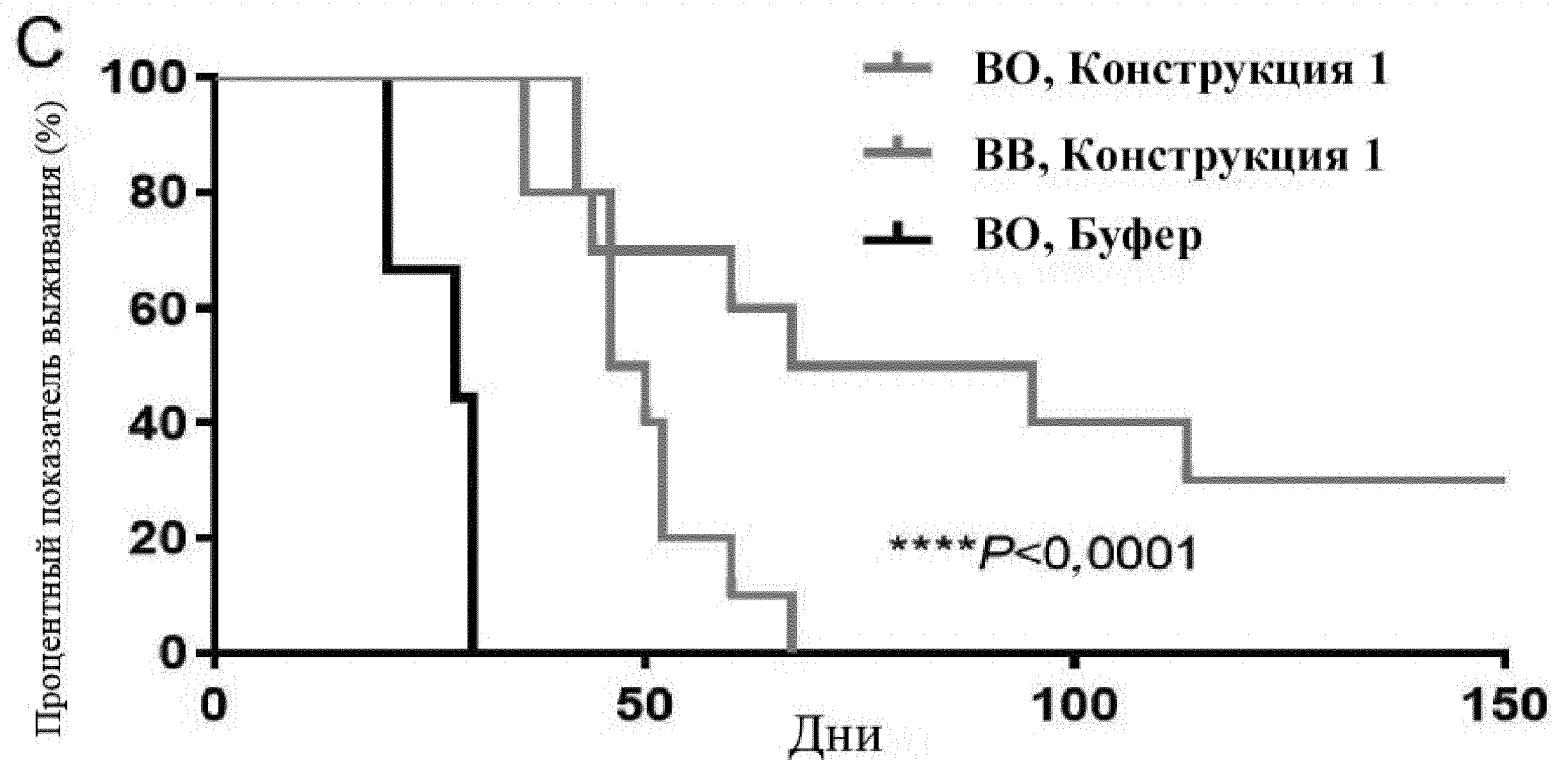


ФИГ. 3А

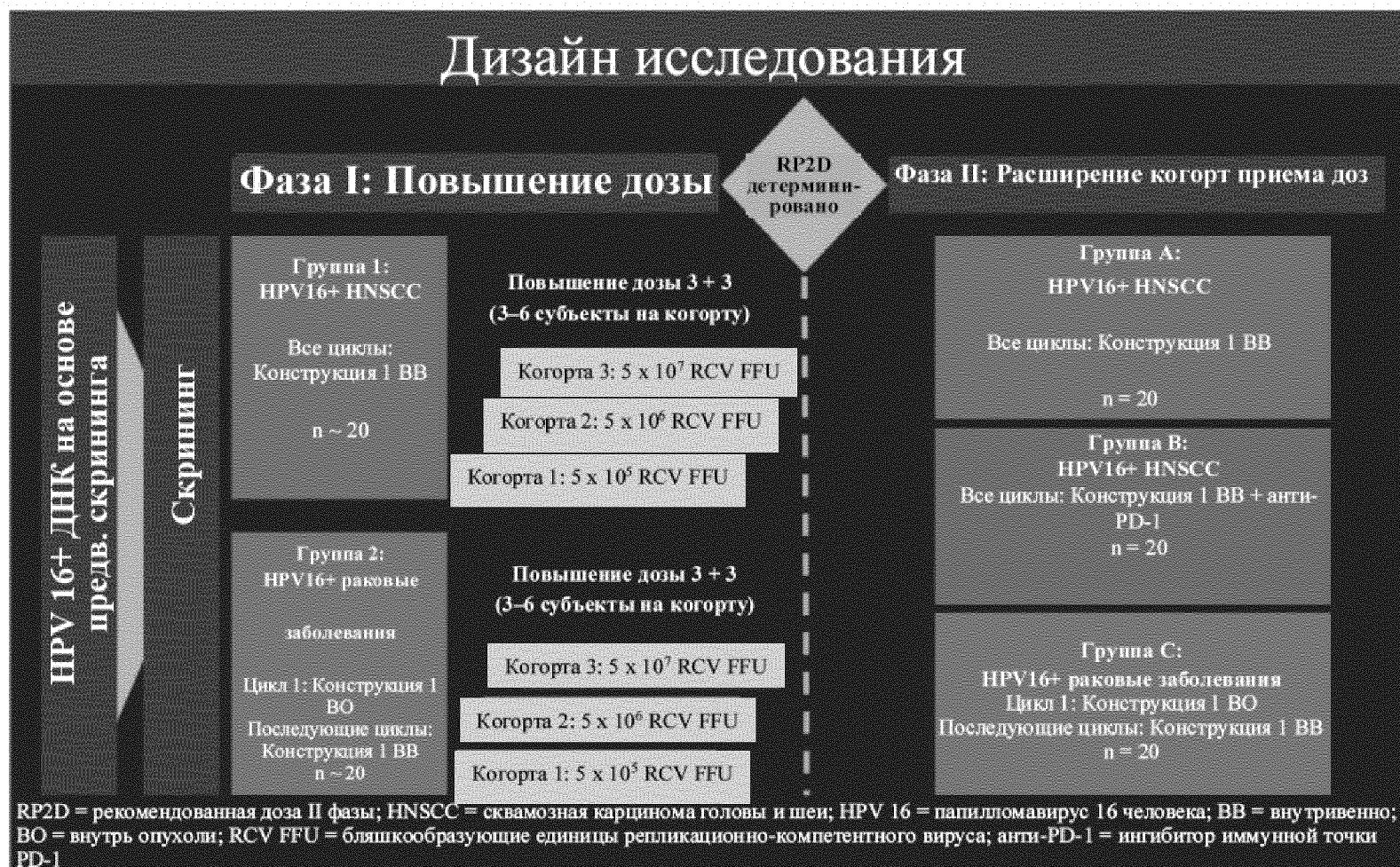


ФИГ. 3В

Контроль опухоли — Выживаемость (Эффективность)



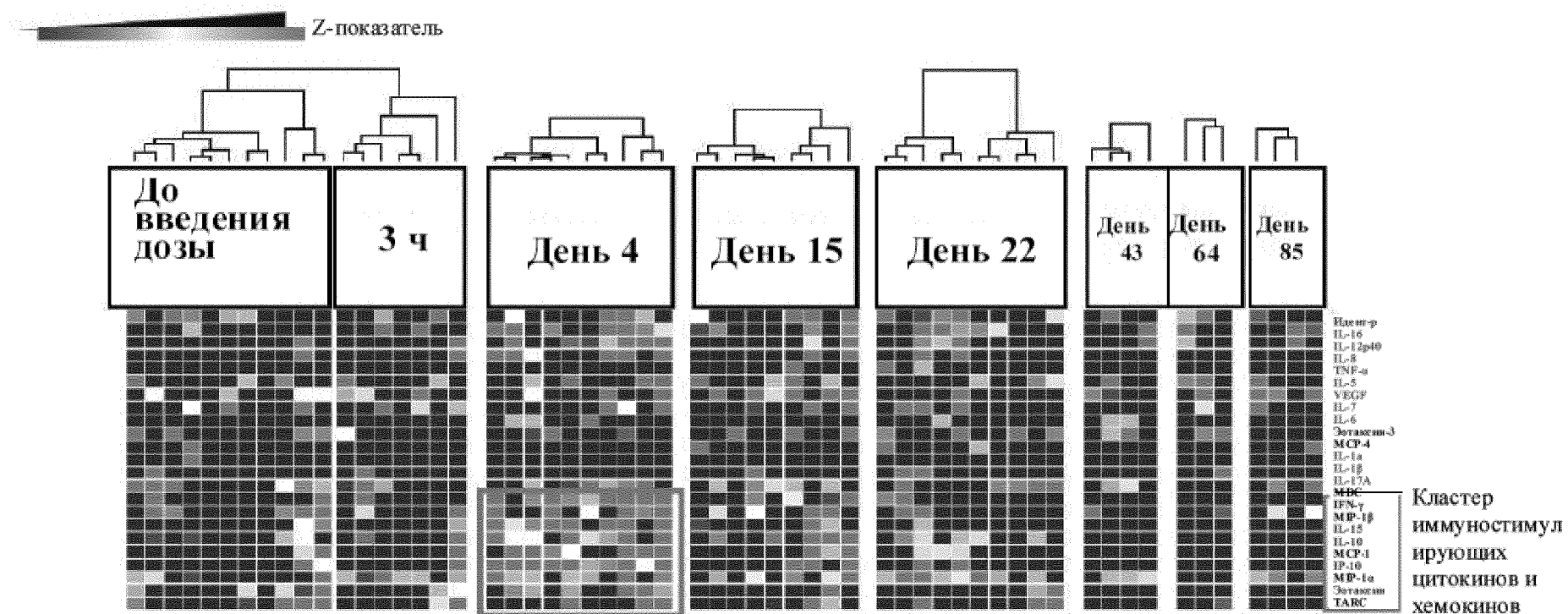
ФИГ. 3С



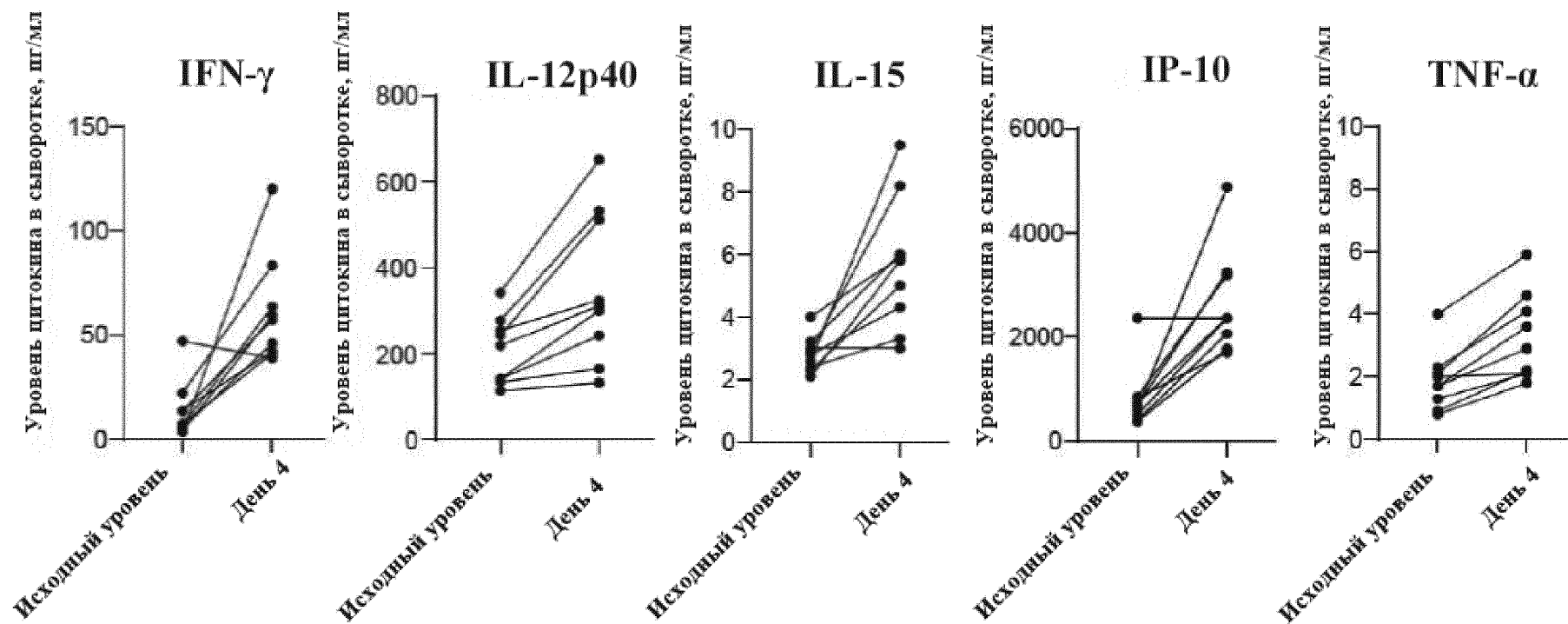
ФИГ. 4



ФИГ. 5

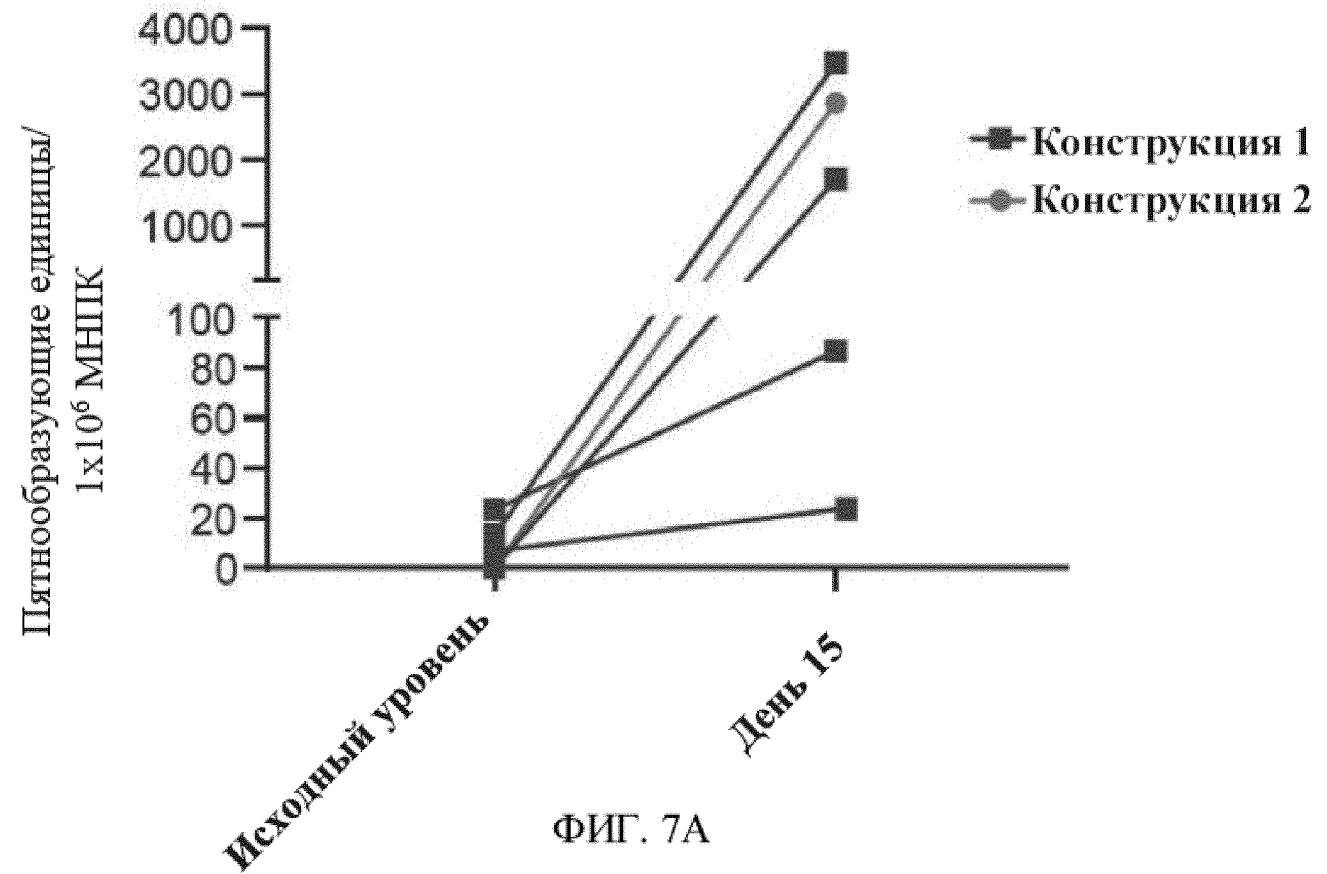


ФИГ. 6А

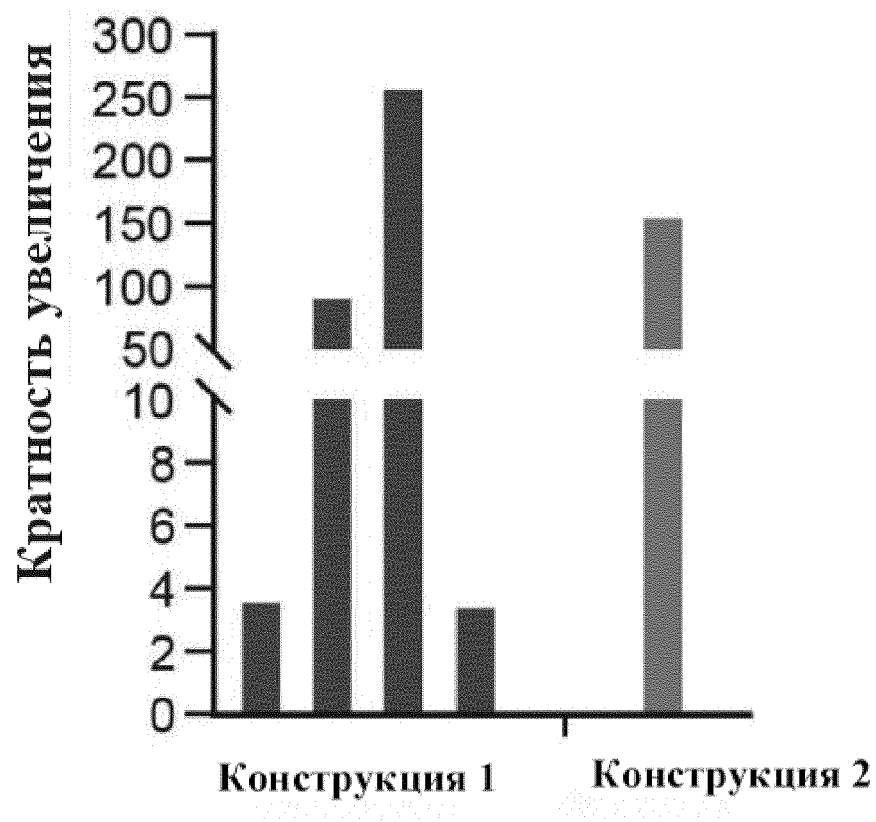


ФИГ. 6В

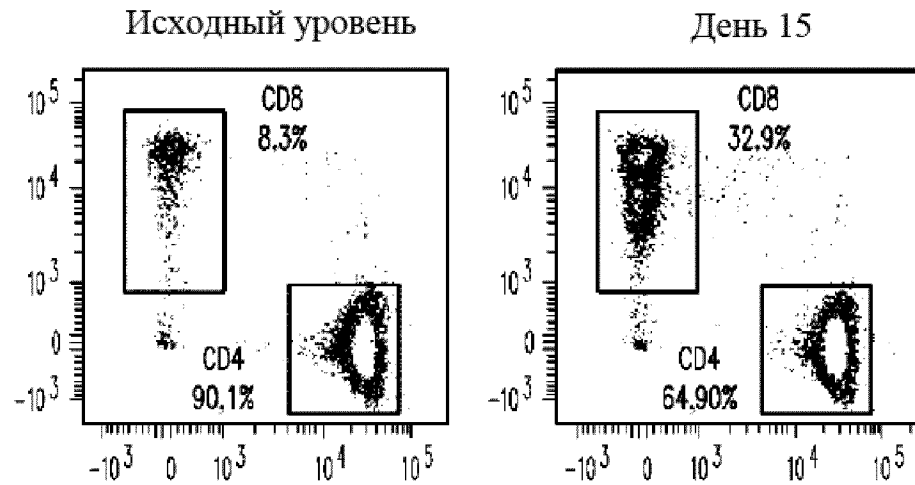
Изменение по пятнообразующим единицам



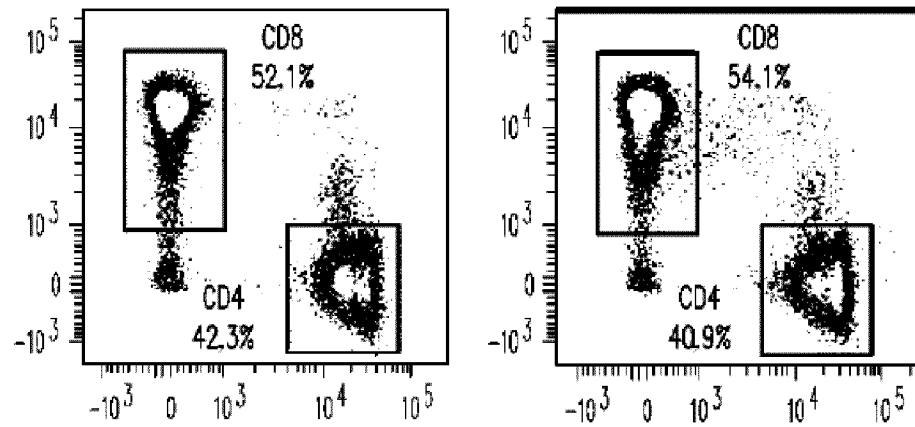
Кратность увеличения по E6/E7-специфическим Т-клеткам



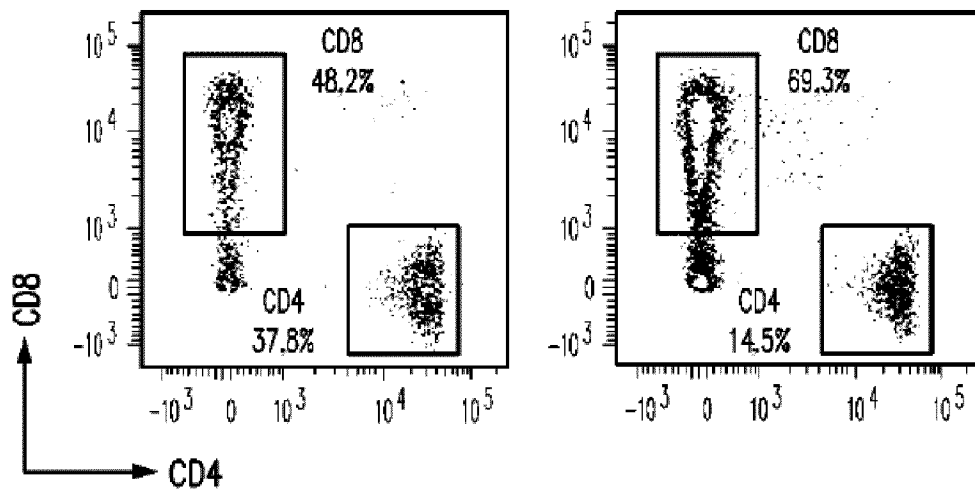
ФИГ. 7В



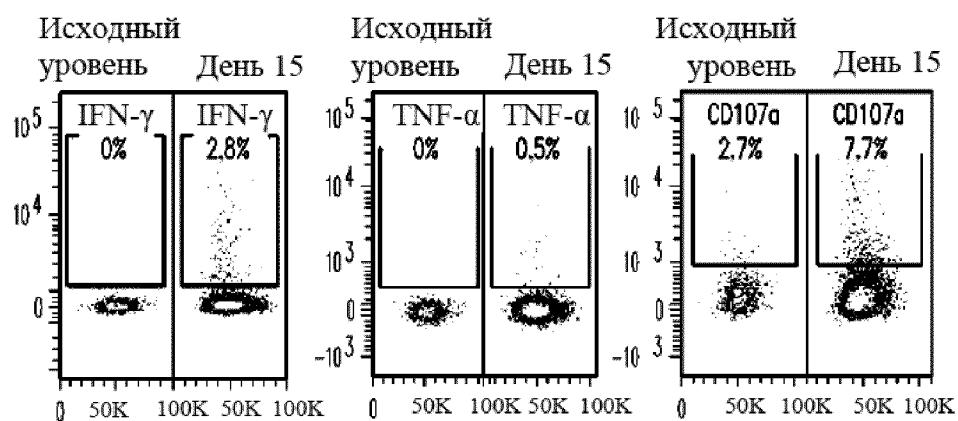
ФИГ. 7C



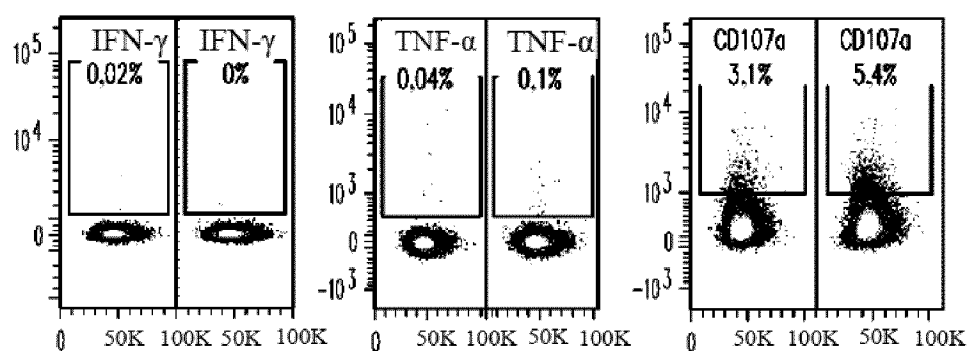
ФИГ. 7D



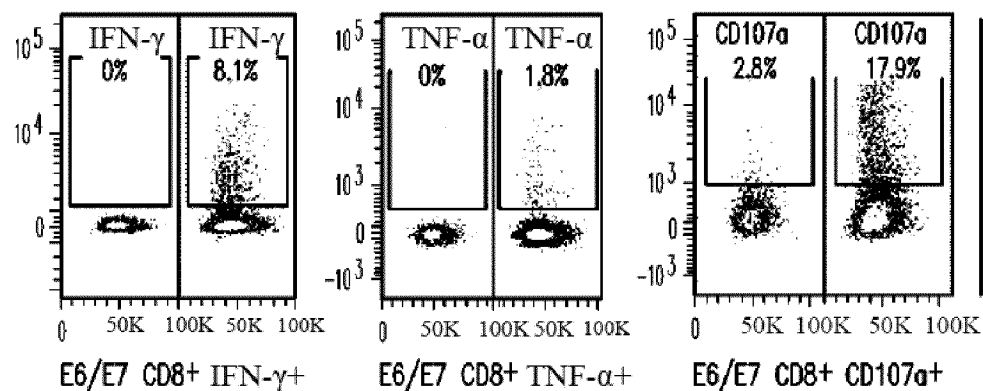
ФИГ. 7E



ФИГ. 7C, продолжение



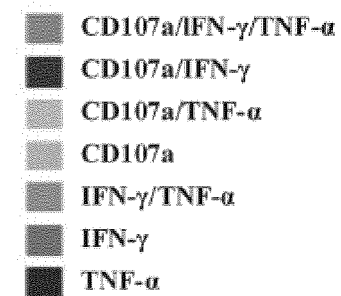
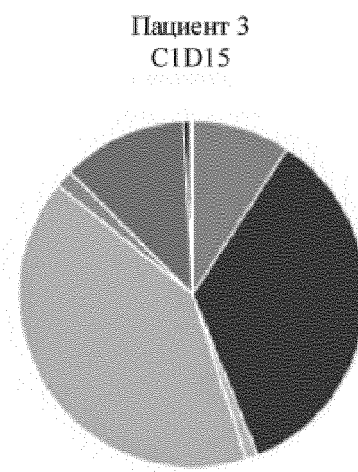
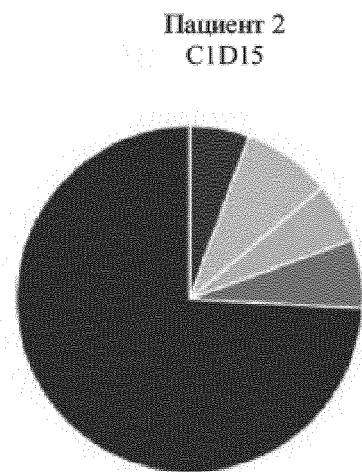
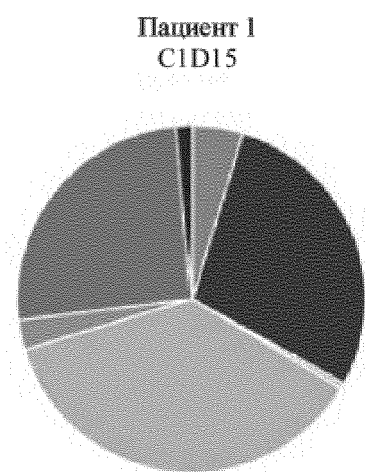
ФИГ. 7D, продолжение



ФИГ. 7E, продолжение

Конструкция 1 BV

Конструкция 2 BV



Конструкция 1 ВВ после однократной дозы

Конструкция 2 ВВ после однократной дозы

C1D15, цикл 1 день 15.

ФИГ. 7F

GCGCACCGGG	GATCCTAGGC	TTTTTGGATT	GCGCTTTCT	CTAGATCAAC	50
TGGGTGTGAG	GCCCTATCCT	ACAGAAGGAT	GCATGGTGAC	ACCCCCACCC	100
TGCATGAGTA	CATGCTGGAC	CTGCAGCCAG	AGACCACAGA	CCTGTATGGC	150
TATGGCCAGC	TGAATGACAG	CAGTGAGGAA	GAGGATGAGA	TTGATGGGCC	200
AGCAGGCCAG	GCAGAACCCTG	ACAGAGCCCA	CTACAACATT	GTACACCTTCT	250
GCTGCAAGTG	TGACAGCACC	CTGAGACTGT	GTGTGCAGAG	CACCCATGTG	300
GACATCAGAA	CCCTGGAAGA	CCTGCTGATG	GGCACCTGG	GCATTGTGG	350
CCCCATCTGC	TCCCAGAAGC	CCCACCAGAA	AAGAAGTGGC	ATGTTCCAGG	400
ACCCCCAGGA	GAGGCCCAGA	AAGCTGCCCC	AGCTCTGCAC	AGAGCTGCAG	450
ACCACCATCC	ATGACATCAT	CCTGGAATGT	GTCTACTCCA	AGCAGCAGCT	500
GCTGAGGAGA	GAGGTGTATG	ACTTTGCCCTT	CAGGGACCTG	TGCATTGTGT	550
ACAGGGATGG	CAACCCCTAT	GCTGTGGGGG	ACAAGTGCCCT	CAAGTTCTAC	600
AGCAAGATCA	GTGAGTACAG	GCACTACTGC	TACAGCCTGT	ATGGCACCAC	650
CCTGGAACAG	CAGTACAACA	AGCCCTGTG	TGACCTCCTG	ATCAGATGCA	700
TCAATGGCCA	GAAACCCCTC	TGCCCTGAGG	AAAAGCAGAG	ACACCTGGAC	750
AAGAAGCAGA	GGTTCCACAA	CATCAGAGGC	AGGTGGACAG	GCAGATGCAT	800
GAGCTGCTGC	AGAAGCAGCA	GAACCAGAA	AGAGACCCAG	CTGTGAAGAA	850
CAGCGCCTCC	CTGACTCTCC	ACCTCCAAAG	AGGTGGAGAG	TCAGGGAGGC	900
CCAGAGGGTC	TTAGAGTGTG	ACAACATTG	GGCCTCTAAA	AATTAGGTCA	950
TGTGGCAGTA	TTTGTGTAAC	AGTTTTGAGA	TCTGGGAGCC	TTGCTTTGGA	1000
GGCGCTTTCA	AAAATGATGC	AGTCCATGAG	TGCACAGTGC	GGGGTGATCT	1050
CTTTCTTCTT	TTTGTCCCTT	ACTATTCCAG	TATGCATCTT	ACACAACCAG	1100
CCATATTTGT	CCCACACTTT	ATCTTCATAC	TCCCTCGAAG	CTTCCCTGGT	1150
CATTTCAACA	TGGATAAGCT	TAATGTCTT	CCTATTTTGT	GAGTCCAGAA	1200
GCTTTCTGAT	GTGATCGGAG	CCTTGACAGC	TTAGAACCAT	CCCCTGCGGA	1250
AGAGCACCTA	TAAGTGACGA	GGTCAACCCG	GGTTGCGCAT	TGAAGAGGTC	1300
GGCAAGATCC	ATGCCGTGTG	AGTACTTGGA	ATCTTGCTTG	AATTGTTTTT	1350
GATCAACGGG	TTCCCTGTAA	AAGTGTATGA	ACTGCCCGTT	CTGTGGTTGG	1400
AAAATTGCTA	TTTCCACTGG	ATCATTAAT	CTACCCCTCA	TGTCAATCCA	1450
TGTAGGAGCG	TTGGGGTCAA	TTCTCCCAT	GAGGTCTTTT	AAAAGCATTG	1500
TCTGGCTGTA	GCTTAAGCCC	ACCTGAGGTG	GACCTGCTGC	TCCAGGCGCT	1550
GGCCTGGGTG	AGTTGACTGC	AGGTTTCTCG	CTTGTGAGAT	CAATTGTTGT	1600
GTTTTCCCAT	GCTCTCCCCA	CAATCGATGT	TCTACAAGCT	ATGTATGGCC	1650
ATCCTTCACC	TGAAAGGCAA	ACTTTATAGA	GGATGTTTTT	ATAAGGGTTC	1700
CTGTCCCCAA	CTTGGTCTGA	AACAAACATG	TTGAGTTTTT	TCTTGGCCCC	1750
GAGAAGTGGC	TTCAAGAGAT	CCTCGCTGTT	GCTTGGCTTG	ATCAAAATTG	1800
ACTCTAACAT	GTTACCCCCA	TCCAACAGGG	CTGCCCTGCT	CTTCACGGCA	1850
GCACCAAGAC	TAAAGTTATA	GCCAGAAATG	TTGATGCTGG	ACTGCTGTTT	1900
AGTGATGACC	CCCAGAACTG	GGTGCTTGTC	TTTCAGCCTT	TCAAGATCAT	1950
TAAGATTGGT	ATACCTGACT	GTGTAAGCA	AGCCAAGGTC	TGTGAGCGCT	2000
TGTACAACGT	CATTGAGCGG	AGTCTGTGAC	TGTTTGGCCA	TACAAGCCAT	2050
AGTTAGACTT	GGCATGTGTC	CAAAATGATT	GTTCAAAAGT	GATGAGTCTT	2100
TCACATCCCA	AACCTTTACC	ACACCCTTGG	CACCCTGCTG	AGGCTTTCTC	2150
ATCCCAACTA	TCTGTAGGAT	CTGAGATCTT	TGGTCTAGTT	GCTGTGTTGT	2200
TAAGTTCCCT	ATATATACCC	CTGAAGCCTG	GGGCTTTTCA	GACCTCATGA	2250
TCTTGGCCTT	CAGCTTCTCA	AGGTCAGCCG	CAAGAGACAT	CAGTTCTTCT	2300
GCACTGAGCC	TCCCCACTTT	CAAAACATTC	TTCTTTGATG	TTGACTTTAA	2350
ATCCACAAGA	GAATGTACAG	TCTGGTTGAG	ACTTCTGAGT	CTCTGTAGGT	2400
CTTTGTGATC	TCTCTTTTCC	TTCCTCATGA	TCCCTGGAAC	ATTGCTGACC	2450
TCAGAGAAGT	CCAACCCATT	CAGAAGGTTG	GTTGCATCCT	TAATGACAGC	2500
AGCCTTCACA	TCTGATGTGA	AGCTCTGCAA	TTCTCTTCTC	AATGCTTGCG	2550
TCCATTGGAA	GCTCTTAACT	TCCTTAGACA	AGGACATCTT	GTTGCTCAAT	2600
GGTTTCTCAA	GACAAATGCG	CAATCAATG	CCTAGGATCC	ACTGTGCG	2648

Условные обозначения:

5'UTR и 3'UTR (не выделены)

NP кл13 LCMV

Вставка E7/E6 HPV16

IGR


```

GCGCACCGGG GATCCTAGGC TTTTGGATT GCGCTTTCCT CTAGATCAAC 50
TGGGTGTCAG GCCCTATCCT ACAGAAGGAT GCATGGTGAC ACCCCCACCC 100
TGCATGAGTA CATGCTGGAC CTGCAGCCAG AGACCACAGA CCTGTATGGC 150
TATGGCCAGC TGAATGACAG CAGTGAGGAA GAGGATGAGA TTGATGGGCC 200
AGCAGGCCAG GCAGAACCTG ACAGAGCCCA CTACAACATT GTCACCTTCT 250
GCTGCAAGTG TGACAGCACC CTGAGACTGT GTGTGCAGAG CACCCATGTG 300
GACATCAGAA CCCTGGAAGA CCTGCTGATG GGCACCCCTGG GCATTGTGGG 350
CCCCATCTGC TCCCAGAAGC CCCACCAGAA AAGAAGCTGCC ATGTTCCAGG 400
ACCCCCAGGA GAGGCCCAGA AAGCTGCCCC AGCTCTGCAC AGAGCTGCAG 450
ACCACCATCC ATGACATCAT CCTGGAATGT GTCTACTGCA AGCAGCAGCT 500
GCTGAGGAGA GAGGTGTATG ACTTTGCCCT CAGGGACCTG TGCATTGTGT 550
ACAGGGATGG CAACCCCTAT GCTGTGGGGG ACAAGTGCCT CAAGTTCTAC 600
AGTAAGATCA GTGAGTACAG GCACTACTGC TACAGCCTGT ATGGCACCAC 650
CCTGGAACAG CAGTACAACA AGCCCTGTG TGACCTCCTG ATCAGATGCA 700
TCAATGGCCA GAAACCCCTC TGCCCTGAGG AAAAGCAGAG ACACCTGGAC 750
AAGAAGCAGA GGTTCACAA CATCAGAGGC AGGTGGACAG GCAGATGCAT 800
GAGCTGCTGC AGAAGCAGCA GAACCAGAAG AGAGACCCAG CTGTGAAGAA 850
CAGCGCCTCC CTGACTCTCC ACCTCGAAG AGGTGGAGAG TCAGGGAGGC 900
CCAGAGGGTG CTAGCGTCTT TTCCAGATAG TTTTACACC AGGCACCTTG 950
AATGCACCAC AACTACAGAT CCCCTTGTG GTCAAGCGGT GTGGCTTTGG 1000
ACATGAACCG CCCTTTATGT GTCTATGTGT TGGTATCTTC ACAAGATGCA 1050
GAAAGATGCT GATTAGATAT GCTGATGTTG AAAACATCAA AAGATCCATT 1100
AAGGCTAAAG GAGTACTCCC TTGTCTTTTT ATGTAGTCTT TCCTCAACAT 1150
CTCTGTGATC ATGTTATCTG CTTCTTGTTC GATTTGATCA CTAAGTGGG 1200
TCTCATTCAA GTAGGAGCCA TTAGTGACAA GCCAGCACTT GGGTACACTA 1250
GTCTCACCAG TCTTAGCATG TTCCAGATAC CAGAACTTTG AGTAATTACA 1300
GTATGATACC CCCATTAGAT CTCTTAGATG ATTCCTCATC AACAGCTGAT 1350
CGGAAATCAG AGAATTTACT GTTGTTTTGA ATACATGCAA GGCAGACTCT 1400
ACATCTTGCT TGAACCTACT CAGGGCGGCC TTGTTGTAAT CAATTAGTCG 1450
TAGCATGTCA CAGAACTCTT CATCATGATT GACATTACAT TTTGCAACAG 1500
CTGTATTCCT AAAACATTTG AGCTCTGCAG CAAGGATCAT CCATTTGGTC 1550
AGGCAATAAC CACCTGGATT TTCTACTCCT GAGGAGTCTG ACAGGGTCCA 1600
GGTGAATGTG CCTGCAAGTC TCCTAGTGAG AAACCTTGTG TTTTCTGAG 1650
CAAAGAGGAT TCTAGACATC CCAAAGGGC CTGCATATCT ACAGTGGTTT 1700
TCCCAAGTCC TGTTTTGTAT GATTAGGTAC TGATAGCTTG TTTGGCTGCA 1750
CCAAGTGGTC TTGCCATCTG AACCTGCCCA GCCCCAGCCA CTTCTCATGT 1800
ATTTTCTCTC AAAGGCAGTT CTAAACATGT CCAAGACTCT ACCTCTGAAA 1850
GTCCTACACT GGCTTATAGC GCTCTGTGGG TCCGAAATG ACAAGTTGTA 1900
TTGAATGGTG ATGCCATTGT TAAATCACA AGACACTGCT TTGTGGTTGG 1950
AATTCCTCT AATACTGAGG TGCAGACTCG AGACTATACT CATGAGTGTA 2000
TGGTCAAAAG TCTTTTGTG GAAAGCGGAG GTTAAGTTGC AAAAATGTG 2050
ATTAAGGATG GAGTCGTTAG TGAAAGTTAG CTCCAGTCCA GAGCTTCCA 2100
TACTGATGTA GTGATGAGAG TTGTTGGCTG AGCAGCATT GGCATCGTC 2150
AGATTTAAGT GAGACATATC AAACCTCACT GATTTGAACT GGTAAACCCC 2200
TTTATAGATG TCGGGACCAT TAAGGCCGTA CATGCCACAG GACCTACCAG 2250
CCAAAAAAG GAAGCTGACC AGTGCTAATA TCCCACAGGT GCGGAAATTG 2300
TACACAGCTT TGATGCTCGT GATTATAATG AGCACAATAA TGACAATGTT 2350
GATGACCTCA TCAATGATGT GAGGCAAAGC CTCAAACATT GTCACAATCT 2400
GACCCATCTT GTTGCTCAAT GGTTCCTCAA GACAAATGCG CAATCAAATG 2450
CCTAGGATCC ACTGTGCG 2468

```

Условные обозначения:

5'UTR и 3'UTR (не выделены)

GP WE LCMV

Вставка E7E6 HPV16

IGR

GCGCACCGGG	GATCCTAGGC	GTTTAGTTGC	GCTGTTTGGT	TGCACAACCTT	50
TCCTCGTGAG	GCTGTCAGAA	GTGGACCTGG	CTGATAGCGA	TGGGTCAAGG	100
CAAGTCCAGA	GAGGAGAAAG	GCACCAATAG	TACAAACAGG	GCCGAAATCC	150
TACCAGATAC	CACCTATCTT	GGCCCTTTAA	GCTGCAAATC	TTGCTGGCAG	200
AAATTTGACA	GCTTGGTAAG	ATGCCATGAC	CACTACCTTT	GCAGGCACCTG	250
TTTAAACCTT	CTGCTGTCAG	TATCGACAG	GTGTCCTCTT	TGTAAATATC	300
CATTACCAAC	CAGATTGAAG	ATATCAACAG	CCCCAAGCTC	TCCACCTCCC	350
TACGAAGAGT	AACACCGTCC	GGCCCCGGCC	CCGACAAACA	GCCCAGCACA	400
AGGGAACCGC	ACGTCAACCA	ACGCACACAG	ACACAGCACC	CAACACAGAA	450
CACGCACACA	CACACACACA	CACACCCACA	CGCACGCGCC	CCCACCACCG	500
GGGGGCGCCC	CCCCCGGGG	GGCGGCCCCC	CGGGAGCCCG	GGCGGAGCCC	550
CACGGAGATG	CCCATCAGTC	GGTGTCTCTG	GCCACCGACC	CGCCTAGCCA	600
ATCGTGCAG	GACCTCCCCT	TGAGTCTAAA	CCTGCCCCCC	ACTGTTTCAT	650
ACATCAAAGT	GCTCCTAGAT	TTGCTAAAC	AAAGTCTGCA	ATCCTTAAAG	700
GCGAACCAGT	CTGGCAAAG	CGACAGTGGA	ATCAGCAGAA	TAGATCTGTC	750
TATACATAGT	TCCTGGAGGA	TTACACTTAT	CTCTGAACCC	AACAAATGTT	800
CACCAGTTCT	GAATCGATGC	AGGAAGAGGT	TCCCAAGGAC	ATCACTAATC	850
TTTTCATAGC	CCTCAAGTCC	TGCTAGAAAG	ACTTTCATGT	CCTTGGTCTC	900
CAGCTTCACA	ATGATATTTT	GGACAAGGTT	TCTTCCTTCA	AAAAGGGCAC	950
CCATCTTTAC	AGTCAGTGGC	ACAGGCTCCC	ACTCAGGTCC	AACCTCTCTCA	1000
AAGTCAATAG	ATCTAATCCC	ATCCAGTATT	CTTTTGGAGC	CCAACAACCTC	1050
AAGCTCAAGA	GAATCACCAG	GTATCAAGGG	ATCTTCCATG	TAATCCTCAA	1100
ACTCTTCAGA	TCTGATATCA	AAGACACCAT	CGTTCACCTT	GAAGACAGAG	1150
TCTGTCTCA	GTAAGTGGAG	GCATTCAATC	AACATTCTTC	TATCTATCTC	1200
ACCCTTAAAG	AGGTGAGAGC	ATGATAAAAG	TTCAGCCACA	CCTGGATTCT	1250
GTAATTGGCA	CCTAACCAAG	AATATCAATG	AAAATTTCCCT	TAAACAGTCA	1300
GTATTATTCT	GATTGTGCGT	AAAGTCCACT	GAAATTGAAA	ACTCCAATAC	1350
CCCTTTTGTG	TAGTTGAGCA	TGTAGTCCCA	CAGATCCCTT	AAGGATTTAA	1400
ATGCCCTTGG	GTTTGTCCAG	CCCTGCCCTAA	TCAACATGGC	AGCATTACAC	1450
ACAACATAAC	CCATTCCGTA	AGAGAACCAC	CCAAAACCAA	ACTGCAAATC	1500
ATTCCATAAC	ATAGGCCCTCT	CCACATTTTT	GTTCAACCACC	TTTGAGACAA	1550
ATGATTGAAA	GGGGCCCCAGT	GCCTCAGCAC	CATCTTCAGA	TGGCATCATT	1600
TCTTTATGAG	GGAACCATGA	AAAATTGCCT	AATGTCTCTGG	TTGTTGCAAC	1650
AAATTCTCGA	ACAAATGATT	CAAAATACAC	CTGTTTTAAG	AAGTTCCTGC	1700
AGACATCCCT	CGTGCTAACA	ACAAATTCAT	CAACCAGACT	GGAGTCAGAT	1750
CGCTGATGAG	AATTGGCAAG	GTCAGAAAAC	AGAACAGTGT	AATGTTTCATC	1800
CCTTTTCCAC	TTAACAACAT	GAGAAATGAG	TGACAAGGAT	TCTGAGTTAA	1850
TATCAATTAA	AACACAGAGG	TCAAGGAATT	TAATTCTGGG	ACTCCACCTC	1900
ATGTTTTTTG	AGCTCATGTC	AGACATAAAT	GGAAGAAGCT	GATCCTCAAA	1950
GATCTTGGGA	TATAGCCGCC	TCACAGATTG	AATCACTTGG	TTCAAATTCA	2000
CTTTGTCTCT	CAGTAGCCCT	GAGCTCTCAG	GCTTTCTTGC	TACATAATCA	2050
CATGGGTTTA	AGTGCTTAAG	AGTTAGGTTT	TCACTGTTAT	TCTTCCCTTT	2100
GGTCGGTTCT	GCTAGGACCC	AAACACCCAA	CTCAAAAGAG	TTGCTCAATG	2150
AAATACAAAT	GTAGTCCCAA	AGAAGAGGCC	TTAAAAGGCA	TATATGATCA	2200
CGGTGGGCTT	CTGGATGAGA	CTGTTTGTCA	CAAATGTACA	GCCTTATACC	2250
ATCCCGATTG	CAAACCTTTG	TCACATGATC	ATCTGTGGTT	AGATCCTCAA	2300
GCAGCTTTTT	GATATACAGA	TTTTCCCTAT	TTTTGTTTCT	CACACACCTG	2350
CTTCCTAGAG	TTTTGCAAAG	GCCTATAAAG	CCAGATGAGA	TACAACCTCTG	2400
GAAAGCTGAC	TTGTTGATTG	CTTCTGACAG	CAGCTTCTGT	GCACCCCTTG	2450
TGAATTTACT	ACAAAGTTTG	TTCTGGAGTG	TCTTGATCAA	TGATGGGATT	2500
CTTTCTCTCT	GGAAAGTCAT	CACTGATGGA	TAAACCACCT	TTTGTCTTAA	2550
AACCATCCTT	AATGGGAACA	TTTCATTCAA	ATTCAACCAG	TTAACATCTG	2600
CTAACTGATT	CAGATCTTCT	TCAAGACCGA	GGAGGTCTCC	CAATTGAAGA	2650
ATGGCCTCCT	TTTTATCTCT	GTAAATAGG	TCTAAGAAAA	ATTCTTCATT	2700
AAATTCACCA	TTTTTGAGCT	TATGATGCAG	TTTCCTTACA	AGCTTTCTTA	2750
CAACCTTTGT	TTCAATTAGGA	CACAGTTCCT	CAATGAGTCT	TTGTATTCTG	2800

TAACCTCTAG	AACCATCCAG	CCAATCTTTC	ACATCAGTGT	TGGTATTGAG	2850
TAGAAATGGA	TCCAAAGGGA	AATTGGCATA	CTTTAGGAGG	TCCAGTGTTC	2900
TCCTTTGGAT	ACTATTAAC	AGGGAGACTG	GGACGCCATT	TGCGATGGCT	2950
TGATCTGCAA	TTGTATCTAT	TGTTTCACAA	AGTTGATGTG	GCTCTTTACA	3000
CTTGACATTG	TGTAGCGCTG	CAGATACAAA	CTTTGTGAGA	AGAGGGACTT	3050
CCTCCCCCCA	TACATAGAAT	CTAGATTTAA	ATTCTGCAGC	GAACCTCCCA	3100
GCCACACTTT	TTGGGCTGAT	AAATTTGTTT	AACAAGCCGC	TCAGATGAGA	3150
TTGGAATTCC	AACAGGACAA	GGACTTCCTC	CGGATCACTT	ACAACCAGGT	3200
CACTCAGCCT	CCTATCAAAT	AAAGTGATCT	GATCATCACT	TGATGTGTAA	3250
GCCTCTGGTC	TTTCGCCAAA	GATAACACCA	ATGCAGTAGT	TGATGAACCT	3300
CTCGCTAAGC	AAACCATAGA	AGTCAGAAGC	ATTATGCAAG	ATTCCCTGCC	3350
CCATATCAAT	AAGGCTGGAT	ATATGGGATG	GCACATATCC	CATTTCAAAA	3400
TATTGTCTGA	AAATTCTCTC	AGTAACAGTT	GTTTCTGAAC	CCCTGAGAAG	3450
TTTTAGCTTC	GACTTGACAT	ATGATTTTCT	CATTGCATTC	ACAACAGGAA	3500
AGGGGACCTC	GACAAGCTTA	TGCATGTGCC	AAGTTAACAA	AGTGCTAACA	3550
TGATCTTTCC	CGGAACGCAC	ATACTGGTCA	TCACCTAGTT	TGAGATTTTG	3600
TAGAAACATT	AAGAACAAAA	ATGGGCACAT	CATTGGTCCC	CATTTGCTGT	3650
GATCCATACT	ATAGTTTAA	AACCCCTCCC	GCACATTGAT	AGTCATTGAC	3700
AAGATTGCAT	TTTCAAATTC	CTTATCATTG	TTTAAACAGG	AGCCTGAAAA	3750
GAAACTTGAA	AAAGACTCAA	AATAATCTTC	TATTAACCTT	GTGAACATTT	3800
TTGTCCCTCA	ATCTCCAATA	TAGAGTTCTC	TATTTCCCCC	AACCTGCTCT	3850
TTATAAGATA	GTGCAAATTT	CAGCCTTCCA	GAGTCAGGAC	CTACTGAGGT	3900
GTATGATGTT	GGTGATTCTT	CTGAGTAGAA	GCACAGATTT	TTCAAAGCAG	3950
CACTCATACA	TTGTGTCAAC	GACAGAGCTT	TACTAAGGGA	CTCAGAATTA	4000
CTTTCCCTCT	CACGTATTCT	CACGTCTTCT	TCCAGTTTGT	CCCAGTCAAA	4050
TTTGAAATTC	AAGCCTTGCC	TTTGCATATG	CCTGTATTTC	CCTGAGTACG	4100
CATTTGCATT	CATTTGCAAC	AGAATCATCT	TCATGCAAGA	AAACCAATCA	4150
TTCTCAGAAA	AGAACTTTCT	ACAAAGGTTT	TTTGCCATCT	CATCGAGGCC	4200
ACACTGATCT	TTAATGACTG	AGGTGAAATA	CAAGGTGAC	AGCTCTGTGG	4250
AACCCCTCAAC	AGCCTCACAG	ATAAATTTCA	TGTCATCAAT	GGTTAGACAT	4300
GATGGGTCAA	AGTCTTCTAC	TAAATGGAAA	GATAATTCTG	ACAAGATAAC	4350
TTTTCTTAAG	TGAGCCATCT	TCCCTGTTAG	AATAAGCTGT	AAATGATGTA	4400
GTCCCTTTGT	ATTTGTAAGT	TTTTCTCCAT	CTCCTTTGTC	ATTGGCCCTC	4450
CTACCTCTTC	TGTACCGTGC	TATTGTGGTG	TTGACCTTTT	CTTCGAGACT	4500
TTTGAAGAAG	CTTGTCTCTT	CTTCTCCATC	AAACATATT	TCTGCCAGGT	4550
TGTCTTCCGA	TCTCCCTGTC	TCTTCTCCCT	TGGAACCGAT	GACCAATCTA	4600
GAGACTAACT	TGGAAACTTT	ATATTCATAG	TCTGAGTGGC	TCAACTTATA	4650
CTTTTGTTTT	CTTACGAAAC	TCTCCGTAAT	TTGACTCACA	GCACATAACA	4700
GCAATTTGTT	AAAGTCATAT	TCCAGAAGTC	GTTCTCCATT	TAGATGCTTA	4750
TTAACCACCA	CACTTTGTGT	ACTAGCAAGA	TCTAATGCTG	TCGCACATCC	4800
AGAGTTAGTC	ATGGGATCTA	GGCTGTTTAG	CTTCTTCTCT	CCTTTGAAAA	4850
TTAAAGTGCC	GTTGTAAAT	GAAGACACCA	TTAGGCTAAA	GGCTTCCAGA	4900
TTAACACCTG	GAGTTGTATG	CTGACAGTCA	ATTTCTTTAC	TAGTGAATCT	4950
CTTCATTTCG	TCATAGAACA	CACATTCTTC	CTCAGGAGTG	ATTGCTTCCT	5000
TGGGGTTGAC	AAAAAAACCA	AATTGACTTT	TGGGCTCAAA	GAACTTTTC	5050
AAACATTTTA	TCTGATCTGT	TAGCCTGTCA	GGGGTCTCCT	TTGTGATCAA	5100
ATGACACAGG	TATGACACAT	TCAACATAAA	TTTAAATTTT	GCACTCAACA	5150
ACACCTTCTC	ACCAGTACCA	AAAATAGTTT	TTATTAGGAA	TCTAAGCAGC	5200
TTATACACCA	CCTTCTCAGC	AGGTGTGATC	AGATCCTCCC	TCAACTTATC	5250
CATTAAATGAT	GTAGATGAAA	AATCTGACAC	TATTGCCATC	ACCAAATATC	5300
TGACACTCTG	TACCTGCTTT	TGATTTCTCT	TTGTTGGGTT	GGTGAGCATT	5350
AGCAACAATA	GGGTCTCAG	TGCAACCTCA	ATGTCGGTGA	GACAGTCTTT	5400
CAAATCAGGA	CATCATCTAA	TCCATGAAT	CATGATCTCT	ATCATATTGT	5450
ATAAGACCTC	ATCTGAAAAA	ATTGGTAAAA	AGAACCTTTT	AGGATCTGCA	5500
TAGAAGGAAA	TTAAATGACC	ATCCGGGCCT	TGTATGGAGT	AGCACCTTGA	5550
AGATTCTCCA	GTCTTCTGGT	ATAATAGGTG	GTATTCTTCA	GAGTCCAGTT	5600
TTATTACTTG	GCAAAACACT	TCTTTGCATT	CTACCACTTG	ATATCTCACA	5650
GACCCTATTT	GATTTTGCTT	TAGTCTAGCA	ACTGAGCTAG	TTTTCATACT	5700

ФИГ. 10, продолжение

GTTTGTTAAG	GCCAGACAAA	CAGATGATAA	TCTTCTCAGG	CTCTGTATGT	5750
TCTTCAGCTG	CTCTGTGCTG	GGTTGGAAAT	TGTAATCTTC	AAACTTCGTA	5800
TAATACATTA	TCGGGTGAGC	TCCAATTTTC	ATAAAGTTCT	CAAATTCAGT	5850
GAATGGTATG	TGGCATTCTT	GCTCAAGGTG	TTCAGACAGT	CCGTAATGCT	5900
CGAAACTCAG	TCCCACCACT	AACAGGCATT	TTTGAATTTT	TGCAATGAAC	5950
TCACTAATAG	ATGCCCTAAA	CAATTCCTCA	AAAGACACCT	TTCTAAACAC	6000
CTTTGACTTT	TTTCTATTCC	TCAAAAGTCT	AATGAACCTC	TCTTTAGTGC	6050
TGTGAAAGCT	TACCAGCCTA	TCATTACACAC	TACTATAGCA	ACAACCCACC	6100
CAGTGTTTAT	CATTTTTTAA	CCCTTTGAAT	TTCGACTGTT	TTATCAATGA	6150
GGAAAGACAC	AAAACATCCA	GATTTAACAA	CTGTCTCCTT	CTAGTATTCA	6200
ACAGTTTCAA	ACTCTTGACT	TTGTTTAACA	TAGAGAGGAG	CCTCTCATAT	6250
TCAGTGCTAG	TCTCACTTCC	CCTTTCGTGC	CCATGGGTCT	CTGCAGTTAT	6300
GAATCTCATC	AAAGGACAGG	ATTCGACTGC	CTCCCTGCTT	AATGTTAAGA	6350
TATCATCACT	ATCAGCAAGG	TTTTCATAGA	GCTCAGAGAA	TTCTTGATC	6400
AAGCCTTCAG	GGTTTACTTT	CTGAAAGTTT	CTCTTTAATT	TCCCACCTTC	6450
TAAATCTCTT	CTAAACCTGC	TGAAAAGAGA	GTTTATTCCA	AAAACCACAT	6500
CATCACAGCT	CATGTTGGGG	TTGATGCCTT	CGTGGCACAT	CCTCATAATT	6550
TCATCATTGT	GAGTTGACCT	CGCATCTTTC	AGAATTTTCA	TAGAGTCCAT	6600
ACCGGAGCGC	TTGTGCGATG	TAGTCTTCAG	GGACTCACAG	AGTCTAAAAT	6650
ATTCAGACTC	TTCAAAGACT	TTCTCATTTT	GGTTAGAATA	CTCCAAAAGT	6700
TTGAATAAAA	GGTCTCTAAA	TTTGAAGTTT	GCCCCACTCTG	GCATAAAACT	6750
ATTATCATAA	TCACAACGAC	CATCTACTAT	TGGAACTAAT	GTGACACCCG	6800
CAACAGCAAG	GTCTTCCCTG	ATGCATGCCA	ATTTGTTAGT	GTCTCTATA	6850
AATTTCTTCT	CAAAACTGGC	TGGAGTGCTC	CTAACAAAAC	ACTCAAGAAG	6900
AATGAGAGAA	TTGTCTATCA	GCTTGTAACC	ATCAGGAATG	ATAAGTGGTA	6950
GTCCTGGGCA	TACAATTCCA	GACTCCACCA	AAATTGTTTC	CACAGACTTA	7000
TCGTGCTGGT	TGTGTGTGCA	GCCACTCTTG	TCTGCACTGT	CTATTTCAAT	7050
GCAGCGTGAC	AGCAACTTGA	GTCCCTCAAT	CAGAACCATT	CTGGGTTCCC	7100
TTTGTCCCAG	AAAGTTGAGT	TTCTGCCTTG	ACAACCTCTC	ATCCTGTTCT	7150
ATATAGTTTA	AACATAACTC	TCTCAATTCT	GAGATGATTT	CATCCATTGC	7200
GCATCAAAAA	GCCTAGGATC	CTCGGTGCG			7229

Условные обозначения:

5'UTR и 3'UTR (не выделены)

Z LCMVL LCMVIGR

ФИГ. 10, продолжение

```

GCGCACCGGG GATCCTAGGC ATACCTTGGA CGCGCATATT ACTTGATCAA 50
AGATGCATGG TGACACCCCC ACCCTGCATG AGTACATGCT GGACCTGCAG 100
CCAGAGACCA CAGACCTGTA TGGCTATGGC CAGCTGAATG ACAGCAGTGA 150
GGAAGAGGAT GAGATTGATG GGCCAGCAGG CCAGGCAGAA CCTGACAGAG 200
CCCACTACAA CATTGTCAAC TTCTGCTGCA AGTGTGACAG CACCCTGAGA 250
CTGTGTGTGC AGAGCAGCCA TGTGGACATC AGAACCTGG AAGACCTGCT 300
GATGGGCACC CTGGGCATTG TGGGCCCCAT CTGCTCCAG AAGCCCCACC 350
AGAAAAGAAC TGCCATGTTT CAGGACCCCC AGGAGAGGCC CAGAAAGCTG 400
CCCCAGCTCT GCACAGAGCT GCAGACCACC ATCCATGACA TCATCCTGGA 450
ATGTGTCTAC TGCAAGCAGC AGCTGCTGAG GAGAGAGGTG TATGACTTTG 500
CCTTCAGGGA CCTGTGCATT GTGTACAGGG ATGGCAACCC CTATGCTGTG 550
GGGACAAAGT GCCTCAAGTT CTACAGCAAG ATCAGTGAGT ACAGGCACCTA 600
CTGCTACAGC CTGTATGSCA CCACCTGGA ACAGCAGTAC AACAAAGCCCC 650
TGTGTGAOCT CCTGATCAGA TGCATCAATG GCCAGAAACC CCTCTGCCCT 700
GAGGAAAAGC AGAGACACCT GGACAAGAAG CAGAGGTTCC ACAACATCAG 750
AGGCAGCTGG GCATGAGCTG CTGCAGAAAG AGCAGAACCA 800
GAAGAGAGAC CCAGCTGTGA GCCCTAGCCT CGACATGGGC CTCGACGTCA 850
CTCCCCAATA GGGGAGTGAC GTGAGGCCT CTGAGGACTT GAGCTCAGAG 900
GTTGATCAGA TCTGTGTTGT TCCTGTACAG CGTGTCAATA GGCAAGCATC 950
TCATCGGCTT CTGGTCCCTA ACCCAGCCTG TCACTGTTGC ATCAAACATG 1000
ATGGTATCAA GCAATGCACA GTGAGGATTC GCAGTGGTTT GTGCAGCCCC 1050
CTTCTTCTTC TTCTTTATGA CCAAACCTTT ATGTTTGGTG CAGAGTAGAT 1100
TGTATCTCTC CCAGATCTCA TCCTCAAAGG TGCGTGCTTG CTCGGCACTG 1150
AGTTTCACGT CAAGCACTTT TAAGTCTCTT CTCCCATGCA TTTGGAACAA 1200
ACTGATTATA TCATCTGAAC CTTGAGCAGT GAAAACCATG TTTTGAGGTA 1250
AATGTCTGAT GATTGAGGAA ATCAGGCCTG GTTGGGCATC AGCCAAGTCC 1300
TTTAAAAGGA GACCATGTGA GTACTTGCTT TGCTCTTTGA AGGACTTCTC 1350
ATCGTGGGGA AATCTGTAAC AATGTATGTA GTTGCCCGTG TCAGGCTGGT 1400
AGATGGCCAT TTCCACCGGA TCATTTGGTG TTCCTTCAAT GTCAATCCAT 1450
GTGGTAGCTT TTGAATCAAG CATCTGAATT GAGGACACAA CAGIATCTTC 1500
TTTCTCCTTA GGGATTGTTT TAAGGTCCGG TGATCCTCCG TTTCTTACTG 1550
GTGGCTGGAT AGCACTCGGC TTCGAATCTA AATCTACAGT GGTGTTATCC 1600
CAAGCCCTCC CTTGAACCTG AGACCTTGAG CCAATGTAAG GCCAACCATC 1650
CCCTGAAAGA CAAATCTTGT ATAGTAAATT TTCATAAGGA TTTCTCTGTC 1700
CGGGTGTAGT GCTCAGAAAC ATACCTTCAC GATTCTTTAT TTGCAATAGA 1750
CTCTTTATGA GAGTACTAAA CATAGAAGGC TTCACCTGGA TGGTCTCAAG 1800
CATATTGCCA CCATCAATCA TGCAAGCAGC TGCTTTGACT GCTGCAGACA 1850
AACTGAGATT GTACCCTGAG ATGTTTATGG CTGATGGCTC ATTACTAATG 1900
ATTTTATAGG CACTGTGTTG CTGTGTGAGT TTCTCTAGAT CTGTCATGTT 1950
CGGGAACCTG ACAGTGTAGA GCAAACCAAG TGCACCTCAG CTTTGGACAA 2000
CATCAATTAAG TTGTTCAACC CCTTGCTCAG TCATACAAGC GATGGTTAAG 2050
GCTGGCATTG ATCCAAATG ATTGATCAAC AATGTATTAT CCTTGATGTC 2100
CCAGATCTTC ACAACCCCAT CTCTGTTGCC TGTGGGTCTA GCATTAGCCA 2150
ACCCCATTTG GCGAAGGATT TCGGCTCTTT GTTCCAACTG AGTGTTTGTG 2200
AGATTGCCCC CATAAACACC AGGCTGAGAC AAACCTCTCAG TTCTAGTGAC 2250
TTTCTTTCTT AACTTCTCCA AATCAGATGC AAGCTCCATT AGCTCCTCTT 2300
TGGCTAAGCC TCCACCTTA AGCACATTGT CCTCTGGAT TGATCTGATA 2350
TTCATCAGAG CATCAACCTC TTTGTTTATG TCTCTTAACT TGGTCAGATC 2400
AGAATCAGTC CTTTTATCTT TGCGCATCAT TCTTTGAACT TGAGCAACTT 2450
TGTGAAAGTC AAGAGCAGAT AACAGTGCTC TTGTGTCCGA CAACACATCA 2500
GCCTTCACAG GATGGGTCCA GTTGGATAGA CCCCTCCTAA GGGACTGTAC 2550
CCAGCGGAAT GATGGGATGT TGTCAGACAT TTTGGGGTTG TTTGCACTTC 2600
CTCCGAGTCA GTGAAGAAGT GAACGTACAG CGTGATCTAG AATCGCCTAG 2650
GATCCACTGT GCG 2663

```

Условные обозначения:

5'UTR и 3'UTR (не выделены)

Вставка E7E6 HPV16

NP PICV

IGR

```

GCGCACCGGG GATCCTAGGC ATACCTTGGG CGCGCATATT ACTTGATCAA 50
AGATGCATGG TGACACCCCC ACCCTGCATG AGTACATGCT GGACCTGCAG 100
CCAGAGACCA CAGACCTGTA TGGCTATGGC CAGCTGAATG ACAGCAGTGA 150
GGAAGAGGAT GAGATTGATG GGCCAGCAGG CCAGGCAGAA CCTGACAGAG 200
CCCACACAA CATTGTACCC TTCTGCTGCA AGTGTGACAG CACCCTGAGA 250
CTGTGTGTGC AGAGCACCCA TGTGGACATC AGAACCTGG AAGACCTGCT 300
GATGGGCACC CTGGGCATTG TGGGCCCCAT CTGCTCCCAG AAGCCCCACC 350
AGAAAAGAAC TGCCATGTTT CAGGACCCCC AGGAGAGGGC CAGAAAGCTG 400
CCCCAGCTCT GCACAGAGCT GCAGACCACC ATCCATGACA TCATCCTGGA 450
ATGTGTCTAC TGCAAGCAGC AGCTGCTGAG GAGAGAGGTG TATGACTTTG 500
CCTTCAGGGA CCTGTGCATT GTGTACAGGG ATGGCAACCC CTATGCTGTG 550
GGGGACAAGT GCCTCAAGTT CTACAGCAAG ATCAGTGAGT ACAGGCACTA 600
CTGTACAGC CTGTATGGCA CCACCCTGGA ACAGCAGTAC AACAAAGCCC 650
TGTGTGACCT CCGATCAGA TGCATCAATG GCCAGAAACC CCTCTGCCCT 700
GAGGAAAAGC AGAGACACCT GGACAAGAAG CAGAGGTTCC ACAACATCAG 750
AGGCAGGTGG ACAGGCAGAT GCATGAGCTG CTGCAGAAGC AGCAGAACCA 800
GAAGAGAGAC CCAGCTGTGA GCCCTAGCCT CGACATGGGC CTCGACGTCA 850
CTCCCCAATA GGGGAGTGAC GTGAGGCCCT CTGAGGACTT GAGCTTATTT 900
ACCCAGTCTC ACCCATTTGT AGCGTTTCTT TGGGATTTTA TAATACCCAC 950
AGCTGCAAAG AGAGTTCCCTA GTAATCCTAT GTGGCTTCGG ACAGCCATCA 1000
CCAATGATGT GCCTATGAGT GGGTATTCCA ACTAAGTGGA GAAACACTGT 1050
GATGGTGTA AACCACAAAG ACCAGAAGCA AATGTCTGTC AATGCTAGTG 1100
GAGTCTTACC TTGTCTTTCT TCATATTCTT TTATCAGCAT TTCATTGTAC 1150
AGATTCTGGC TCTCCACAA CCAATCATTC TTAATATGCG TTTCATTGAG 1200
GTACGAGCCA TTGTGAACCTA ACCAACACTG CGGTAAAGAA TGTCTCCCTG 1250
TGATGGTATC ATTGATGTAC CAAAATTTTG TATAGTTGCA ATAAGGGATT 1300
TTGGCAAGCT GTTTGAGACT GTTTCTAATC ACAAGTGAGT CAGAAATAAG 1350
TCCGTTGATA GTCTTTTAA AGAGATTCAA CGAATTCTCA ACATTAAGTT 1400
GTAAGGTTTT GATAGCATTG TGATTGAAAT CAAATAACCT CATCGTATCG 1450
CAAAATTTCT CATTGTGATC TTTGTTGCAT TTTGCCATCA CAGTGTATC 1500
AAAACATTTT ATTCCAGCCC AAACAATAGC CCATTGCTCC AAACAGTAAC 1550
CACCTGGGAC ATGTTGCCCA GTAGAGTCAC TCAAGTCCCA AGTGAAAAAG 1600
CCAAGGAGTT TCCTGCTCAC AGAATAATA GCAGTTTTTT GGAGAGCCAT 1650
CCTTATTGTT GCCATTGGAG TATATGTACA GTGATTTTCC CATGTGGTGT 1700
TCTGTATGAT CAGGAAATTG TAATGTGTCC CACCTTCACA GTTTGTTAGT 1750
CTGCAAGACC CTCCACTACA GTTATTGAAA CATTTTCCAA CCCACGCAAT 1800
TTTTGGGTCC CCAATGATTT GAGCAAGCGA CGCAATAAGA TGTCTGCCAA 1850
CCTCACCTCC TCTATCCCCA ACTGTCAAGT TGTACTGGAT CAACACCCCA 1900
GCACCTCAA CTGTTTGGCA TCTGGCACCT ACATGACGAG TGACATGGAG 1950
CACATTGAAG TGTAACTCAT TAAGCAACCA TTTTAATGTG TGACCTGCTT 2000
CTTCTGTCTT ATCACAATTA CTAATGTTAC CATATGCAAG GCTTCTGATG 2050
TTGGAAAAGT TTCCAGTAGT TTCATTTGCA ATGGATGTGT TTGTCAAAGT 2100
GAGTTCAATT CCCCATGTTG TGTAGATGG TCCTTTGTAG TAATGATGTG 2150
TGTTGTTCTT GCTACATGAT TGTGGCAAGT TGTCAAACAT TCTTGTGAGG 2200
TTGAACTCAA CGTGGGTGAG ATTGTGCCTC CTATCAATCA TCATGCCATC 2250
ACAACTTCTG CCAGCCAAAA TGAGGAAGGT GATGAGTTGG AATAGGCCAC 2300
ATCTCATCAG ATTGACAAAT CCTTTGATGA TGCATAGGGT TGAGACAATG 2350
ATTAAGGCCA CATTGAACAC CTCTGCAGG ACTTCGGGTA TAGACTGGAT 2400
CAAAGTCACA ACTTGTCCCA TTTTGGGGTT GTTTGCACTT CCTCCGAGTC 2450
AGTGAAGAAG TGAACGTACA GCGTGATCTA GAATCGCCTA GGATCCACTG 2500
TGGC2504

```

Условные обозначения:

5'UTR и 3'UTR (не выделены)

Вставка E7E6 HPV16

GP PICV

IGR

GCGCACCGGG	GATCCTAGGC	ATCTTTGGGT	CACGCTTCAA	ATTTGTCCAA	50
TTTGAACCCA	GCTCAAGTCC	TGGTCAAAAC	TTGGGATGGG	ACTCAGATAT	100
AGCAAAGAGG	TCAGGAAGAG	ACATGGCGAC	GAAGATGTGG	TGGGAAGGGT	150
CCCCATGACC	CTCAATCTAC	CACAGGGCCT	GTATGGCAGG	TTCAACTGCA	200
AATCTTGGTG	GTTGCTCAAC	AAAGGTCTCA	TCAGGTGCAA	AGACCACTAT	250
CTGTGTCTTG	GGTGCTTAA	CAAAATGCAC	TCCAGAGGCA	ATCTCTGCCA	300
GATATGCGGC	CACTCACTGC	CAACCAAGAT	GGAGTTCTTA	GAAAGCCCTT	350
CTGCACCACC	CTACGAGCCA	TAAACCAGGG	CCCCTGGGCG	CAGCCCCCTC	400
CGGGGGGTGCG	CCCGGGGGCC	CCCGGCCCCA	TGGGGCCGGT	TGTTTACTCG	450
ATCTCCACTG	ACTCATTGTC	CTCAAACAAC	TTTCGACACC	TGATTCCCTT	500
GATCTTGAAG	GGTCCTGTCT	CGTCTGCAAT	CATAACAGAT	CCTAGAGTCT	550
TACTTCTTAT	TATATAAAG	TGACCACAAT	TCAACCAATC	TTTGGCATCA	600
TGCTACATGT	TTCAAACAC	TTCCGGGAAA	TTTTCAATCA	TGAGTCTTAA	650
ATCCTGCTCG	TTCATACTTA	TTCCCTTGTT	GTGAGACTGT	GCACTTGAAA	700
GGTACTGAAA	AAGGTTGGCA	ATAAATCTTG	GCCTTTTCTC	AGGTTCTAAT	750
GCTTCCAGTG	CAATGATGAC	CACCTTTGAG	TCTAAGTTCA	CTTCCAATCT	800
AGAAACCACT	CTGTTGCCCT	CTTTGATCAA	CCCACCTCT	AAAATGAGGG	850
GTTGCATCCC	AACATCAGCA	CCAATCAACT	TATAGGAAAA	TTTGTTTTTT	900
AAATCCTTGA	AACGATTTTT	CAAATCTATT	CTCACCTTCT	GGAACACAGT	950
TGACCTTGAC	TTGAAGTGAA	TGTCTTGACC	TTCCAATAGA	TCATTGAAGT	1000
CTAGAACATC	TTTTCCGTTG	ATGAGAGGAT	TCAGAACCAA	AAGTGACACA	1050
CCATCCAGAC	TTATGTGATT	CCCGGAAGAT	TGAGAAACAT	AATACTCAAC	1100
AGAATGGGGG	TTCAACAATA	GGTAACCATC	AGAGTCCAAT	GAGTCCAGCA	1150
ATGACTCCCT	TTCAATAAGA	AATCTTAATT	TTAATATGTA	ATTGGTAGAC	1200
CTCTCATATC	TAAATTTGTG	GCTCACTCTC	TTATGAGAAA	ATGTTAGGTT	1250
GAGCTCAATG	GGAAATGACCT	CAGAAGGTGA	TGCTAAAATG	AGTTGTTCAA	1300
TGTTCTCATG	GTTATCTCTA	TTCAACCAGT	CAAGTTTCATT	AATAAATACA	1350
CTAATGTTCA	AATTAAACACA	GGACAAAATC	AGTTTGCTGC	TTACAAAGCC	1400
AACATCCAAG	TCATCCAGAT	TCATTGTCTT	AGAAGTGTTA	TTCTTTTTGC	1450
AGTCACAAAT	GAAGTGGGTT	AATTGTTTCA	GATCATGTTG	TGCATTGTTT	1500
GGCAACAATT	CAAGCTCACC	AAACCAAAAA	TATTTCTTGA	ACTGAGATGT	1550
TGACATAATC	ACAGGCACCA	ACATTGACTC	AAACAAAATC	TGTATCAAGA	1600
AATTTGTGCA	CACCTCTTCT	GGTTCAAGGT	TGAATCCTCT	CTCCAGTGGG	1650
TGAGACTCTC	TGCTATGGGA	CATTGCAAGC	TCATTTTGCT	TTACAATATA	1700
CAATTCTTCT	CTGCGATGTT	TTATAATATG	ACTAACAATA	CCAAGACATT	1750
CTGATGTTAT	ATCAATTGCC	ACACAAAGGT	CTAAGAACTT	TATCCTCTGA	1800
ACCCATGATA	GCCTCAGCAT	ATTCAAATCA	GACAGGAAAG	GGGATATGTG	1850
TTCATCAAAAT	AGTGTAGGGA	AGTTCCCTCT	GATTGAGTAA	AGTATGTGGT	1900
TGATGCCCCAC	CTTGTCTCTA	AGCTCAGAAT	GTGTGCTTGG	TTTTATTGGC	1950
CAGAAGTGAT	TGGGATTGTT	TAGGTGAGTG	ACTATCTTGG	GTAATTGAGC	2000
TTTTTGAAAC	ACCCAGTTAC	CCAATCGCA	AGCATTGGTT	AACACAAGAG	2050
CAAAATAATC	GCAAAATTAAG	GGTCTGGAGT	ACTCACTTAC	TTCAACCAAGT	2100
GCTGCTTTAC	AATAAACACC	TTTGCGCTGA	TTACAAAAGT	GACAATCAGG	2150
GTGTAAGATA	ATCTTGCTTG	TAATATCCCT	GATATACTTA	AATCCTCCTT	2200
TCCCATCTCT	TACACATTTT	GAGCCCATAC	TTTTTGCAAAC	TCCTATGAAT	2250
CCTGATGCTA	TGCTGCTCTG	AAAAGCTGAT	TTGTTGATAG	CATCAGCCAA	2300
AATCTTCTTA	GCCCCTCTGA	CATAGTTCTT	TGATAATTTG	GACTGTACGG	2350
ATTTGACAAG	ACTGGGTATT	TCTTCTCGCT	GCACAGTTCT	TGTTGTGCTC	2400
ATTAACCTAG	TACGAAGCAC	CAATCTGAGA	TCACCATGAA	CCCTTAAATT	2450
TAACCACCTA	ATATTAAGAG	CATCCTCAAT	AGCCTCAGTC	TCGACATCAC	2500
AAGTCTCTAA	TAACTGTTTT	AAGCAGTCAT	CCGGTGATTG	CTGAAGAGTT	2550
GTTACAATAT	AACCTTCTTC	CAGGGCTCCA	GACTGTATTT	TGTAATAATAT	2600
TTTCCTGCAT	GCCTTCTCTG	TTATTGAAAG	TAGCAGATCA	TCAGGAATAA	2650
GTGTCTCAAT	TGATCGCTGA	AGTCTGTACC	CTCTCGACCC	ATTAACCCAA	2700
TCGAGTACAT	CCATTTCTTC	CAGGCACAAA	AATGGATCAT	TTGGAAACCC	2750
ACTATAGATT	ATCATGCTAT	TTGTTCTGTT	TGCAATGGCC	CCTACAACCT	2800
CTATTGACAC	CCCGTTAGCA	ACACATTGGT	CCAGTATTGT	GTCAATTGTA	2850

TCTGCTTGCT	GATTGGGTGC	TTTAGCCTTT	ATGTTGTGTA	GAGCTGCAGC	2900
AACAAACTTT	GTAAGGAGGG	GGACTTCTTG	TGACCAAATG	AAGAATCTCG	2950
ATTTGAACTC	ACTTGCAAAG	GTCCCCACAA	CTGTTTTTAGG	GCTCACAAAC	3000
TTGTTGAGTT	TGTCTGATAG	AAAGTAGTGA	AACTCCATAC	AGTCCAATAC	3050
CAATTCACAA	TTCAACTCAT	CTCTGTCTTT	AAATTTGAAA	CCCTCATTCA	3100
AGGATAACAT	GATCTCATCA	TCACTCGAAG	TATATGAGAT	GAACCGTGCT	3150
CCATAACAAA	GCTCCAATGC	GTAATTGATG	AACTGCTCAG	TGATTAGACC	3200
ATATAAGTCA	GAGGTGTTGT	GTAGGATGCC	CTGACCCATA	TCTAAGACTG	3250
AAGAGATGTG	TGATGGTACC	TTGCCCTTCT	CAAAGTACCC	AAACATAAAT	3300
TCCTCTGCAA	TTGTGCACCC	CCCTTTTATCC	ATCATACCCA	ACCCCTTTT	3350
CAAGAAACCT	TTCATGTATG	CCTCAACGAC	ATTGAAGGGC	ACTTCCACCA	3400
TCTTGTGAAT	GTGCCATAGC	AATATGTTGA	TEACTGCAGC	ATTGGGAACT	3450
TCTGACCCAT	CTTTGAGTTT	GAACCAAGA	CCTTTTAATA	ATGCCGGCAA	3500
GATAACCGGC	GACATGTGTG	GCCCCATTT	TGAATGGTCC	ATTGACACCG	3550
CAAGACCCT	TTGCCAACA	ACTGACTTCA	TGTCTAATAA	TGCTCTCTCA	3600
AACTCTTTCT	CGTTGTTTCAG	ACAAGTATAC	CTCATGTTTT	GCATAAGGGA	3650
TTCAGAGTAA	TCTTCAATGA	GTCTGGTTGT	GAGTTTAGTA	TTTAAATCAC	3700
CGACATAAAG	CTCCCTGTTG	CCACCCACCT	GTTCTTTTATA	AGAAAGACCA	3750
AATTTCAATC	TCCCTACATT	GGTGGATACA	CCAGACCTCT	CTGTGGGAGA	3800
CTCATCTGAA	TAGAAACAGA	GATTTCTGTA	GGATGAGTTG	GTAAAAAAGC	3850
TTTGATCCAA	TCTTTTAGCT	ATCGATTGAG	AATTGCTCTC	TCTTGAGCTT	3900
ATACGTGATG	TCTCTCTAAT	TTGTAGTGCT	GCATCTGTGA	ACCCAAGTCT	3950
GCTTCTACTT	TTGTGATCAT	ATCTTCCGAC	TCGATTATCA	TAATCGCTTG	4000
CAATGAGAAT	GTATTTAAAG	CACTCAAAAT	AATCAGCTTC	TTTGTAAGCC	4050
TTCAATGTGA	GGTCTTTTAT	TAAAACTCC	AGAGGACACG	GATTCAATTAG	4100
TCTGTCTGCA	AAGTACACTG	ATCTAGCAGT	GACATCCTCA	TAGATCAAGT	4150
TTACAAGATC	CTCATACACT	TCTGCTGAAA	ACAGGCTGTA	ATCAAAATCC	4200
TTTACATCAT	GAAGTGAAGT	CTCTCTTTTG	ATGACAACCA	TTGTCGATTT	4250
GGGCCATAAT	CTCTCTAGTG	GACATGAAGT	CTTAAGGTTG	GTTTTGACAT	4300
TGGTGCTCAAC	CTTAGACAAT	ACTTTTGCAA	CTCTGGTCTC	AATTTCTTTA	4350
AGACAGTCAC	CCTGATCTTC	TGATAGTAAC	TCTTCAACTC	CATCAGGCTC	4400
TATTGACTCC	TTTTTTATTT	GGATCAATGA	TGACAACCTC	TTCAGAACTC	4450
TGAAATTTAC	CTCCTTTTGA	TCTAACTTGT	ATTTACECTT	AGTTTTGAAA	4500
TGTTCAATCA	TTTCCACAAC	AACAGCAGAC	ACAATGGAAG	AGTAATCATA	4550
TTCAGTGATG	ACCTCACCAA	CTTCATTGAG	TTTTGGAACC	ACCACACTTT	4600
TGTTGCTGGA	CATATCCAAG	GCTGTACTTG	TGAAGGAGGG	AGTCATAGGC	4650
TCACAAGGAA	GCAGGGGTTT	CACTTCCAAT	GAGCTACTGT	TAAATAGTGA	4700
TAGACAAACA	CTAAGTACAT	CCTTATTCAA	CCCCGGCCTT	CCCTCACATT	4750
TGGATTCCAG	CTTTTTACCA	AGTAGTCTCT	CTATATCATG	CACCATCTTC	4800
TCTTCTTCCT	CAGTAGGAAG	TTCCATACTA	TTAGAAGGGT	TGACCAAGAC	4850
TGAATCAAAC	TTTAACTTTG	GTTCCAAGAA	CTTCTCAAAA	CATTTGATTT	4900
GATCAGTTAA	TCTATCAGGG	GTTTCTTTTG	TTATAAAATG	GCATAAAATG	4950
GAGACATTGA	AAACAACTT	AAAGATCTTA	GCCATATCTT	CCTCTCTGGA	5000
ATTGCTGAGT	ACCAGAAGTA	TCAAATCATC	AATAAGCATT	GCTGTCTGCC	5050
ATTCTGAAGG	TGTTAGCATA	ACGACTTTCA	ATTTCTCAAA	CAATTCCTTA	5100
AAATGAACTT	CATTTACAAA	GGCCATAATG	TAATATCTAA	AGCCTTGCAA	5150
GTAAACTTGA	ATACGCTTGG	AAGGGGTGCA	CAGTATGCAG	AGAATAAGTC	5200
GTCTGAGTAA	ATCAGAAACA	GAATCCAAGA	GGGGTTGGGA	CATAAAGTCC	5250
AACCAGGATA	ACATCTCCAC	ACAAGTCTTT	TGAATCACAT	CTGCACTAAA	5300
GATCGGTAAG	AAAAATCTCT	TGGGATCACA	GTAAAAAGAC	GCTTTTGTTT	5350
CATACAAACC	CCCACTTTTG	GATCTATAAG	CAACAGCATA	ACACCTGGAC	5400
CTCTCCCCTG	TCTTCTGGTA	CAGTAGTGTG	AGAGAACCCTC	CTTCTCCAAA	5450
TCGCTGGAAG	AAAACCTTGT	CACAGTAAAC	CTTCCCATAA	AACTCATCAG	5500
CATTGTTCAC	CTTCATCTTA	GGAACGTGCTG	CTGTCTTCAT	GCTATTAAATG	5550
AGTGACAAAC	TCAAACCTGA	CAATGTTTTT	AGCAATTCCT	CAAACTCACT	5600
TTCCGCCATG	ATGGTATAAT	CAGGCTGCCC	TCTTCCCTGGC	CTACCCCCAC	5650
ACATACACTG	TGACTTTTGT	TTGTATTGAA	GACAGGGTTT	AGCACCCCAT	5700
TCATCTAACA	CTGATGTTTT	CAGATTGAAG	TAATATTCAA	CATCAGGTTT	5750

ФИГ. 13, продолжение


```

CCGTAGAAGA GGGAGAATGT CATCAAGGGG AAGTTCACCA CAGACCGAGC 5800
TCAGTCTCTT CTTAGCCTTC TCTAACCAGT TGGGGTTTTT AATGAATTTT 5850
TTAGTGATTT GTTCCATCAG GAAGTCGACA TTAATCAACC TGTCATTTAC 5900
AGACGGTAA CTTTGCAATTA GGAGCACCTC TCTGAACACA GCACCTGGAG 5950
AAGACTTGTC CAAGTCACAC AAAATGTTGT ACATGATAAG GTCCAGAACC 6000
AACATGGTGT TCCTCCTTGT GTTAAAAACC TTTTGAGACT TAATTTTGTT 6050
GCATATTGAA AGTACTCTAA AATATTCTCT GCTTTCAGTT GATGAATGCT 6100
TGACCTCAGA TTGCCTGAGT TGGCCTATTA TGCCCAAAAT GTGTACTGAG 6150
CAAAACTCAC ATAATCTGAT TTCTGATTTA GTACATCTT TGACAGAACA 6200
TTGGATAAAT TCATGGTTCT GAAGTCTAGA AATCATATCT TCCCTATCTG 6250
TAGCCTGCAG TTTCCTATCG AGTTGACCAG CAAGTTGCAA CATTTTAAAT 6300
TGCTGAAAGA TTCCATGAT TTTTGTTCTA CATTGATCTG TTGTCAGTTT 6350
ATTATTAATG CCAGACATTA ATGCCTTTTC CAACCTCACT TTGTAAGGAA 6400
GTCCCTTTTC CTTTACAGCA AGTAGTGACT CCAGACCGAG ACTCTGATTT 6450
TCTAAGGATG AGAGGGAAC TATAAGGCGT TCGTACTCCA ACTCCTCAAC 6500
TTCTTCACCA GATGTCCTTA ATCCATCCAT GAGTTTTAAA AGCAACCACC 6550
GAAGTCTCTC TACCACCCAA TCAGGAACAA ATTCTACATA ATAACTGGAT 6600
CTACCGTCAA TAACAGGTAC TAAGGTATG TTCTGTCTCT TGAGATCAGA 6650
ACTAAGCTGC AACAGCTTCA AAAAGTCCTG GTTGTATTTT TTCTCAAATG 6700
CTTCTTGACT GGTCCTCACA AACACTTCCA AAAGAATGAG GACATCTCCA 6750
ACCATACAGT AACCATCTGG TGTAACATCC GGCAATGTAG GACATGTTAC 6800
TCTCAACTCC CTAAGGATAG CATTGACAGT CATCTTTGTG TTGTGTTTGC 6850
AGGAGTGTTT CTTGCATGAA TCCACTTCCA CTAGCATGGA CAAAAGCTTC 6900
AGGCCCTCTA TCGTGATGGC CCTATCTTTG ACTTGTGCAA GAACGTTGTT 6950
TTTCTGTTCA GATAGCTCTT CCCATTGCGG AACCCATTTT CTGACTATGT 7000
CTTTAAGTTC GAAACGTAT TCCTCCATGA TCAAGAAATG CCTAGGATCC 7050
TCGGTGCG 7058

```

Условные обозначения:

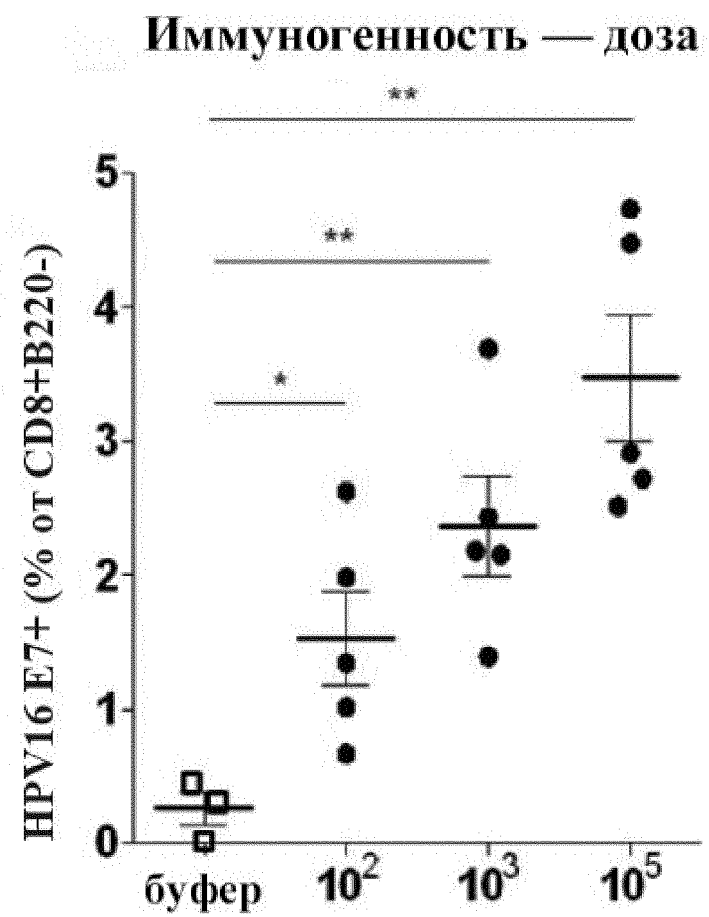
5'UTR и 3'UTR (не выделены)

Z PICV

L PICV

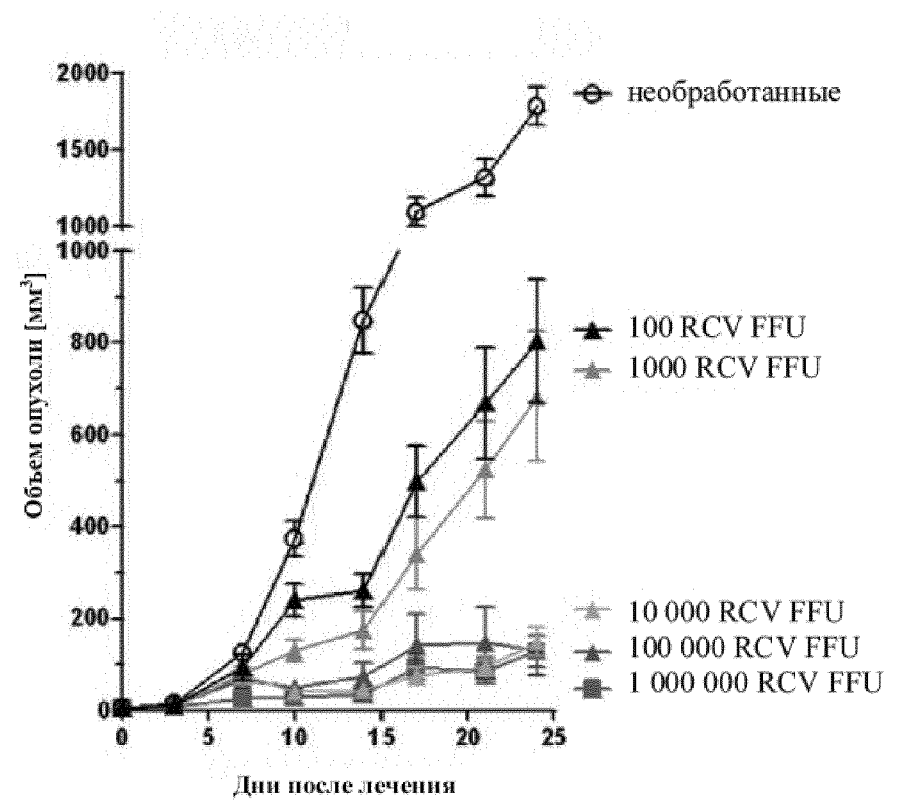
IGR

ФИГ. 13, продолжение

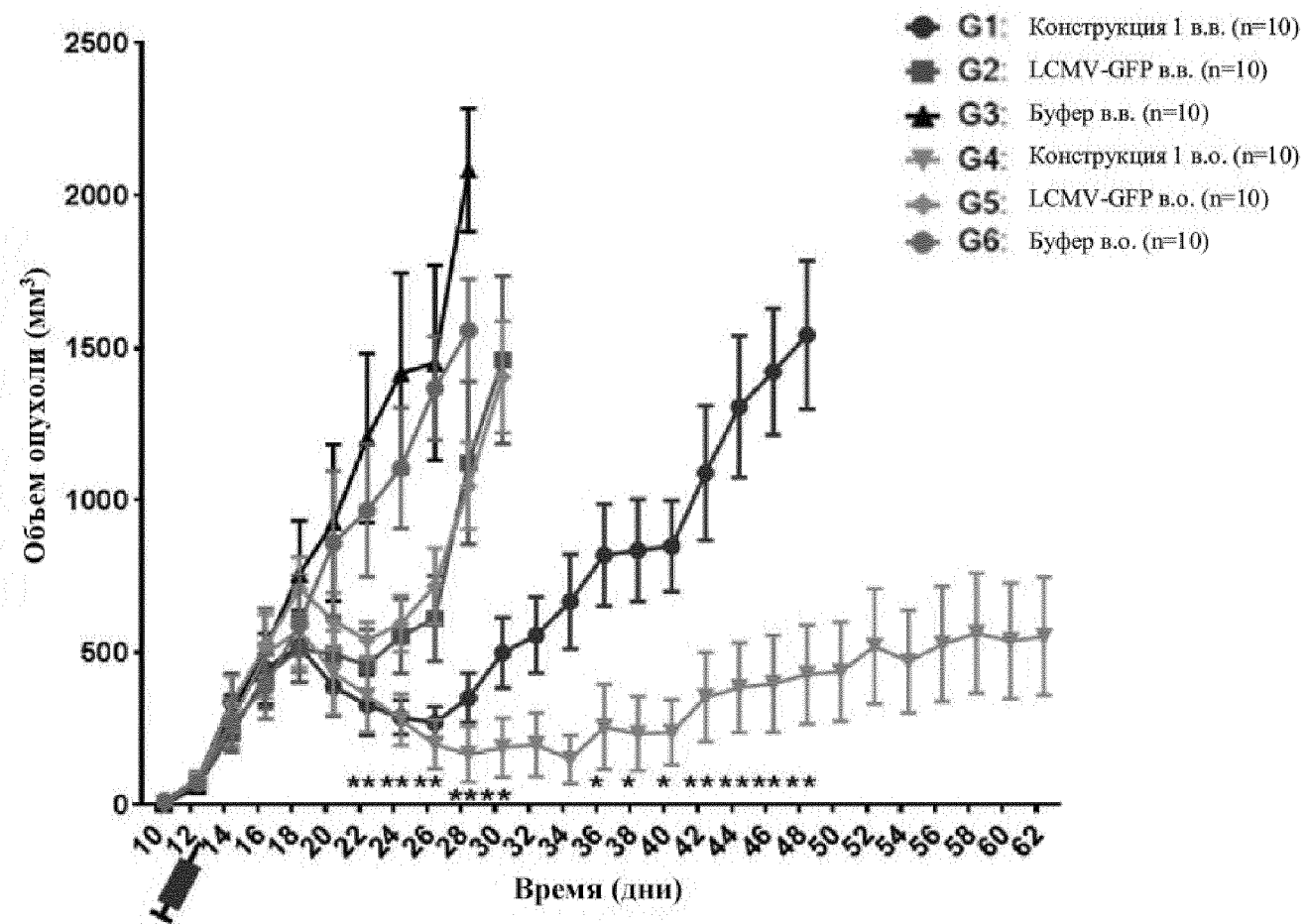


ФИГ. 14А

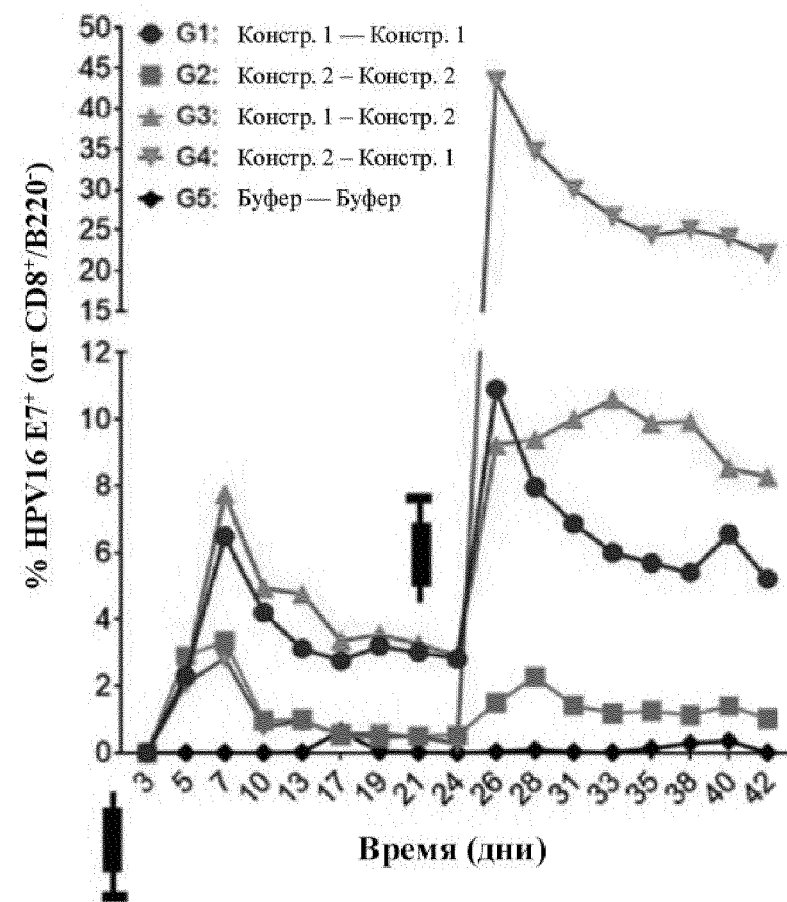
Контроль опухоли — доза



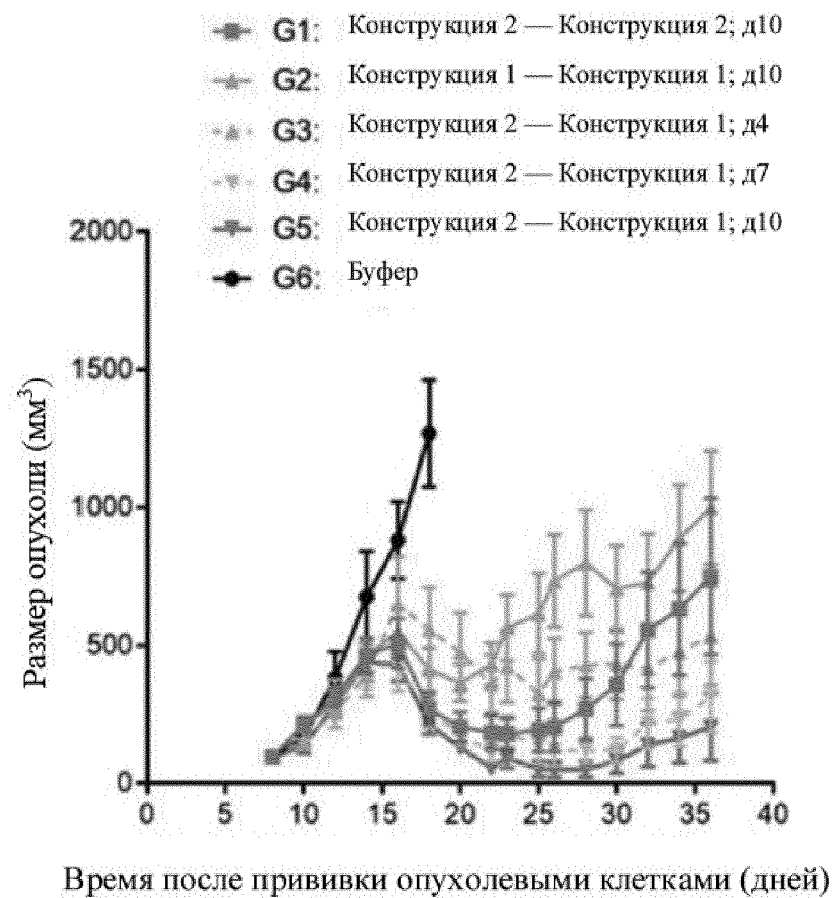
ФИГ. 14В



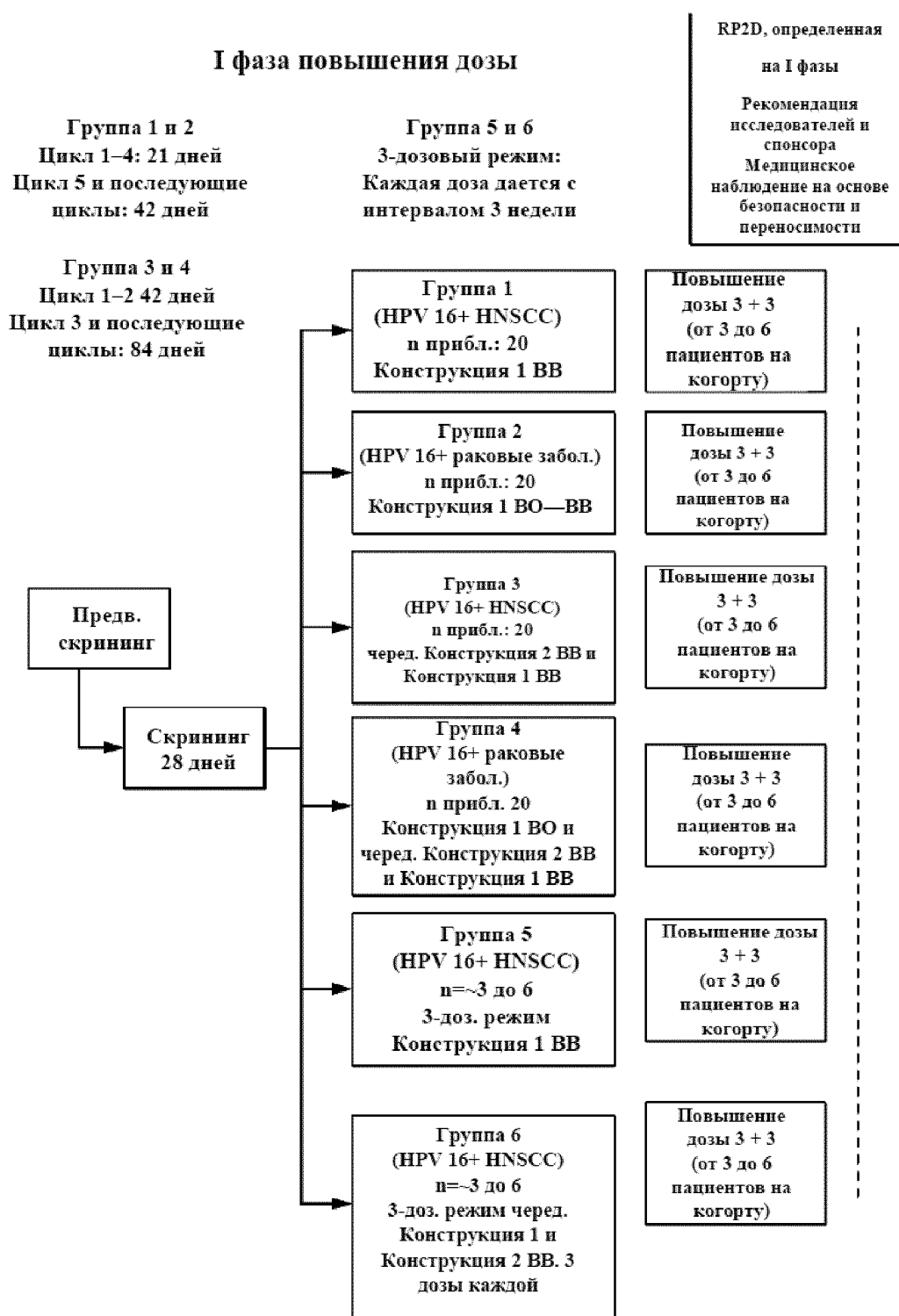
ФИГ. 14С



ФИГ. 14D

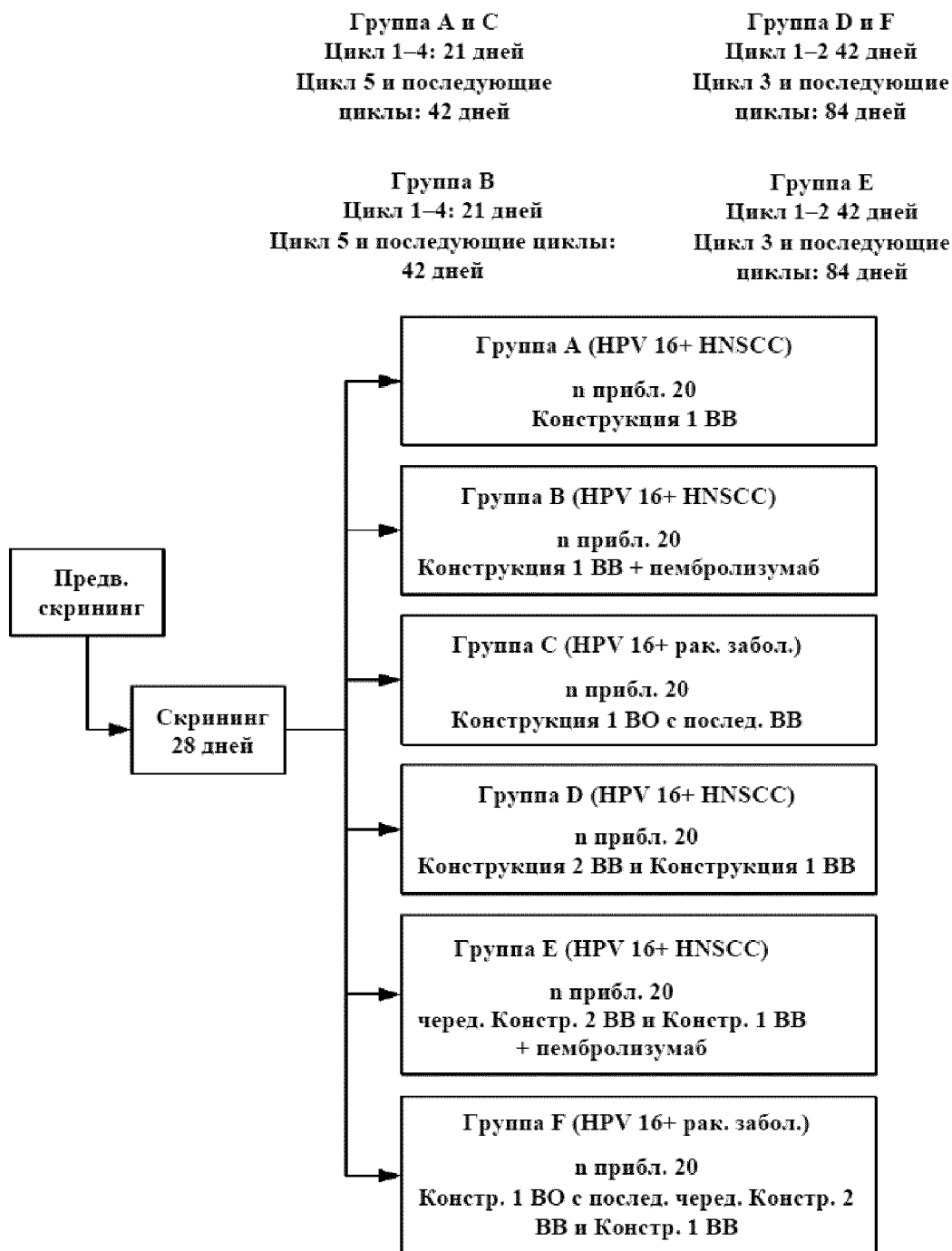


ФИГ. 14Е



ФИГ. 15

II фаза расширения когорт приема доз

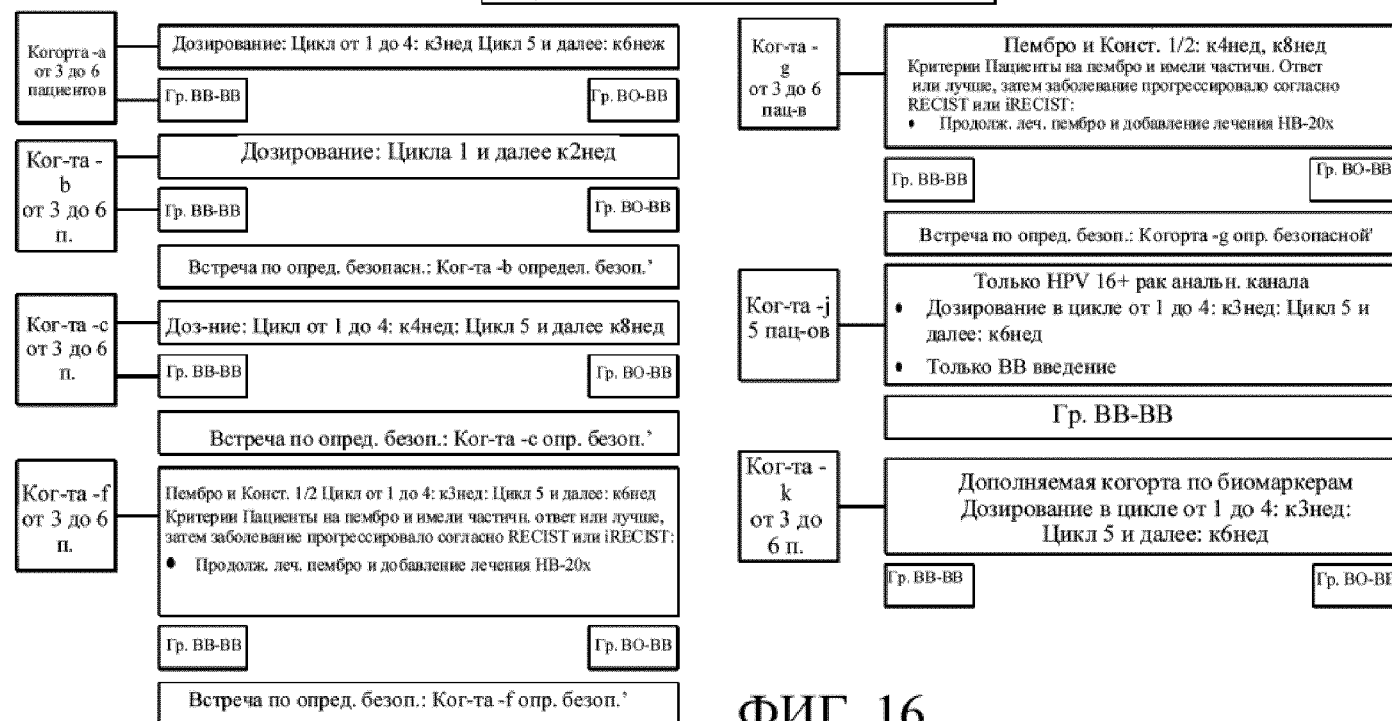


ФИГ. 15, продолжение

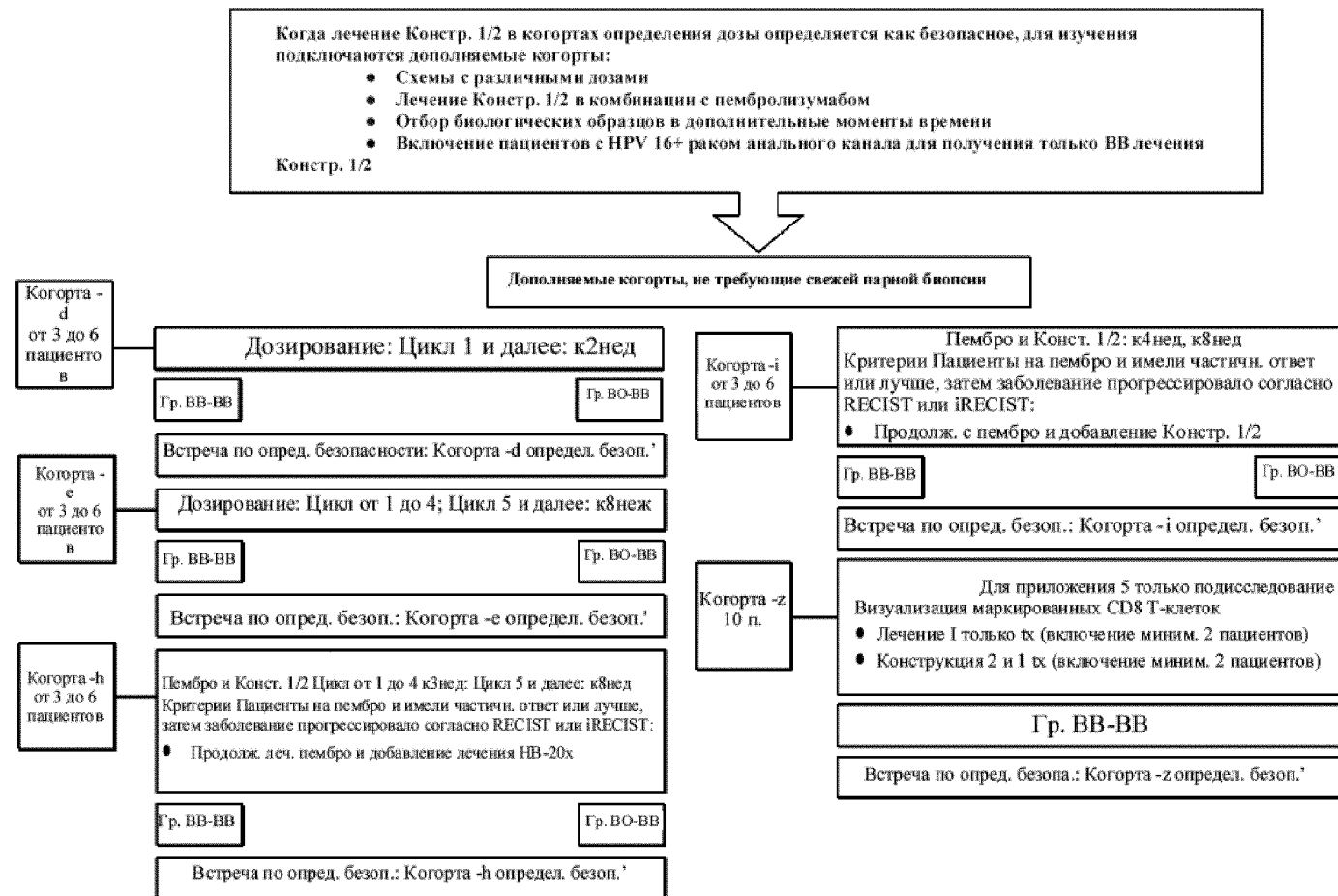
Когда лечение Констр. 1/2 в когортах определения дозы определяется как безопасное, для изучения подключаются дополняемые когорты:

- Схемы с различными дозами
- Лечение Констр. 1/2 в комбинации с пембролизумабом
- Отбор биологических образцов в дополнительные моменты времени
- Включение пациентов с HPV 16+ раком анального канала для получения только ВВ лечения Констр. 1/2

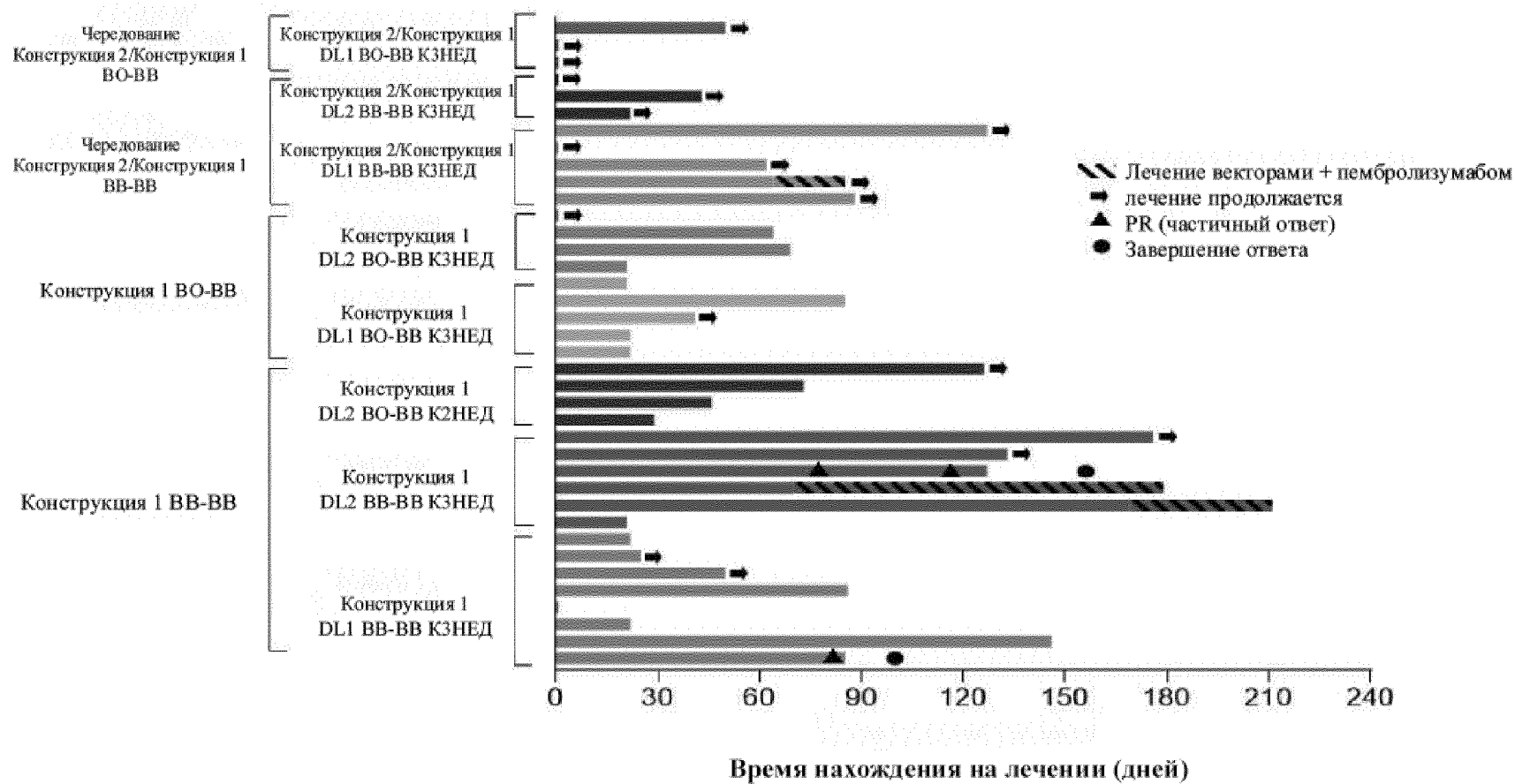
Дополняемые когорты, требующие свежей парной биопсии



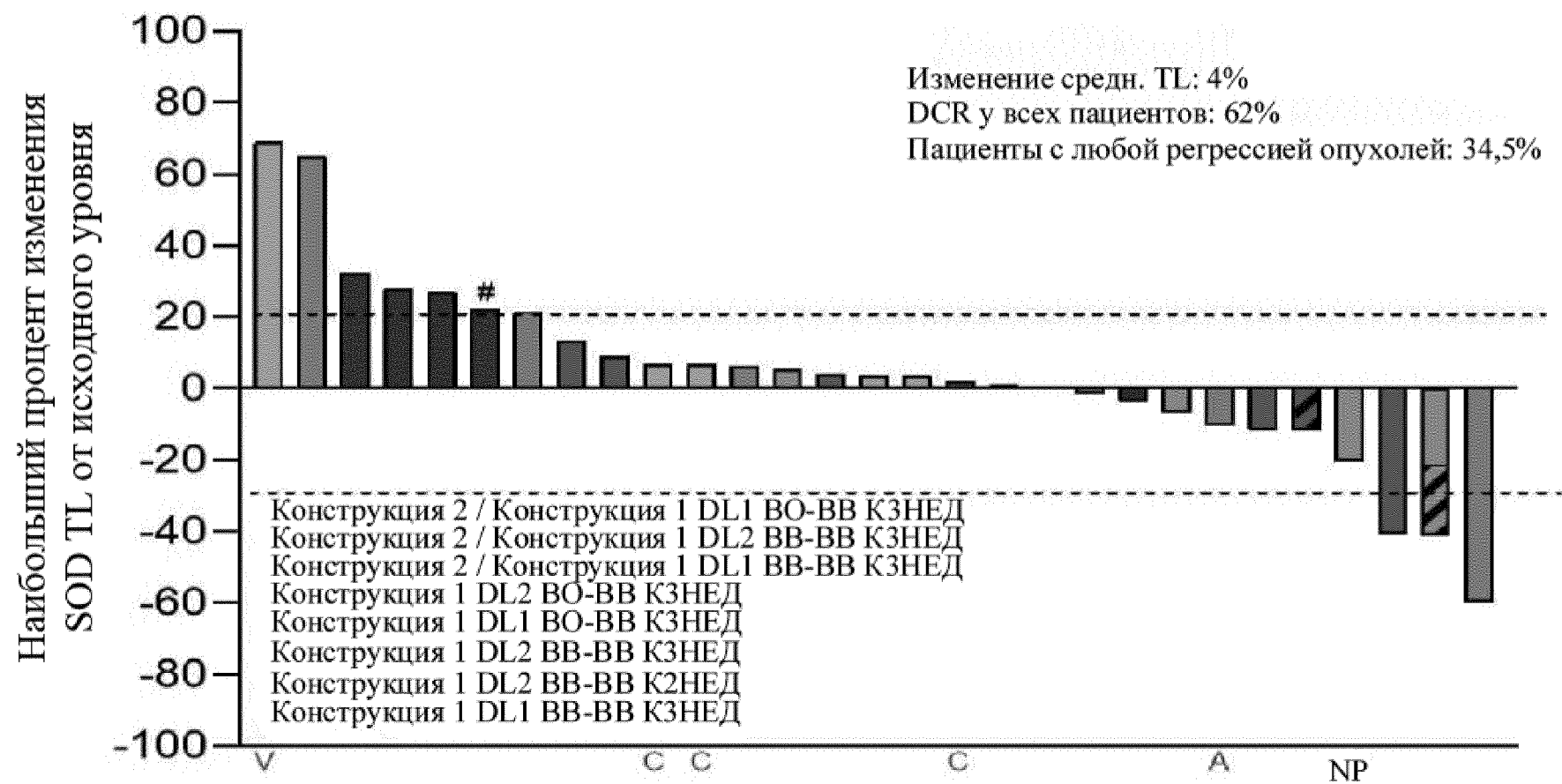
ФИГ. 16



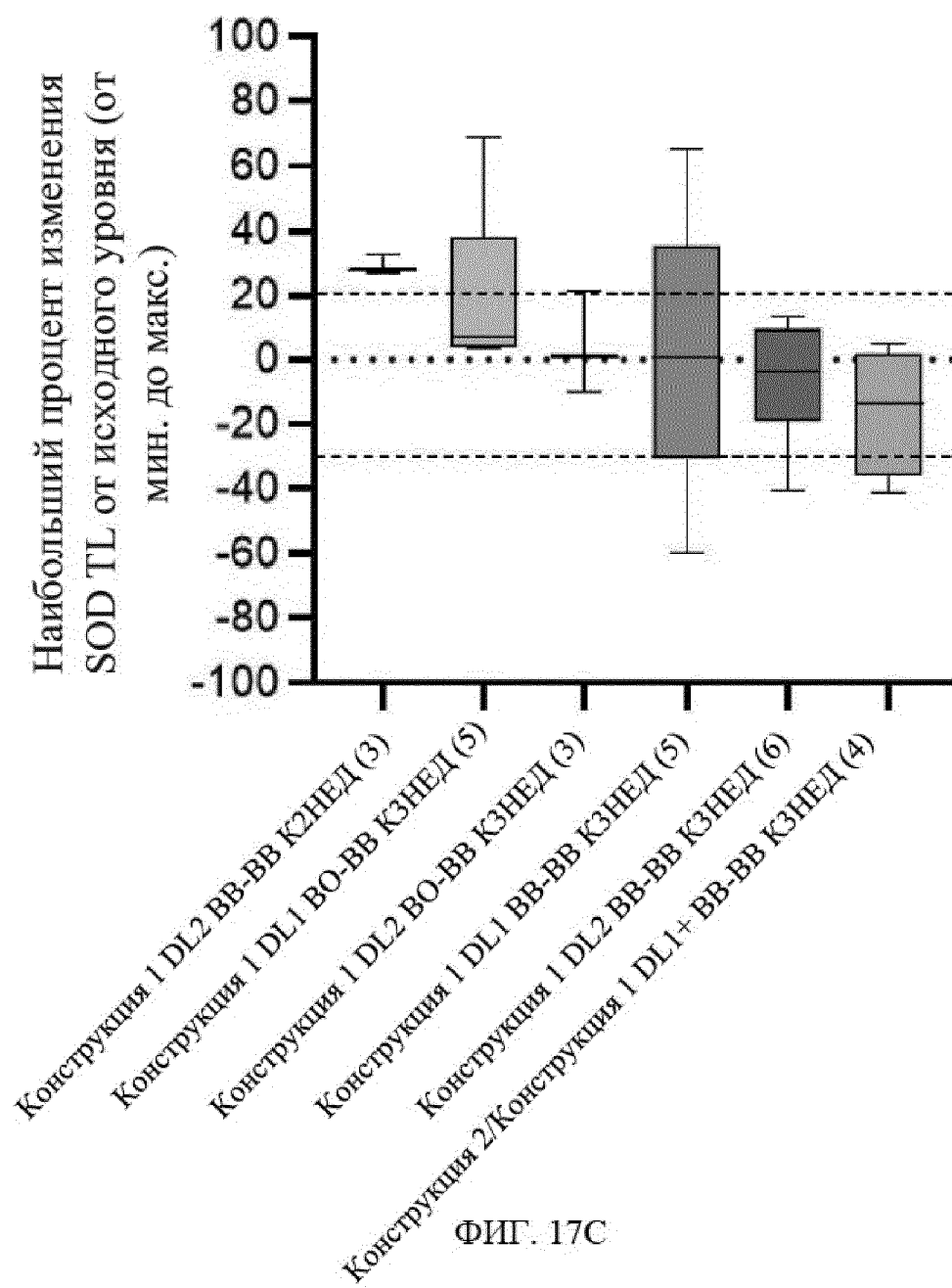
ФИГ. 16, продолжение

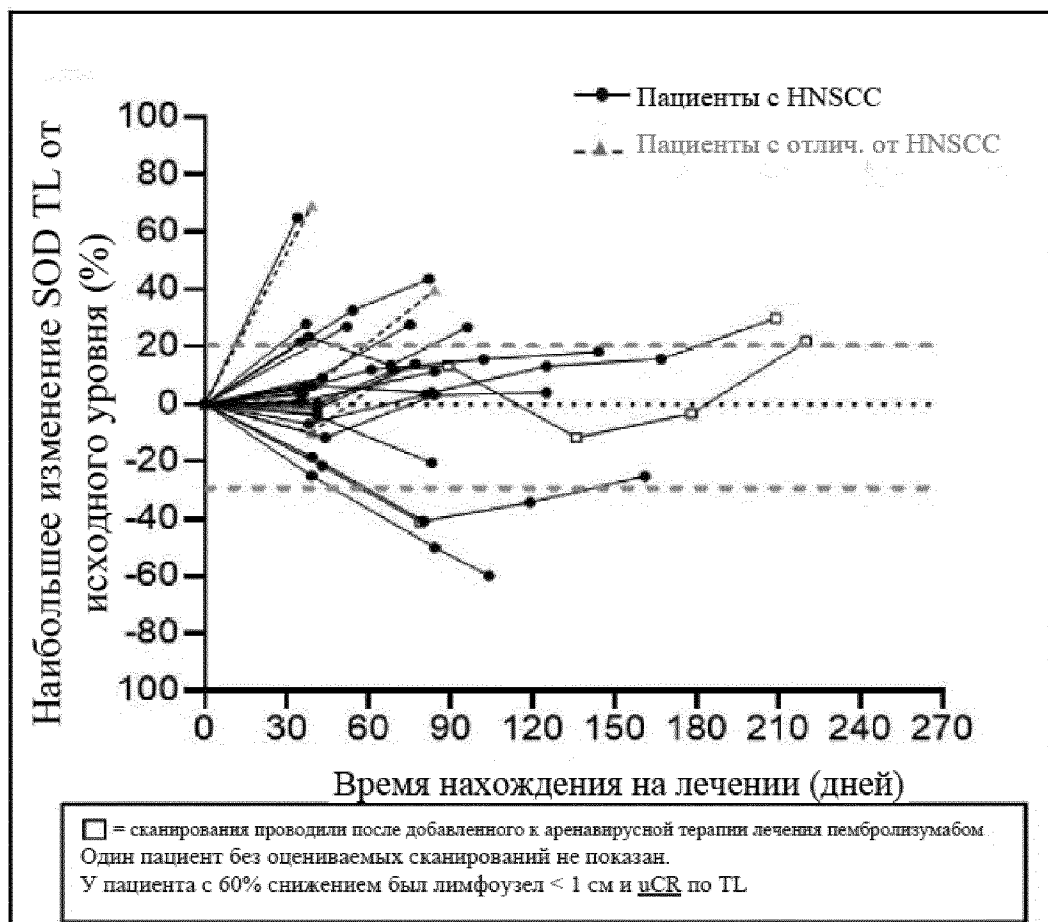


ФИГ. 17А

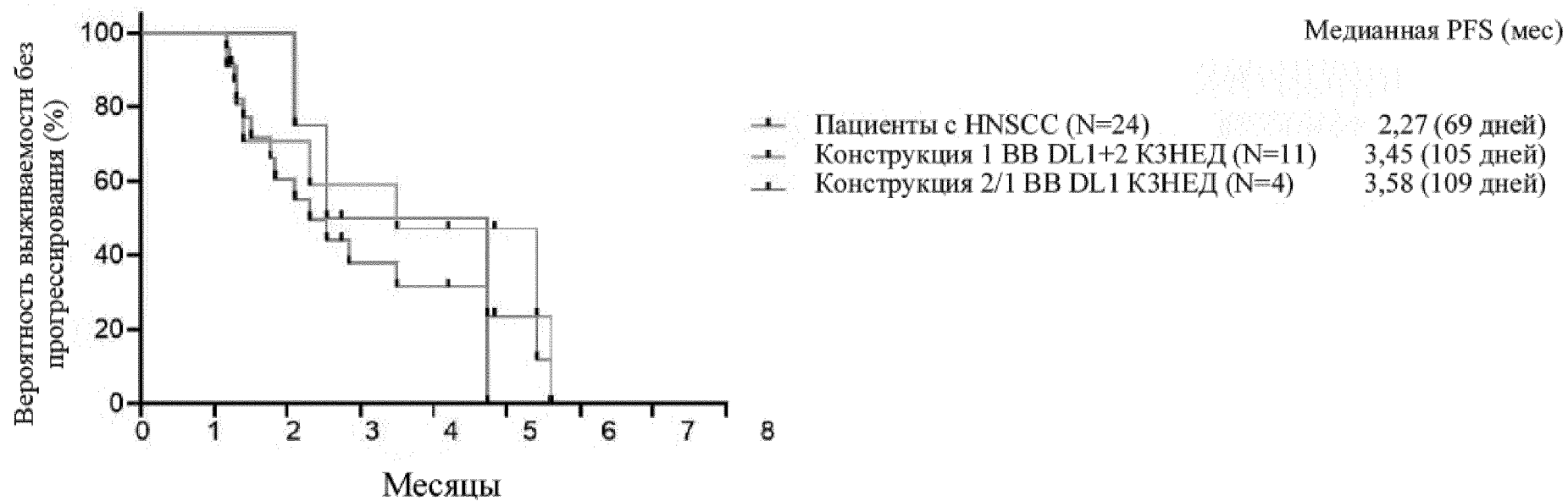


ФИГ. 17В

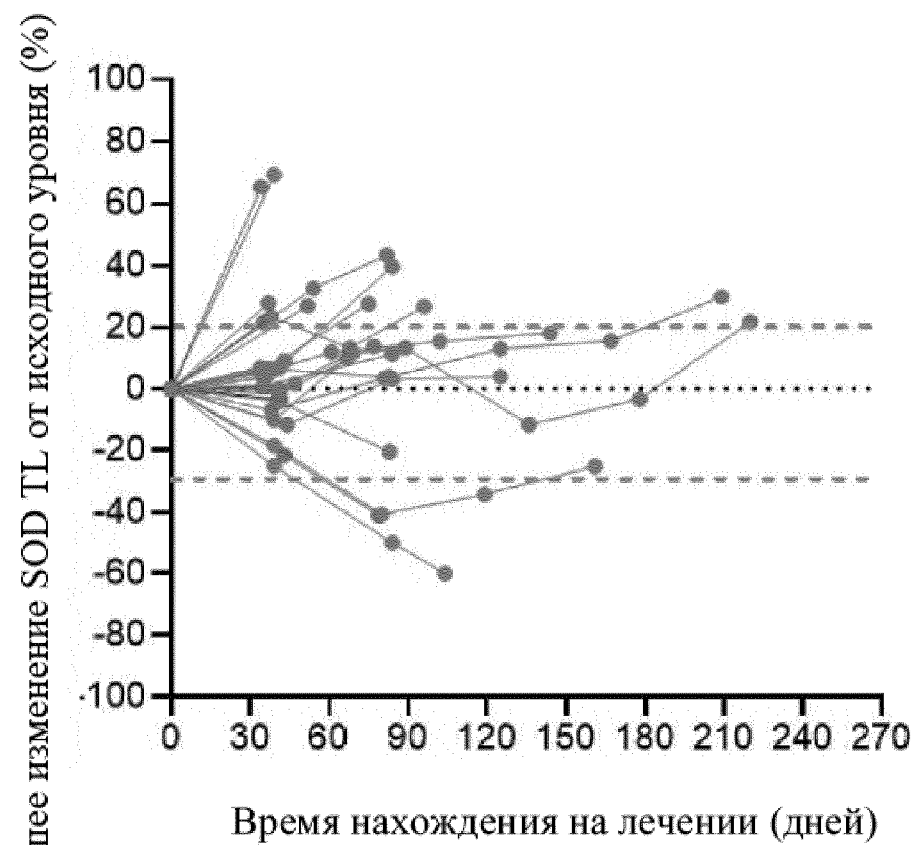




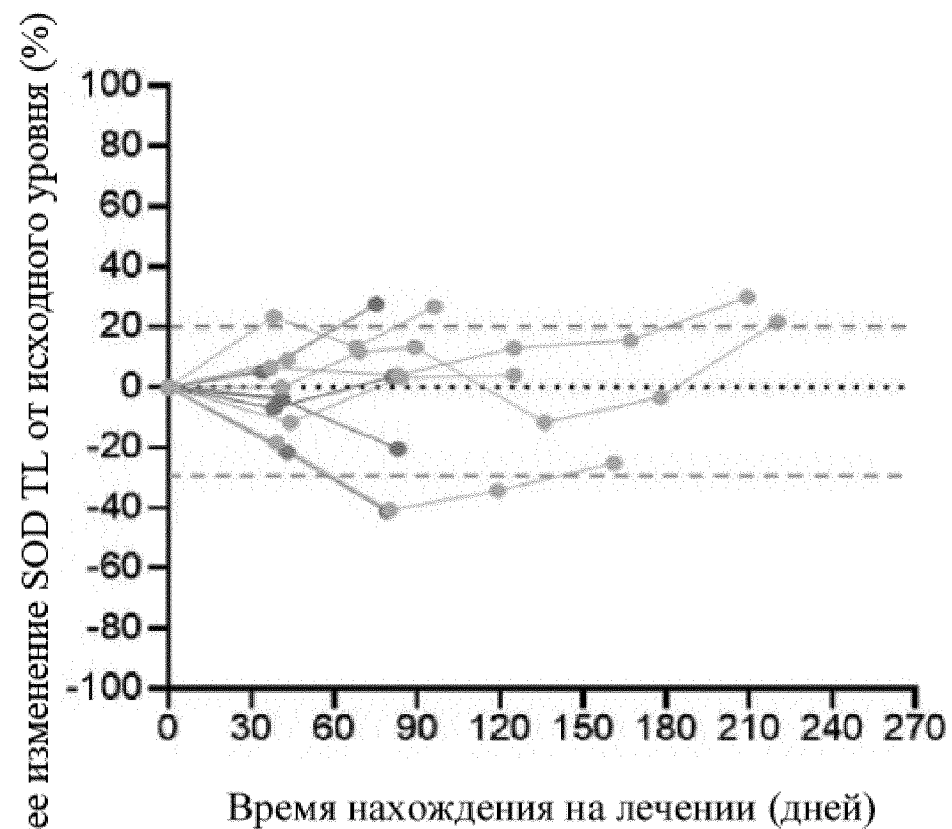
ФИГ. 17D



ФИГ. 17Е



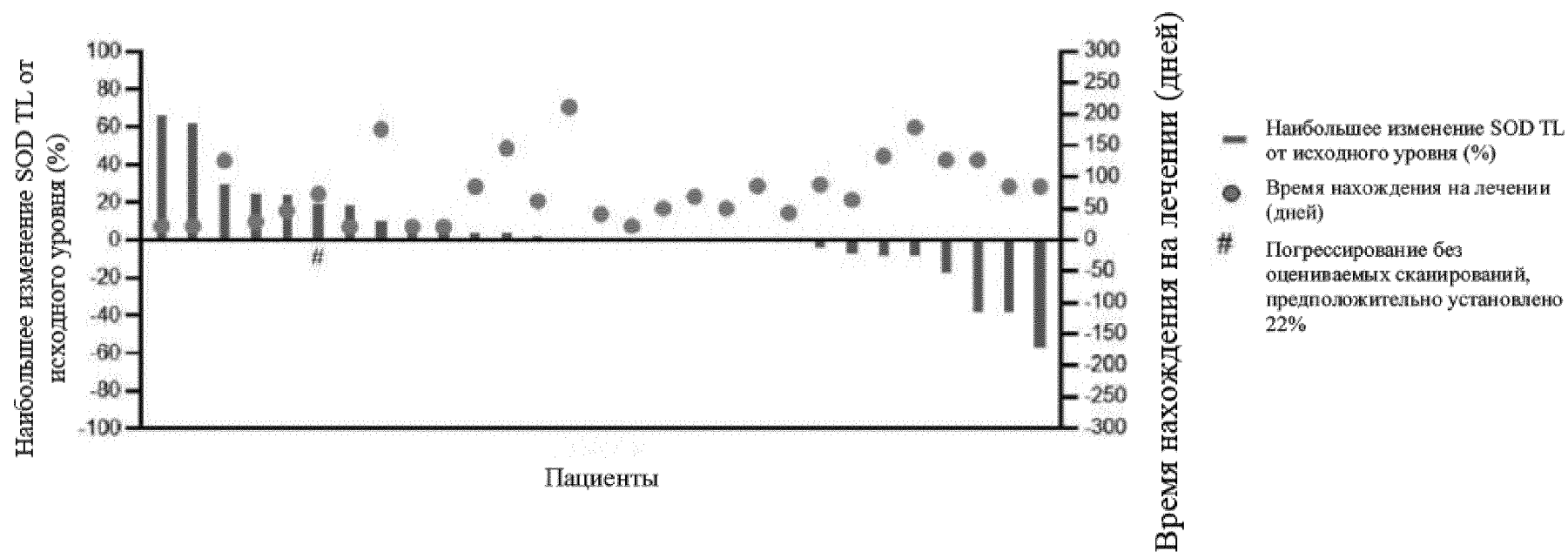
ФИГ. 17F



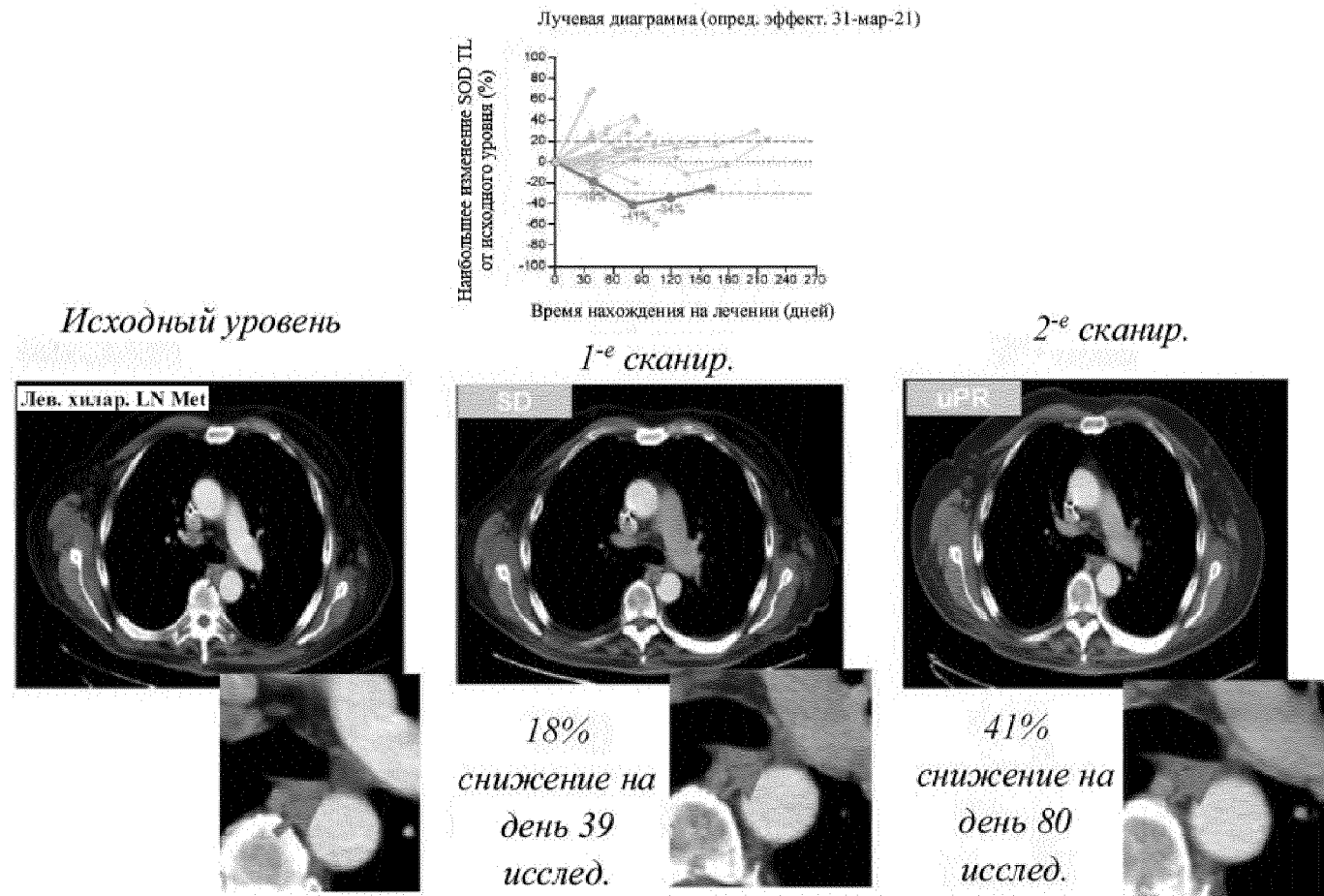
Пациенты с Конструкцией 1 КЗНЕД
 Конструкция 2 / Конструкция 1 КЗНЕД

ФИГ. 17G

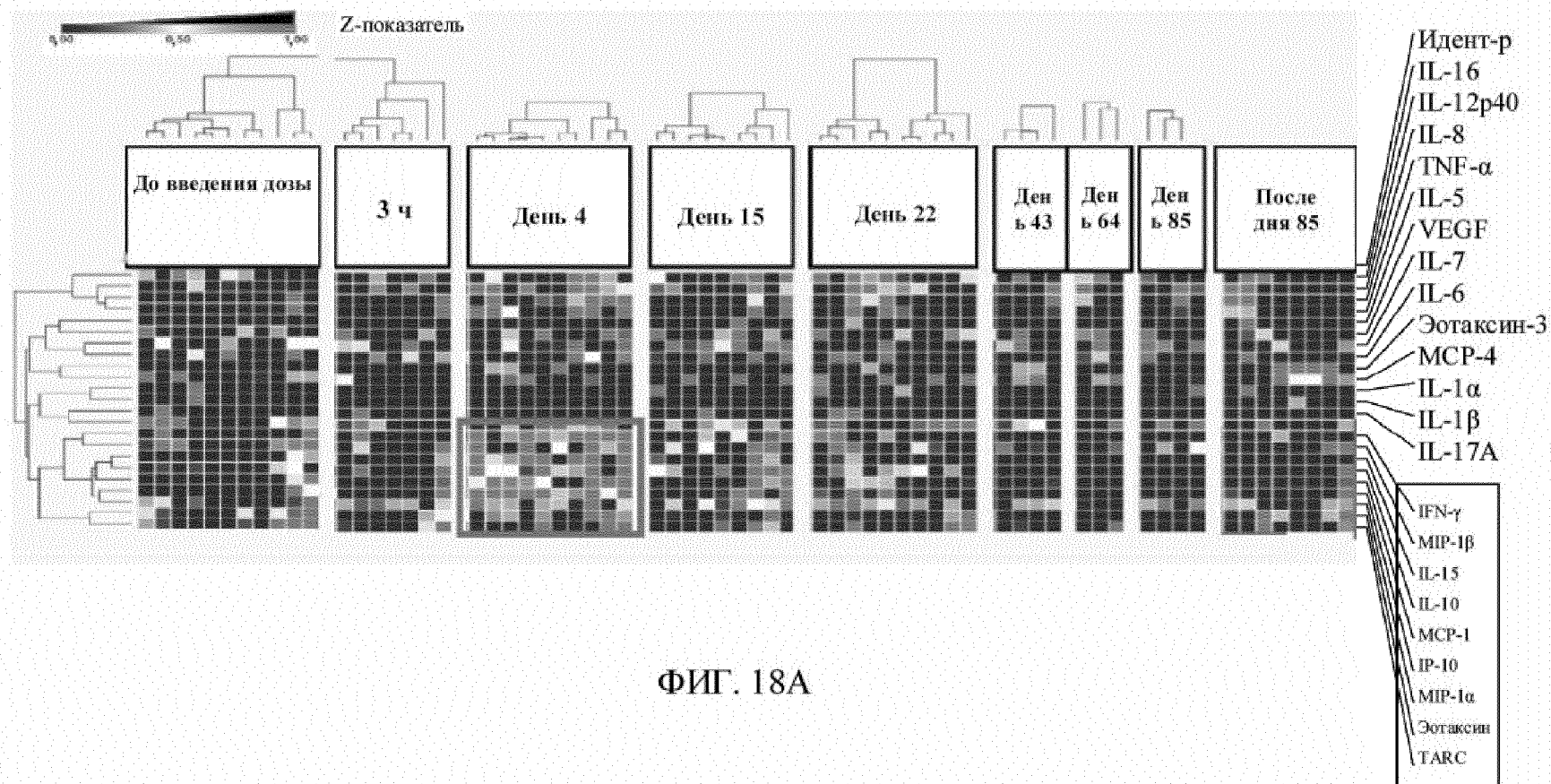
Корреляция между наибольшим изменением суммы диаметров и временем нахождения на лечении (определение эффективности)



ФИГ. 17H

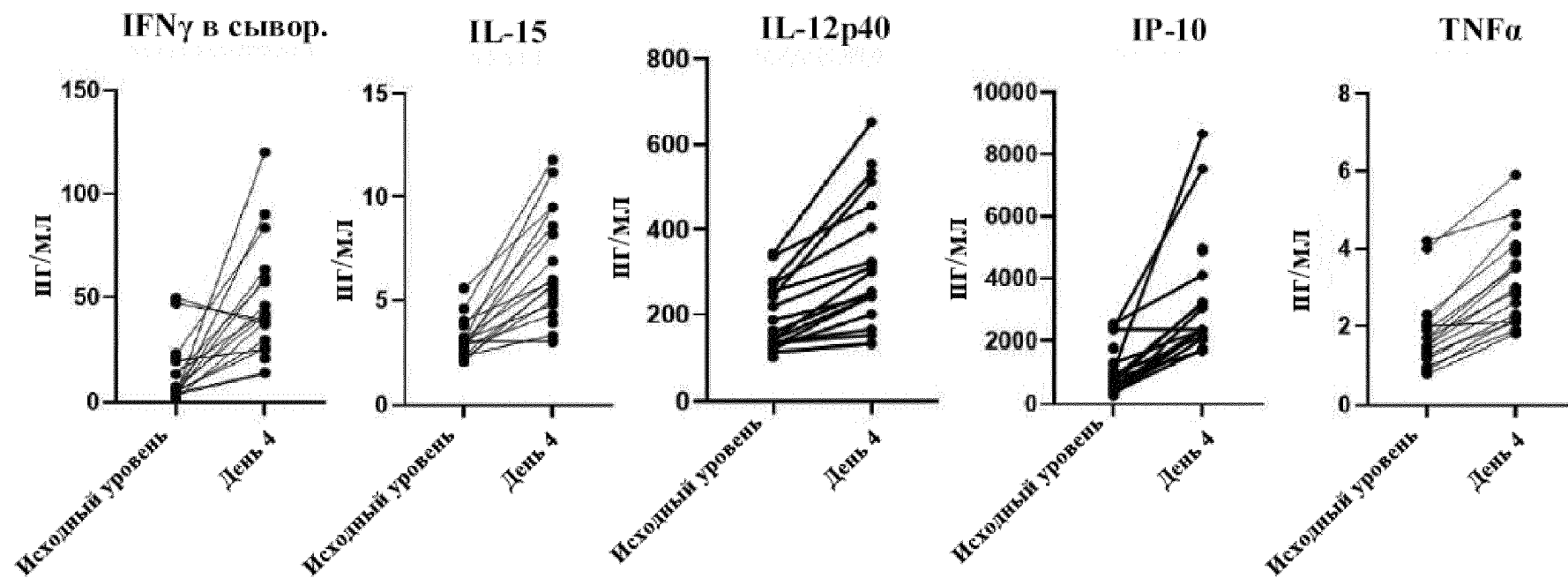


ФИГ. 171

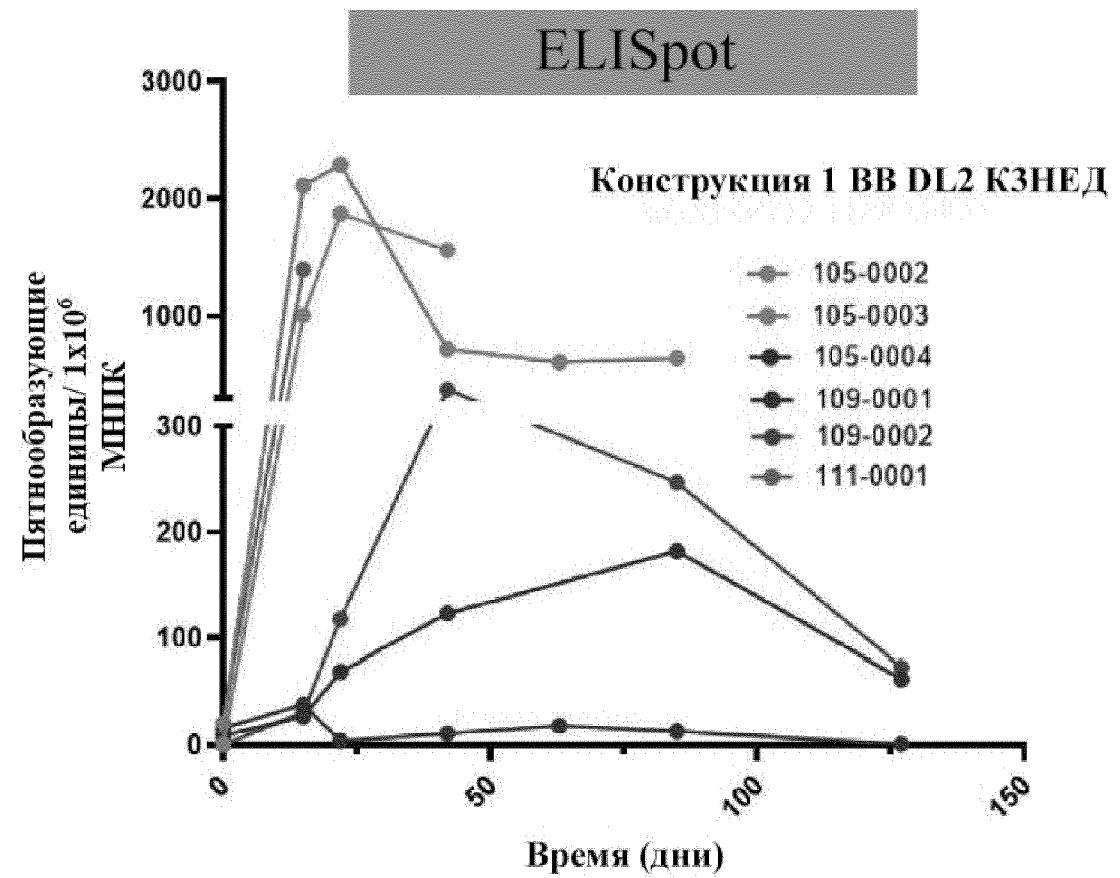


ФИГ. 18А

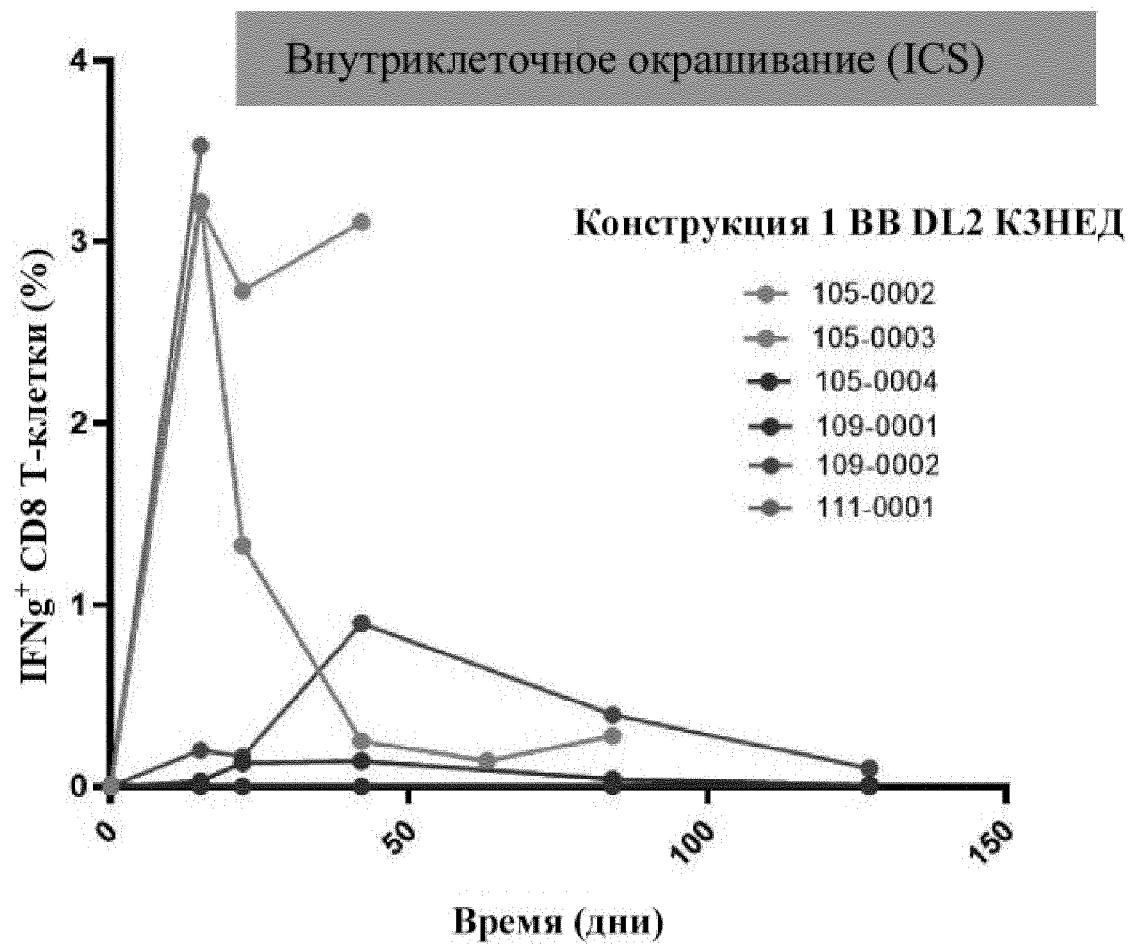
Кластер цитокинов/хемокинов



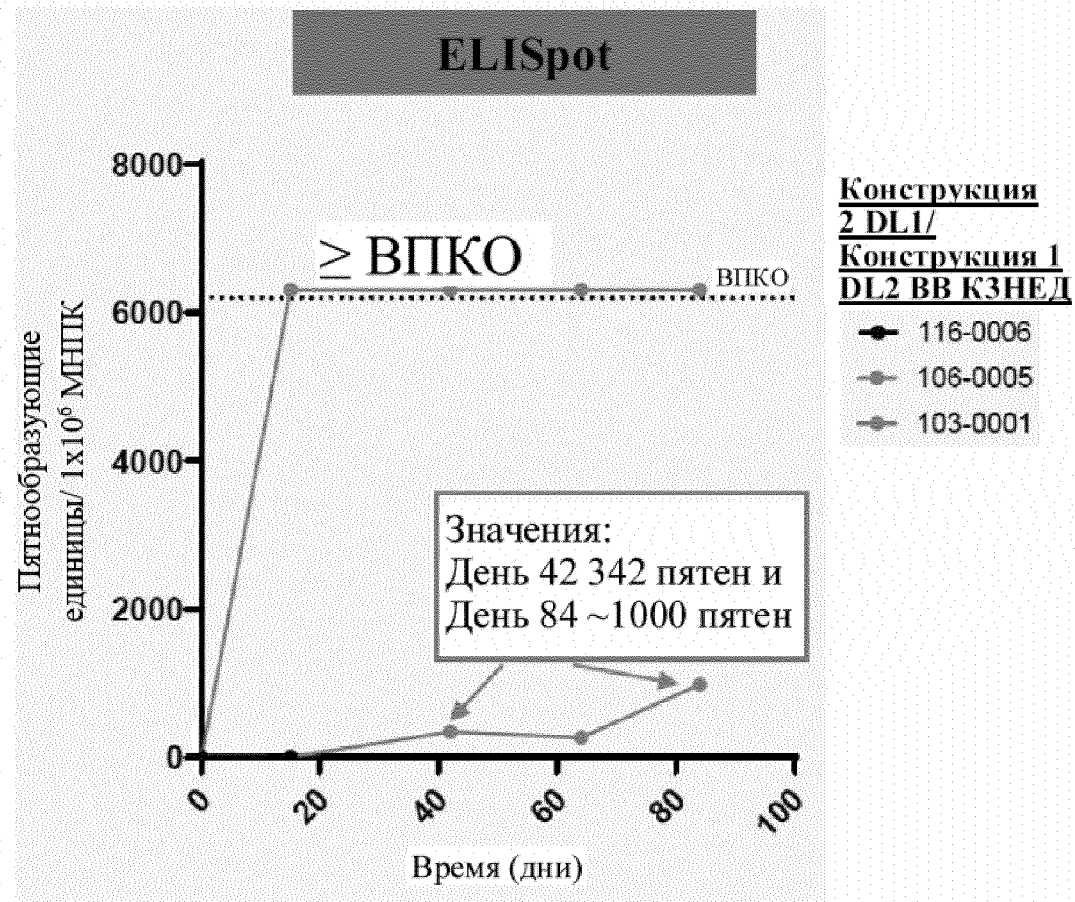
ФИГ. 18В



ФИГ. 19А

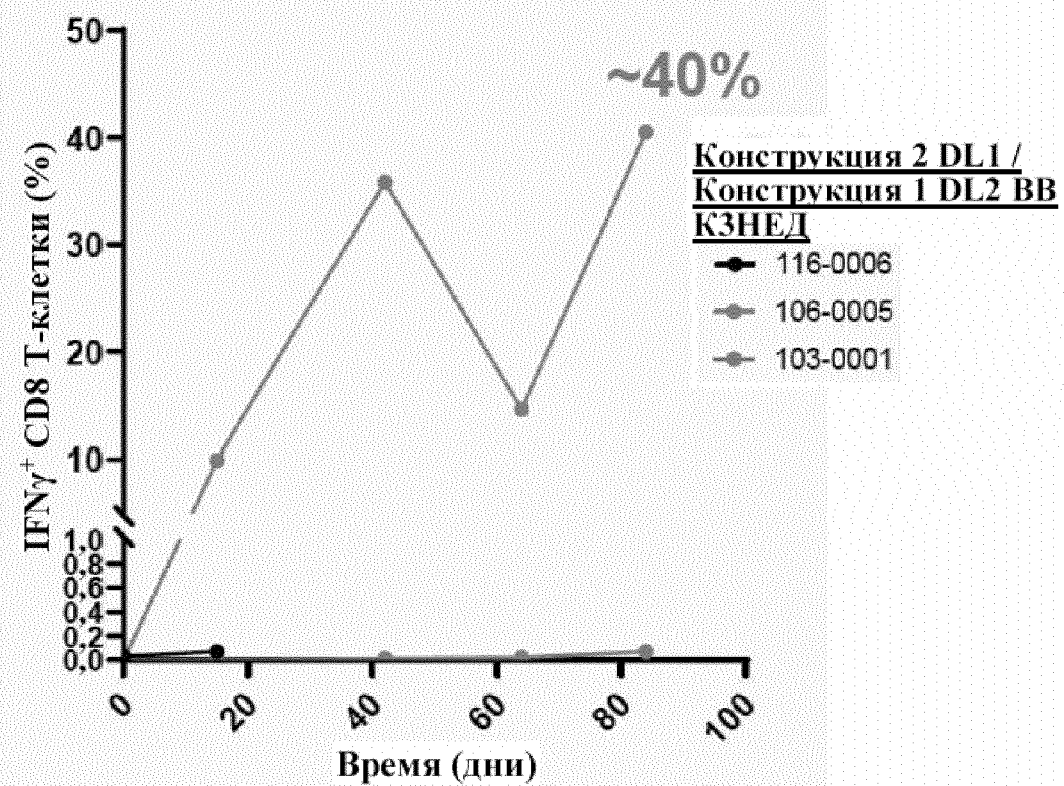


ФИГ. 19В

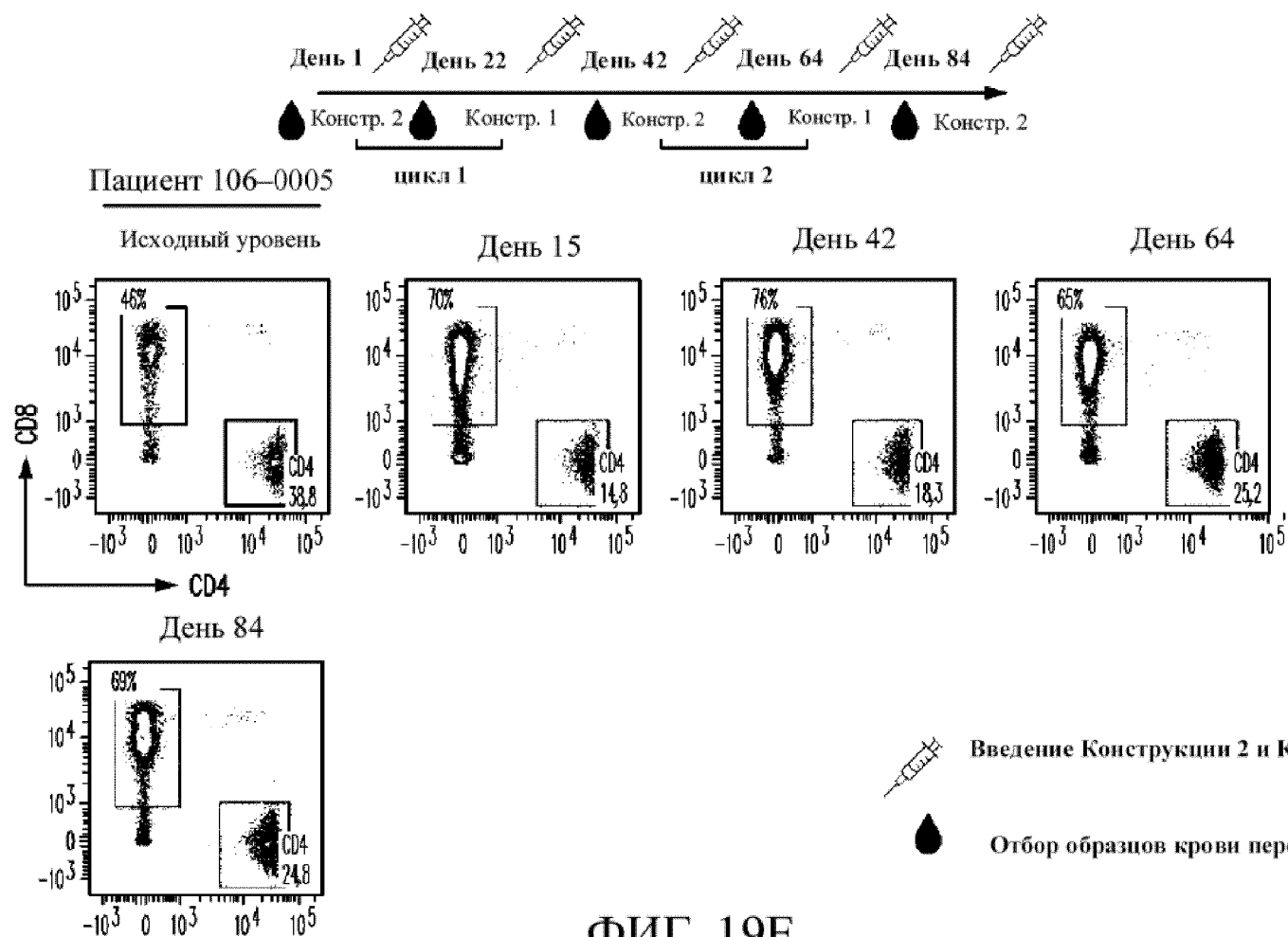


ФИГ. 19С

Внутриклеточное окрашивание

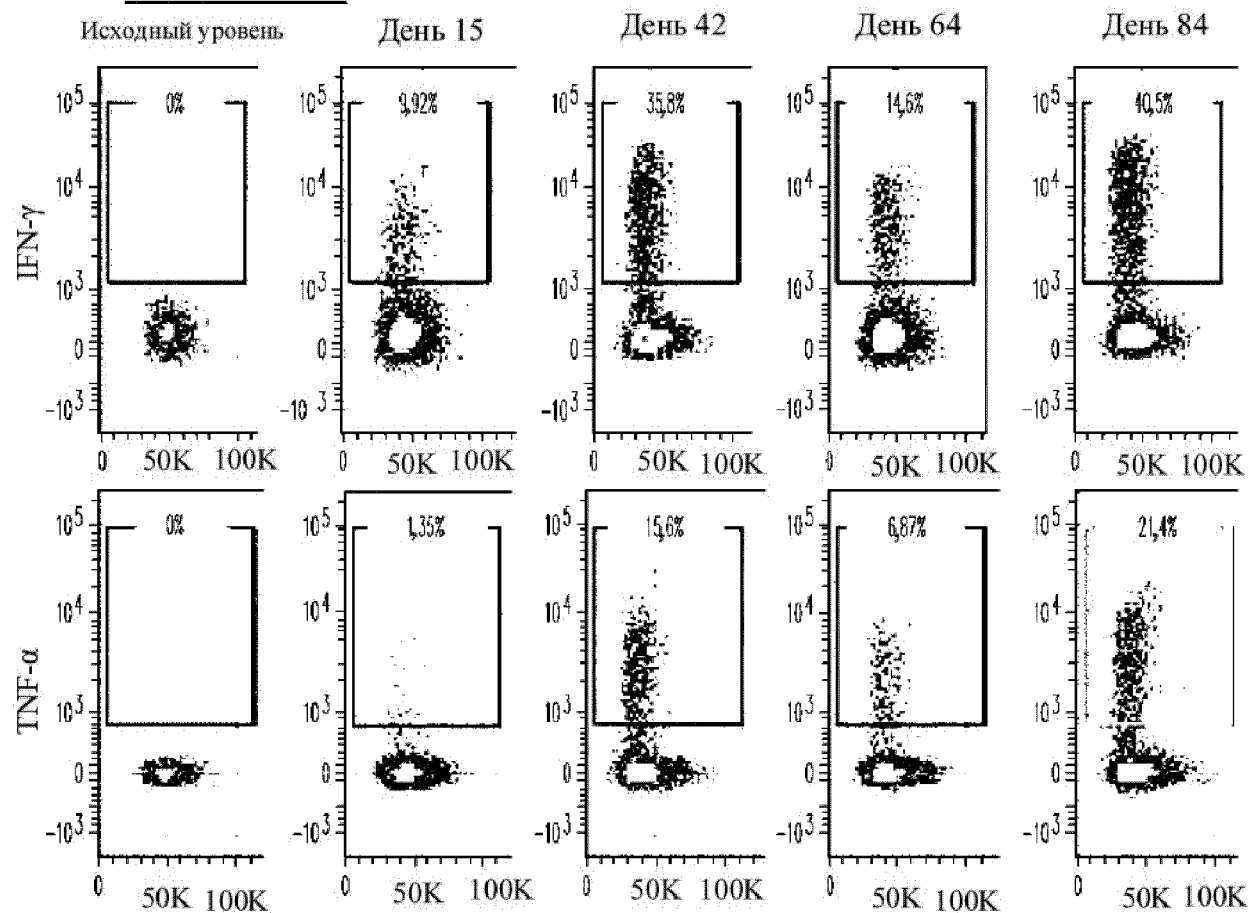


ФИГ. 19D

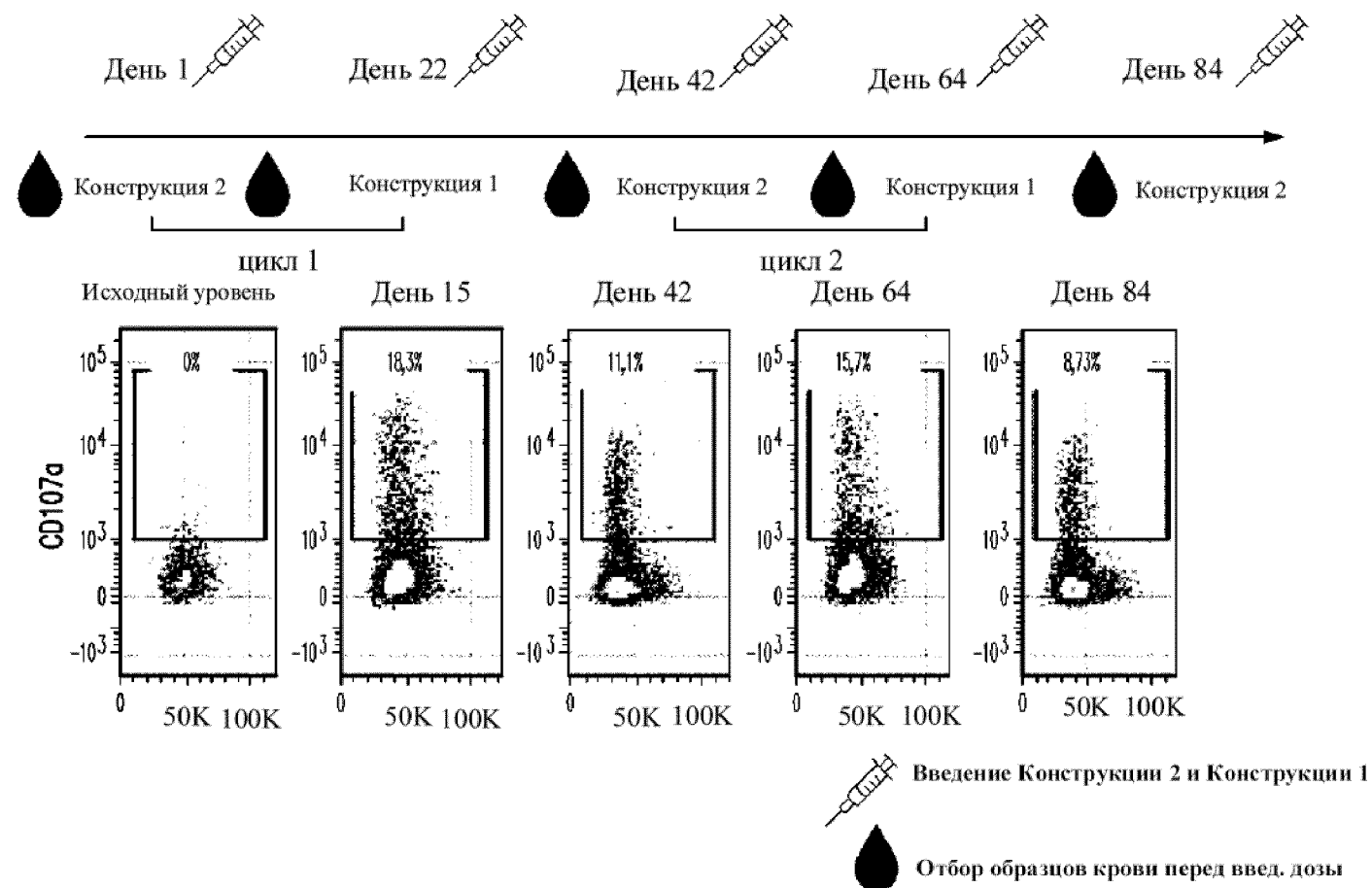


ФИГ. 19Е

Пациент 106-0005

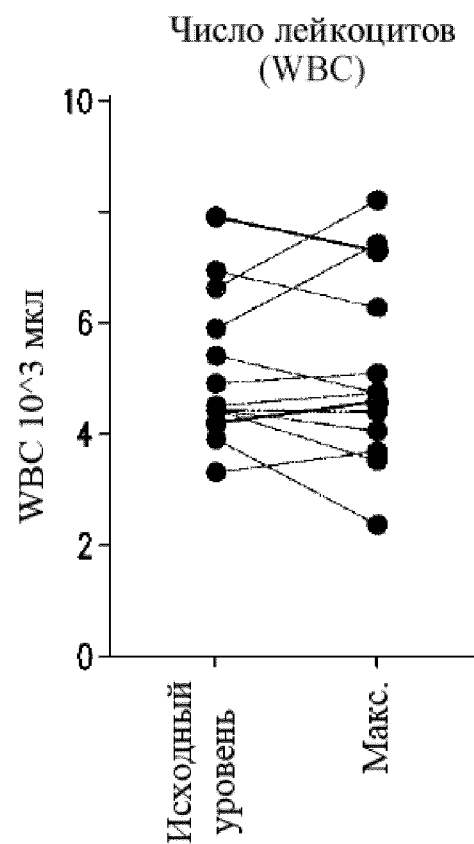


ФИГ. 19F

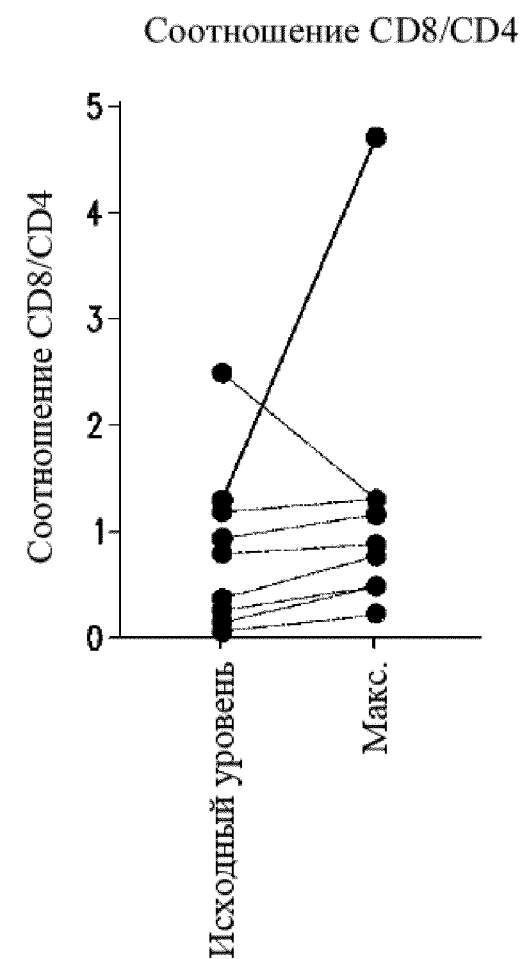


ФИГ. 19F, продолжение

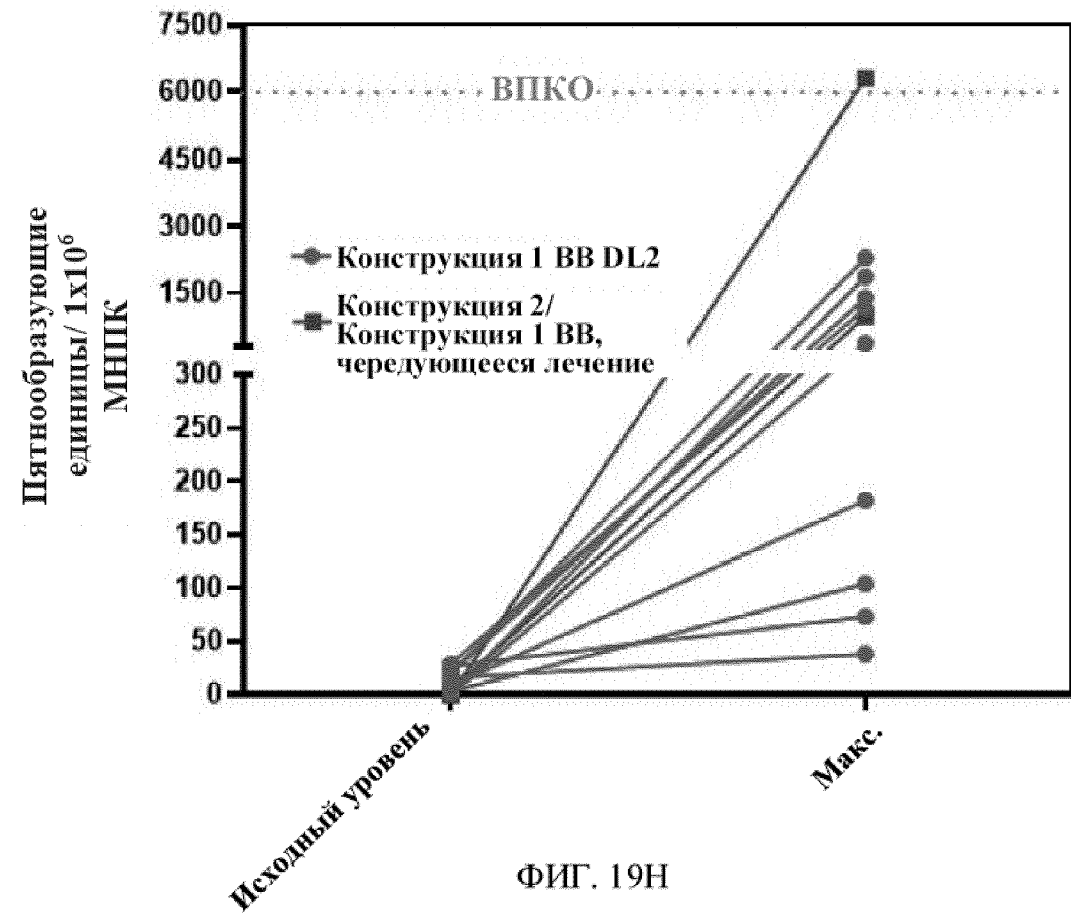
- Конструкция 1 BB DL2
- Конструкция 2 /
Конструкция 1
BB, чередующееся лечение

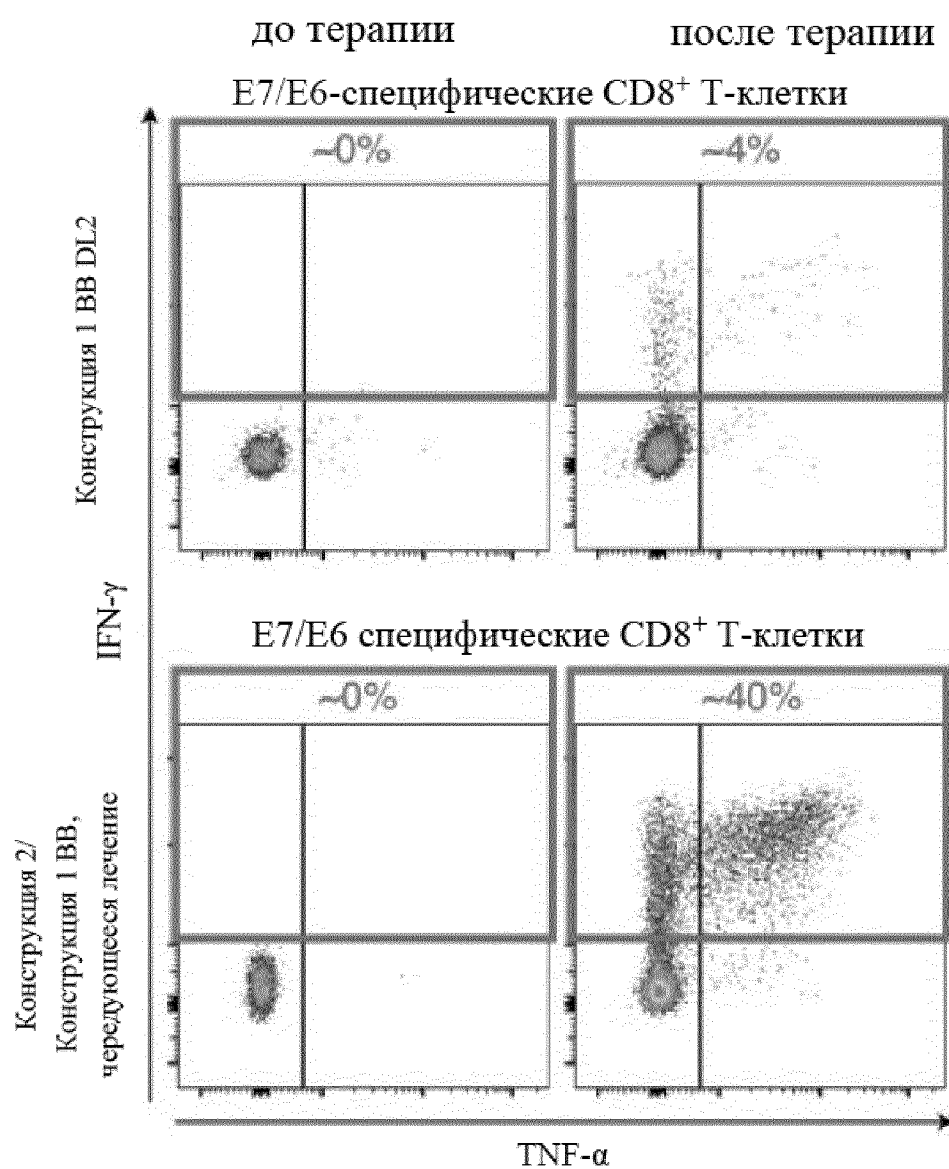


ФИГ. 19G



Конструкция 1 и Конструкция 2 / Конструкция 1 ВВ DL2/DL1
Е7Е6 Т-клеточный IFN-γ ответ





ФИГ. 19I